

**Universidad de El Salvador
Facultad de Ciencias Naturales y Matemática
Escuela de Biología**



**Estudio toxicológico agudo y efecto analgésico de la decocción de las hojas
de *Lygodium venustum* (Lygodiaceae) en ratones de laboratorio *Mus
musculus* NIH.**

Trabajo de graduación presentado por:

Daniela Sofía Argueta Ruano AR17036

Bryan Michael Chávez Rivera CR17086

**Para optar al grado de:
Licenciatura en Biología**

Ciudad Universitaria, Noviembre 2025

**Universidad de El Salvador
Facultad de Ciencias Naturales y Matemática
Escuela de Biología**



Estudio toxicológico agudo y efecto analgésico de la decocción de las hojas de *Lygodium Venustum* (Lygodiaceae) en ratones de laboratorio *Mus musculus* NIH.

Trabajo de graduación presentado por:

Daniela Sofía Argueta Ruano AR17036

Bryan Michael Chávez Rivera CR17086

**Para optar al grado de:
Licenciatura en Biología**

Docente asesor:

M.Sc Miguel Ángel Moreno Mendoza

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Miguel', written over a horizontal line.

Asesor externo:

Licenciado José Guillermo Mejía Valencia

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'José', written over a horizontal line.

Ciudad Universitaria, Noviembre 2025

**Universidad de El Salvador
Facultad de Ciencias Naturales y Matemática
Escuela de Biología**



Estudio toxicológico agudo y efecto analgésico de la decocción de las hojas de *Lygodium venustum* (Lygodiaceae) en ratones de laboratorio *Mus musculus* NIH.

Trabajo de Graduación Presentado por:

Daniela Sofía Argueta Ruano AR17036

Bryan Michael Chávez Rivera CR17086

**Para optar al grado de:
Licenciatura en Biología.**

TRIBUNAL CALIFICADOR:

Jurado:

PhD. Guillermo Díaz Crespín

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Guillermo Díaz Crespín', written over a horizontal line.

Jurado:

PhD. Diego Francisco Chicas Baños

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Diego Francisco Chicas Baños', written over a horizontal line.

Ciudad Universitaria, Noviembre 2025

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Rector

M.Sc. Juan Rosa Quintanilla

Vicerrectora Académico

Dra. Evelyn Beatriz Farfan

Vicerrector Administrativo

M.Sc. Roger Arias

Secretario General

Lic. Pedro Rosalio Escobar Cataneda

Fiscal

Lic. Carlos Amilcar Serrano Rivera

Facultad de Ciencias Naturales y Matemática

Decana Interina

M.Sc. Angela Gudelia Portillo de Pérez

Vicedecano

Dr. José Nerys Funes Torres

Secretario

Lic. Carlos Antonio Quintanilla Aparicio

Director Interino Escuela de Biología

M.Sc. Miguel Ángel Moreno Mendoza

Ciudad Universitaria, Noviembre 2025

DEDICATORIA

A quienes me han acompañado durante este camino.

A mis padres Rita y Ricardo, por su apoyo, atención y paciencia durante este proceso, por sus esfuerzos y sacrificios durante todos mis años educativos, gracias porque me han apoyado a soñar en grande; por ser mi inspiración.

A mi hermana Salet, por sus ánimos, empatía y brindarme fuerzas en aquellos momentos de confusión y estancamiento.

A mi fiel amigo, quién me acompañó en desvelos, descansando bajo mi escritorio y animándome con su cariño.

A un ser especial que por casualidad llegó a mi vida y me inspiró a estudiar biología.

Daniela Argueta.

DEDICATORIA

Con inmensa gratitud, dedico este trabajo de graduación a aquellas personas y fuerza divina que han guiado y apoyado mi camino académico.

Primero y ante todo a Dios, por brindarme la fortaleza, sabiduría y perseverancia necesaria para superar los desafíos de este proyecto. Gracias por tu amor y gracia infinita que me han sostenido cada día.

A mis padres Carlos y Orbelina, por su amor, paciencia y sacrificios a lo largo de los años. Sin su guía y apoyo, no habría alcanzado este objetivo.

A mis hermanos Fabricio, Axel y Andrea por sus consejos y apoyo moral que necesité a lo largo de estos años en la universidad.

A mi mejor amigo Dagoberto, por sus palabras de aliento y cariño.

Bryan Chávez.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, quienes estuvieron pendientes del desarrollo de este trabajo, me impulsaron, me escucharon y me animaron a seguir adelante. Gracias a mis padres.

A mi compañero tesista Bryan, por su paciencia, cooperación, compromiso y por hacer las horas de trabajo más amenas.

A mis asesores M.Sc. Miguel Moreno y Lic. Guillermo Mejía, por sus sugerencias, orientación, apoyo, compromiso durante el desarrollo de este trabajo y por compartir sus experiencias y conocimientos. Al Laboratorio de Experimentación Animal (LEA) del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud de La Universidad de El Salvador (CENSALUD-UES) por brindarme los implementos necesarios. Un agradecimiento especial a los estudiantes en servicio social por apoyarnos pacientemente en las prácticas. A la Escuela de Biología de la Universidad de El Salvador por mi formación educativa durante la carrera. A los ratones de laboratorio, por sus sacrificios a la ciencia.

A todas mis amistades dentro y fuera de la carrera, en especial a mis seis maravillosas amigas, por estar pendientes del proceso, brindarme ánimos, confiar en mí, por escucharme, por su empatía, cariño y apoyo. Muchas gracias.

Gracias a los personajes de mi infancia que despertaron mi interés en la ciencia y gracias a ella por abrir mi mente a descubrir el mundo.

Daniela Argueta.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores M.Sc. Miguel Moreno y Lic. Guillermo Mejía por su orientación, valiosas sugerencias y constante apoyo durante este trabajo. Sus conocimientos y experiencia fueron fundamentales para la culminación de esta tesis.

A mi compañera de tesis Daniela, por su colaboración, compromiso y paciencia en este estudio.

Al Laboratorio de Experimentación Animal (LEA) del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) por brindarme los materiales y equipo necesario. A los chicos que realizaron el servicio social que nos apoyaron en este estudio. A los ratones de laboratorio. Porque sus sacrificios aportaron a la ciencia. A la Escuela de Biología de la Universidad de El Salvador por mi formación académica durante la carrera.

A los docentes M. Sc. Nohemí Ventura y Lic. Amado Vázquez. Porque sus enseñanzas en botánica despertaron en mí el interés en dicha área.

A los amigos que conocí durante mi formación académica. Especialmente a Daniela, Karla, Marcos y Moisés por su compañía, cariño, risas y estar siempre pendientes a lo largo de mi proceso.

Bryan Chávez.

ÍNDICE DE CONTENIDO

N° de página

1. RESUMEN.....	12
2. INTRODUCCIÓN.....	13
3. OBJETIVOS.....	15
3.1. Objetivo General.....	15
3.2. Objetivos específicos.....	15
4. MARCO TEÓRICO.....	16
4.1. Antecedentes.....	16
4.2. Generalidades de las Pteridofitas: Helechos y plantas afines.....	16
4.2.1. Distribución y hábitat de las Pteridofitas.....	17
4.2.2. Familia Lygodiaceae.....	18
4.3. Descripción de la planta <i>Lygodium venustum</i>	18
4.3.1. Hábitat y Distribución general.....	19
4.4. Metabolitos presentes en <i>Lygodium venustum</i>	20
4.4.1 Perfil fitoquímico.....	20
4.4.2. Generalidades de los principios activos.....	20
4.4.2.1. Alcaloides:.....	21
4.4.2.2. Taninos:.....	21
4.4.2.3. Quinonas:.....	22
4.4.2.4. Flavonoides:.....	22
4.5. Método de extracción por decocción.....	23
4.6. Generalidades de toxicología.....	23
4.6.1. Toxicidad aguda.....	24
4.7. Generalidades de analgesia.....	26
4.7.1. Analgesia.....	26
4.7.2. Clasificación de los analgésicos.....	26
4.7.2.1. Antiinflamatorios no esteroides (AINEs).....	27
4.7.2.2. Analgésicos opioides débiles.....	28
4.7.2.3. Analgésicos opioides potentes.....	29
4.8. Modelo de dolor en animales.....	30
5. METODOLOGÍA.....	32
5.1. Ubicación del área de estudio.....	32
5.2. Metodología de campo.....	32
5.2.1. Obtención del material vegetal.....	32
5.3. Metodología de laboratorio.....	32
5.3.1.Obtención de extracto de <i>Lygodium venustum</i> por medio del método de decocción.....	32
5.3.2. Animales de experimentación.....	33
5.4. Estudio de toxicidad aguda durante 14 días.....	34
5.4.1. Administración de sustancia.....	34
5.4.2. Consumo de alimento y agua.....	34
5.4.3. Observaciones post-administración de la decocción.....	34

5.4.4. Sacrificio y Necropsias.....	35
5.5. ACTIVIDAD ANALGÉSICA.....	36
5.5.1. Prueba del Ácido Acético.....	36
5.5.2. Prueba de Formalina.....	37
5.6. Análisis estadístico.....	38
6. RESULTADOS.....	39
6.1. ESTUDIO DE TOXICIDAD AGUDA.....	39
6.1.1. Observaciones clínicas.....	39
6.1.2. Consumo de Alimento y Agua.....	39
6.1.3. Análisis del Peso Corporal.....	39
6.1.4. Análisis del Peso de órganos.....	40
6.2. ACTIVIDAD ANALGÉSICA.....	42
6.2.1 Prueba de Ácido Acético.....	42
6.2.2. Prueba de Formalina.....	44
7. DISCUSIÓN.....	47
8. CONCLUSIONES.....	52
9. RECOMENDACIONES.....	53
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
11- ANEXOS:.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Metabolitos presentes en <i>Lygodium venustum</i>	20
Tabla 2: Orden de identificación de los animales de experimentación.....	33
Tabla 3: Parámetros de toxicidad en animales de experimentación.....	34
Tabla 4: Porcentaje de consumo de alimento y agua por semana y total de los grupos experimentales.....	39
Tabla 5: Valores promedio del peso corporal en grupo control y experimental.....	40
Tabla 6: Valores promedio del peso de órganos en grupo control y grupo experimental con dosis única.....	40
Tabla 7: Valores promedios y porcentajes de inhibición de la prueba de ácido acético.....	42
Tabla 8: Valores promedios y porcentajes de inhibición de la prueba de formalina.....	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Morfología del helecho.....	17
Figura 2: Hojas de <i>Lygodium venustum</i>	18
Figura 3: Soróforos ubicados en prolongaciones marginales.....	19
Figura 4: Mapa de distribución de <i>Lygodium venustum</i> en Centroamérica.....	19
Figura 5: Estructura química de un alcaloide.....	21
Figura 6: Estructura química de un tanino.....	21
Figura 7: Estructura química de una quinona.....	22
Figura 8: Estructura de un flavonoide.....	23
Figura 9: Escalera analgésica de la OMS.....	27
Figura 10: Estructura química de Indometacina.....	28
Figura 11: Estructura química de ácido acetil salicílico.....	28
Figura 12: Estructura de la codeína.....	29
Figura 13: Estructura de la morfina.....	29
Figura 14: <i>Mus musculus</i> NIH.....	31
Figura 15: Ubicación del área de estudio.....	32
Figura 16: Obtención del extracto de <i>Lygodium venustum</i> por medio del método de decocción.....	33
Figura 17: Administración de la decocción de <i>Lygodium venustum</i>	36
Figura 18: Administración de la inyección peritoneal de ácido acético.....	36
Figura 19: Estiramientos inducidos por inyección de ácido acético.....	37
Figura 20: Administración de la decocción de <i>Lygodium venustum</i>	37
Figura 21: Lamida de pata por inyección de formalina al 2%.....	37
Figura 22: Prueba de ácido acético. Comparación de las contorsiones abdominales realizadas por el grupo control negativo, control positivo y concentración baja y alta.....	43

Figura 23: Prueba de formalina, fase I. Comparación de los grupos controles y tratados..... 45

Figura 24: Prueba de formalina, fase II. Comparación de los grupos controles y tratados..... 46

1. RESUMEN

El dolor es considerado como una experiencia sensitiva y emocional desagradable, este puede ser agudo o crónico y es una de las principales causas de consulta médica a nivel mundial (Puebla 2005). Las plantas medicinales siempre han sido una fuente importante para el tratamiento de enfermedades desde la antigüedad y siguen siendo una fuente clave de medicamentos, pese a los avances de la medicina. En El Salvador, el uso de plantas medicinales sigue vigente, aunque pocas están científicamente validadas.

Uno de los objetivos del estudio fue evaluar la toxicidad aguda de la decocción de las hojas de *Lygodium venustum* (*Lygodiaceae*) en ratones de laboratorio, mediante el método de dosis única durante 14 días. Se utilizaron 2 grupos de 5 ratones cada uno, identificándolos como grupo control y tratamiento, donde se evaluaron parámetros como el peso corporal, consumo de alimento y agua, peso de órganos internos y las observaciones clínicas. Asimismo, se evaluó su efecto analgésico a través de las pruebas de ácido acético y formalina.

Para el estudio de la actividad analgésica se utilizaron 4 grupos de pruebas divididos en: agua destilada, indometacina, concentración baja y alta, conformados por 10 ratones cada uno. En la prueba del ácido acético, se inyectó ácido acético al 1% por vía intraperitoneal y se contó el número de contorsiones de los ratones durante 30 minutos. En la prueba de la formalina, se inyectaron 20 µl de formalina al 2% en la pata trasera derecha de los ratones, midiendo posteriormente el tiempo que se lamían en ambas fases de estudio: fase I y fase II.

Los resultados mostraron que, en la prueba de toxicidad aguda, los animales tratados con la concentración alta no presentaron signos de toxicidad ni efectos adversos. Además, no hubo diferencia significativa en el peso corporal y de órganos en los ratones.

En el estudio analgésico, la prueba de ácido acético demostró diferencias significativas entre el grupo control, los tratados con Indometacina y las dos concentraciones de la decocción. Para la prueba de formalina, en la fase I, los ratones no presentaron la eficacia esperada, sin embargo, en la fase II los ratones tratados con la concentración alta mostraron resultados favorables siendo su inhibición similar al fármaco de referencia.

En conclusión, la decocción de las hojas de *Lygodium venustum* no mostró signos de toxicidad alguna y podría tener indicios de propiedades analgésicas, aunque se recomienda realizar estudios más concretos para poder confirmar estos hallazgos.

2. INTRODUCCIÓN

El dolor es la causa más común en consultas médicas. Según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor, este se puede definir como “una experiencia sensitiva y emocional desagradable, asociada a una lesión tisular real o potencial”. La percepción del dolor consta de un sistema neuronal sensitivo, o bien nociceptores, y unas vías nerviosas aferentes que responden a estímulos nociceptivos tisulares; la nocicepción puede estar influida por diversos factores y entre ellos se encuentran los psicológicos (Puebla 2005).

Este puede clasificarse como agudo o crónico. El primero de ellos es la consecuencia inmediata de la activación de los sistemas nociceptores por una noxa. Asimismo, aparece por estimulación química, mecánica o térmica de nociceptores específicos; este tipo de dolor tiene la función de protección biológica y los síntomas psicológicos son escasos. Por otro lado, el dolor crónico no posee función de protección, sin embargo, este es persistente y puede perpetuarse por tiempo prolongado después de una lesión e incluso en la ausencia de la misma, suele ser refractario al tratamiento y, a comparación del dolor agudo, se asocia a importantes síntomas psicológicos (Zegarra 2007).

Las plantas medicinales han sido fuente de remedios para el tratamiento de varias enfermedades desde el principio de los tiempos, permitiendo que la práctica del uso de productos botánicos sea realizada durante milenios internacionalmente. A pesar de que la química orgánica sintética ha presentado un crecimiento significativo desde el Siglo XX, más del 25% de los medicamentos aprobados en los países industrializados se ha obtenido de forma directa o indirectamente de las plantas. En los últimos años, la búsqueda de fitoquímicos con propiedades antimicrobianas, antioxidantes y analgésicas ha ido aumentando debido a su uso potencial para el tratamiento de diversas enfermedades crónicas e infecciosas (Baskaran *et al.* 2018).

Según la Organización Mundial de la Salud, el 80% de la población mundial utiliza medicina tradicional como medio curativo con la finalidad de atender las necesidades de diversas enfermedades, aprovechando los principios activos que las plantas puedan brindar (Campos y Francisco 2018). En el país, el uso de plantas medicinales para tratar afecciones de salud sigue presente en la población, sin embargo, son pocas aquellas de las cuales se tenga un registro validado científicamente sobre la actuación de estas dentro del organismo humano. Lo cual provoca que sean utilizadas de forma indiscriminada sin pensar en las repercusiones que puedan ocasionar.

En el campo de la investigación científica, el estudio de las propiedades medicinales de las plantas ha sido objeto de gran interés. La búsqueda de compuestos naturales con efectos terapéuticos ha llevado al descubrimiento de

numerosas especies vegetales con propiedades farmacológicas prometedoras (Gallegos 2017). En este contexto, la planta *Lygodium venustum*, perteneciente a la familia Lygodiaceae, ha llamado la atención debido a su potencial uso medicinal, sin embargo, no se reportan estudios relacionados con analgesia, los cuales puede ser de gran importancia, debido a que esta especie en El Salvador y Centroamérica es bastante abundante y es un tipo de helecho que puede crecer en zonas abiertas, matorrales, orillas de caminos, entre otros, siendo accesible para las personas y aprovechar su propiedad medicinal (Monterrosa 2009).

Por ende, el presente trabajo se enfocó en realizar el estudio toxicológico agudo e investigar el efecto analgésico de la decocción de las hojas de *Lygodium venustum* en ratones experimentales *Mus musculus* NIH. Para ello se realizó el estudio de la toxicidad aguda de catorce días que es esencial para establecer la seguridad de cualquier sustancia utilizada con fines medicinales. Mediante dicha evaluación, se estableció la concentración más alta segura para su uso potencial en aplicaciones médicas. Esto proporcionó información valiosa para garantizar la seguridad del consumo y prevenir posibles efectos adversos. Asimismo por medio de las pruebas de ácido acético y formalina, que conforman el estudio analgésico, se obtuvo información sobre su uso potencial como agente para el alivio del dolor.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Evaluar la toxicidad aguda y el efecto analgésico de la decocción de las hojas de *Lygodium venustum* (Lygodiaceae) en ratones de laboratorio.

3.2. Objetivos específicos

Obtener el extracto de *Lygodium venustum* por medio del método de decocción en sus concentraciones alta y baja.

Determinar la toxicidad aguda de la decocción de las hojas de *Lygodium venustum* (Lygodiaceae) en su concentración más alta por administración oral en ratones de laboratorio.

Evaluar los efectos analgésicos de la decocción de las hojas de *Lygodium venustum* con las pruebas de ácido acético y formalina en ratones de laboratorio.

Analizar los resultados obtenidos de los estudios de toxicidad aguda y las pruebas de analgesia: ácido acético y formalina, mediante pruebas estadísticas paramétricas de normalidad, t-Student y ANOVA.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. Antecedentes.

En la actualidad, el incremento de los dolores agudos o crónicos ha dado lugar a la investigación de la etnobotánica, donde se demuestra el valor de la composición bioquímica de las plantas al relacionarlas con el mejoramiento de la salud. A continuación, se describen algunas de las investigaciones que se han realizado del género *Lygodium*.

La editorial Elsevier Masson SAS publicó un estudio sobre la actividad farmacológica de *Lygodium microphyllum*, uno de los objetivos fue encontrar actividad analgesica de la especie, mediante enfoques *in vivo*, *in vitro* e *in silico*. En la prueba de contorsiones inducidos por ácido acético, el extracto metanólico de la planta inhibió el 44,28 % y el 56,61 % de los retorcimientos a 200 y 400 (mg/kg), respectivamente, en comparación con el fármaco estándar Diclofenaco-Na (10 mg/kg) (74,42 % de inhibición). Donde finalmente la investigación valida la actividad analgesica del extracto de la planta y que puede utilizarse como fuente alternativa de nuevas terapias (Alam *et al.* 2021).

Según un estudio titulado “Plantas medicinales usadas por los Tének en la Huasteca, México” *Lygodium venustum* es utilizado para tratar: gastritis, asma, piquetes de alacrán, diarrea, disentería, irregularidades menstruales, fiebres, y espanto, empleando diferentes métodos o técnicas de preparación como cocción, macerado e infusión. Aprovechando toda la planta o, de manera individual, las ramas, hojas y tallos (Casanova *et al.* 2022).

En Serbia y Montenegro se fabricó un medicamento llamado “Naturoplex”. Uno de los componentes activos que tiene es el extracto seco de *Lygodium japonicus* (específicamente 27.5 mg de 0.28g 1 tableta). Este medicamento se usa para tratar infecciones urinarias, como antibacterianos, antiinflamatorios, analgésicos, diuréticos y fortalecer la mucosa del tracto urinario (Naturoplex 2015).

4.2. Generalidades de las Pteridofitas: Helechos y plantas afines

Las Pteridofitas (del griego *ptēris*: helecho y *phytā*: planta) son conocidas como plantas vasculares sin semillas, estas comprenden alrededor de 1,200 especies que se encuentran distribuidas en todo el planeta, en todos los tipos de vegetación y en altitudes que oscilan de 0 a 5,000 metros. Son un grupo heterogéneo con especies muy grandes que pueden llegar hasta los 25 metros de altura y otras muy pequeñas de escasos centímetros; algunas poseen frondas vistosas de más de 2 metros, mientras que otras son hojas escamosas de milímetros (figura 1) (Delgado y Plaza 2006).

El grupo de las pteridofitas es el precursor de las plantas con flores que predomina actualmente en el planeta; la aparición de un sistema vascular dio paso a las plantas erguidas, además de mejorar la conducción del agua y los productos elaborados por toda la planta. El sistema vascular primitivo está conformado por traqueidas, siendo rara la presencia de vasos verdaderos (Cabezudo y Trigo 2004).

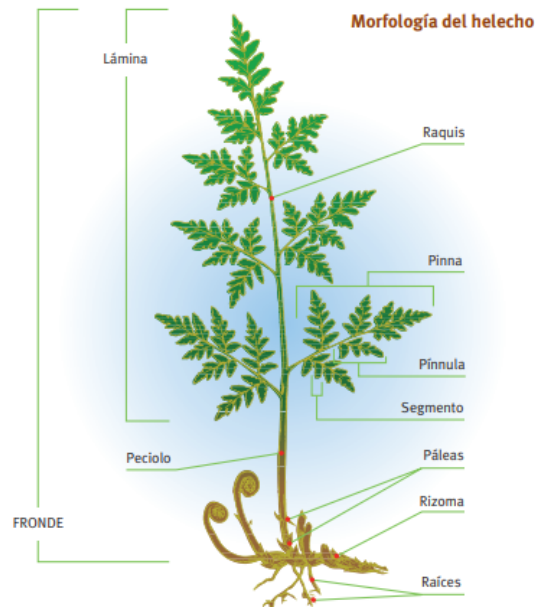


Figura 1. Morfología del helecho.

Son plantas antiguas representantes en la flora del Devónico, tuvieron su época de esplendor en el Carbonífero, sin embargo, posteriormente, durante los períodos Pérmicos, Triásico y Jurásico sufrieron un declive provocado por cambios ecológicos que favorecieron a otros grupos de plantas vasculares como las gimnospermas. Por último, en el período Cretácico, con la aparición de las angiospermas, se acentuó el retroceso tanto de las pteridofitas como las gimnospermas, situación que se mantiene en la actualidad (Cabezudo y Trigo 2004). Es importante mencionar que las pteridofitas conjuntamente con las briofitas se consideran como plantas colonizadoras y formadoras del suelo favoreciendo el establecimiento posterior de otras especies en el proceso de sucesión vegetal (Muñiz *et al.* 2007).

4.2.1. Distribución y hábitat de las Pteridofitas

De acuerdo a su forma de vida, estas pueden ser epífitas, hemiepífitas, acuáticas, semiacuáticas y terrestres (herbáceas, trepadoras y arborescentes). La mayoría se distribuyen principalmente en regiones cálido-húmedas (Muñiz *et al.* 2007). Los helechos son las plantas más representativas y mejor conocidas de este grupo, estos poseen diferentes tamaños, colores, formas y tipos de hábitat, ya que pueden crecer sobre suelo, rocas, árboles y agua; otras pteridofitas no tan diversas

están bien representadas por los equisetos (*Equisetum*) o comúnmente conocidas como colas de caballos, las doradillas (*Selaginella*), los licopodios (*Lycopodium*) y algunos géneros menos comunes como *Isoëtes*, *Psilotum* y *Tmesipteris* (Ramírez y Sánchez-González 2007).

4.2.2. Familia Lygodiaceae

Son plantas terrestres con rizomas trepadores, delgados y prostéticos con tricomas, sus frondas presentan crecimiento indeterminado; son trepadoras con pinnas alternas, cuya lámina primaria es bifurcada de manera pseudodicotómica en forma de “Y” originando dos pínulas laterales y un brote abortivo entre las bases de éstas, presentan una venación libre y anastomada. Sus soros se encuentran ubicados en los lóbulos de los últimos segmentos; los esporangios son abaxiales, solitarios, exponiéndose uno por soro. Están cubiertos por un indusio antrorso que brinda sujeción. Las esporas son tetraédricas y triletas, siendo 128 a 256 por esporangio.

Tradicionalmente, el género *Lygodium* se ubicaba dentro de la familia Schizaeaceae, sin embargo, estudios morfológicos y moleculares lo reconocen como un género dentro de la familia monotípica Lygodiaceae. Su distribución se encuentra en regiones tropicales y subtropicales, principalmente en Malasia y Centroamérica (Alcauter y Bedolla 2021).

4.3. Descripción de la planta *Lygodium venustum*.

Trepador; frondas de crecimiento indefinido; raquis y estípote pajizo, voluble; esporangios situados en unas prolongaciones marginales, estrechas llamadas soróforos. *Lygodium* es poco común por sus hojas indeterminadas y trepadoras. Los pedículos de las pinnas se bifurcan cerca de su base, originando dos pínulas (a menudo confundidas con pinnas) (figura 2), con una yema latente en la bifurcación entre ambas. Esta yema puede reanudar su crecimiento si se daña el ápice de la hoja. Los esporangios están dispuestos sobre en unas prolongaciones marginales, estrechas llamados soróforos (Monterrosa 2009) (figura 3).



Figura 2: Hojas de *Lygodium venustum* (Trópicos [Fecha desconocida]).



Figura 3: Soróforos ubicados en prolongaciones marginales (Trópicos [Fecha desconocida])

Presenta un rizoma cortamente rastrero, con pelos marrones; frondas de crecimiento indefinido, pueden alcanzar varios metros de longitud; estípites y raquis pajizos, tiesos, volubles; pinnas alternas, ramificadas pseudo-dicotómicamente cerca de la base, con una yema en la bifurcación: pinnulas pinnado-divididas con el peciolulo de 1 - 3.5 cm; últimos segmentos 2 - 10 x 0.5 - 1.5 cm, pilosos o glabros en el envés, con el margen finamente serrulado; venas libres, con tricomas blanquecinos dispersos o densamente pelosas: esporangios situados en dos columnas, en unas prolongaciones estrechas, marginales, llamadas soróforos (Monterrosa 2009).

4.3.1. Hábitat y Distribución general.

Trepador: en zonas abiertas, matorrales, orillas de caminos. Planta pequeña que tiene apariencia de helecho, con hojas como lanzas y con muchos pelillos; en el reverso presentan unas líneas donde se encuentran las esporas. Originaria de Mesoamérica. Presente en climas cálido y semicálido entre 0 - 1100 msnm. Asociada a bosques tropicales caducifolio, subperennifolio y perennifolio (Monterrosa 2009). Se encuentra en México, Guatemala, Belice, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Antillas, Colombia, Venezuela, Trinidad y Tobago, Guyana, Surinam, Guyana Francesa, Ecuador, Perú, Brasil, Bolivia y Paraguay (figura 4) (Monterrosa 2009).



Figura 4: Mapa de distribución de *Lygodium venustum* en Centroamérica (Trópicos [Fecha desconocida])

4.4. Metabolitos presentes en *Lygodium venustum*

4.4.1 Perfil fitoquímico

El extracto etanólico del tallo presenta alcaloides, taninos, glicósidos cardiotónicos, triterpenos/esteroides y quinonas. El extracto etanólico de las esporas presenta alcaloides, cumarinas, glicósidos cardiotónicos, flavonoides, saponinas y triterpenos/esteroides (Villanueva *et al.* 2013).

Asimismo, el extracto etanólico de la hoja de *Lygodium venustum* presenta los siguientes metabolitos que se muestran en la tabla 1 (Morais-Braga *et al.* 2012).

Tabla 1: Metabolitos presentes en *Lygodium venustum*.

Metabolitos														
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+

1-Fenoles; 2-Taninos pirogalolatos; 3-Taninos flobafenos; 4-Antocianidinas ; 5-Antocianinas; 6-Flavonas; 7-Flavonoles; 8-Xantonas; 9-Chalconas; 10-Auronas; 11-Flavonoles; 12-Leucoantocianidinas; 13-Catequinas; 14-Flavononas; 15-Alcaloides.

- (+) presencia; (-) ausencia.

Por otro lado, en la investigación de Morais-Braga *et al.* (2013) "Composición fenólica, actividad citotóxica y anticinetoplástica de *Lygodium venustum* SW. (Lygodiaceae)", se realizó la identificación de los compuestos químicos presentes en el extracto etanólico, empleado HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Resolución) revelándose la presencia de ácido gálico, ácido clorogénico, ácido cafeico, rutina, quercetina y kaempferol.

4.4.2. Generalidades de los principios activos

Un principio activo se refiere a una molécula derivada del metabolismo de las plantas, que posee propiedades farmacológicas y puede ser utilizada terapéuticamente (Berdonces 1995).

Entre los metabolitos secundarios más comunes se encuentran los flavonoides, taninos, terpenos, lignanos, saponinas, alcaloides, polifenoles y cumarinas (Lustre 2022). A continuación, se describen algunos metabolitos secundarios encontrados en análisis fitoquímico de *Lygodium venustum*:

4.4.2.1. Alcaloides:

Son compuestos nitrogenados con estructuras químicas variadas y complejas, principalmente de origen vegetal. Comparten la capacidad de producir una reacción alcalina e inducir importantes efectos biológicos. Se dividen en dos grupos principales: heterocíclicos y no heterocíclicos (Berdonces 1995).

Ejemplos de alcaloides: La vinblastina (*Catharanthus rosea*), un agente antitumoral; la morfina (figura 5) (*Papaver somniferum*), un depresor del sistema nervioso central; y la quinina (*Cinchona sp.*), un antipalúdico. Las bases xánticas, como la cafeína y la teofilina, se utilizan en productos anticelulíticos.

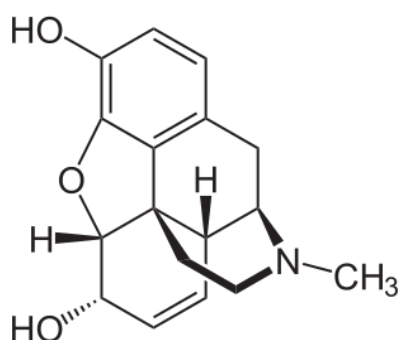


Figura 5. Estructura química de la morfina (PubChem [Fecha desconocida]).

4.4.2.2. Taninos:

Son compuestos polifenólicos (figura 6) con sabor astringente, solubles en agua y capaces de precipitar metales pesados. Pueden ser hidrolizables o no hidrolizables. Se encuentran en plantas como el arándano, madroño, calluna, zarzamora, agrimonia, tormentilla, roble, castaño, encina, bistorta, Krameria, salicaria y hamamelis. Sus acciones incluyen efectos astringentes, vasoconstrictores, hemostáticos, antibióticos, antivirales, antifúngicos, antiinflamatorios y antidiarreicos. Los taninos interactúan con los alcaloides, causando su precipitación (Berdonces 1995).

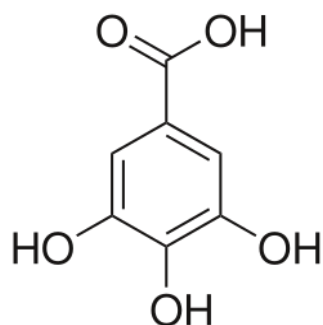


Figura 6. Estructura química un tanino (ácido gálico) (ScienceDirect Topics 2025).

4.4.2.3. Quinonas:

Son compuestos orgánicos (figura 7) con bases aromáticas como el benceno, naftaleno, antraceno y fenantreno, considerados moléculas cíclicas diacetónicas conjugadas. Se encuentran en forma de pigmentos en plantas y animales, y en hierbas usadas tradicionalmente en China como el ruibarbo, cassia, sen, consuelda, nudillo gigante, polygonum y aloe vera. Tienen aplicaciones farmacológicas como antioxidantes, antibacterianos, antifúngicos, y se utilizan en medicamentos antitumorales y antiinflamatorios (Bolívar 2022).

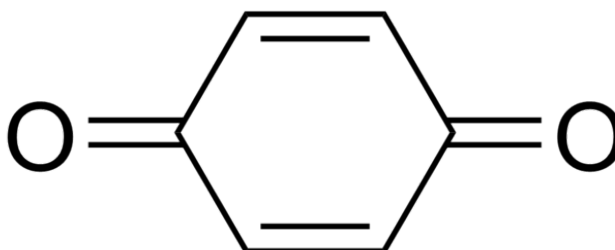


Figura 7. Estructura química de una quinona (PubChem [Fecha desconocida]).

4.4.2.4. Flavonoides:

Son compuestos fenólicos (figura 8) presentes en frutas, verduras, semillas y flores, mayormente en las hojas y el exterior de las plantas, así como en cerveza, té verde, té negro, vino (Martínez-Flórez *et al.* 2002).

Debido a su mecanismo de acción, estos fitoquímicos se han utilizado en patologías como la diabetes *mellitus*, cáncer, cardiopatías, infecciones virales, úlceras. Asimismo, se les ha dado uso antialérgico, antitrombótico, antioxidante e incluso como antiinflamatorio. Diversos estudios *in vivo* e *in vitro* demuestran el potencial de los flavonoides para proteger a las neuronas contra el daño provocado por diversas neurotoxinas (Limón *et al.* 2010). Por otro lado, estos han sido utilizados en tintes naturales, cosméticos y productos naturales de la piel. Los extractos de cáscara de manzana, ricos en flavonoides, inhiben la acetilcolinesterasa *in vitro* y son un agente antihipertensivo eficaz (Ullah *et al.* 2020).

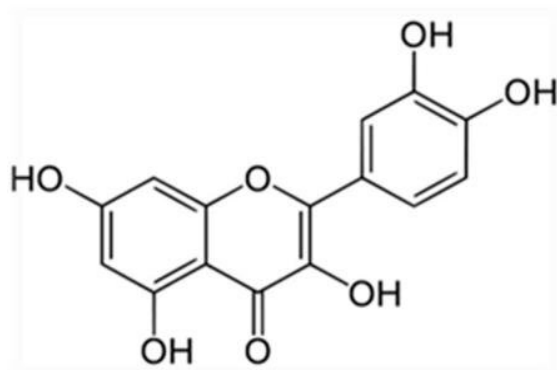


Figura 8. Estructura química de un flavonoide (quercetina) (PubChem [Fecha desconocida])

4.5. Método de extracción por decocción.

El método de decocción es un proceso antiguamente muy popular, el cual consiste en hacer hervir la parte de la planta en un líquido para ablandar la fibra orgánica y disolver los jugos del cuerpo sometidos al calor, con el fin de extraer sus principios hidrosolubles y termoestables de drogas crudas (Córdova *et al.* 2018). Este método puede mejorar la solubilidad de fitoquímicos como alcaloides, flavonoides, polisacáridos solubles, taninos. La temperatura alta empleada en el proceso de decocción inhibe la acción de glucoronidasa, impidiendo que los glucósidos se conviertan en las agliconas (Ashwani *et al.* 2023), el tiempo de decocción depende de las características de las plantas (Venegas 2012); si bien es cierto, la decocción se suele usar con las partes duras de las plantas, como raíces o cortezas, sin embargo, hay estudios en donde se aplica para conseguir extractos de flores y hojas obteniendo una concentración favorable de metabolitos secundarios.

4.6. Generalidades de toxicología.

La toxicología es el estudio de los venenos o, en una definición más precisa, la identificación y cuantificación de los efectos adversos asociados a la exposición de sustancias químicas, agentes físicos u otras situaciones. Por lo tanto, se puede mencionar que la toxicología es tributaria en la materia de información, diseños de investigación y métodos de la mayoría de las ciencias biológicas básicas, de las disciplinas médicas, de la epidemiología y de determinadas esferas de la química y la física. Esta abarca desde estudios de investigación básica sobre el mecanismo de acción de los agentes tóxicos hasta la elaboración e interpretación de pruebas normalizadas para determinar las propiedades tóxicas de los agentes.

Aporta valiosa información tanto a la medicina como a la epidemiología con el objetivo de comprender la etiología de las enfermedades; se divide en disciplinas

normalizadas como la toxicología clínica, la de investigación, forense y la reguladora, en inmunotoxicología o toxicología genética que hace referencia a los procesos orgánicos o sistemas que se ven afectados.

Uno de los objetivos principales de la toxicología es identificar el efecto o grupo de efectos importantes con la finalidad de prevenir enfermedades irreversibles o debilitadoras. Una parte destacada en esta área es la identificación del órgano u órganos que se vean más afectados en primer lugar o por un agente tóxico, siendo este denominado como el “órgano diana” (Silbergeld E 1998).

4.6.1. Toxicidad aguda

La toxicidad aguda de una sustancia química se refiere a los efectos adversos que se pueden manifestar tras la administración por vía oral o cutánea de una sola dosis de dicha sustancia, de dosis múltiples administradas a lo largo de 24 horas o como consecuencia de una exposición por inhalación durante 4 horas.

Suele investigarse en ratones y/o ratas donde el efecto tóxico cuantificable o parámetro es la muerte. Comúnmente una prueba de toxicidad aguda consiste en la exposición en una sola ocasión a grupos de 10 o 20 animales, cada uno, más un grupo control. Los animales se examinan diariamente, registrándose los signos clínicos y los síntomas de toxicidad. Luego de un intervalo de 14 días, se cuenta el número de animales muertos en el grupo de dosis y el grupo control. Los resultados son analizados estadísticamente con respecto a la frecuencia de animales expuestos muertos como función de la dosis.

Uno de los métodos para expresar la toxicidad aguda es la dosis letal media o DL50. Es importante mencionar que dicha dosis es estadística no real y se deriva de los estudios de toxicidad aguda donde la mitad de los animales de prueba mueren y la otra mitad sobrevive (Roldán 2016).

Según Naciones Unidas (2016) los estudios de toxicidad aguda proporcionan:

- Un cálculo cuantitativo de la DL50.
- Identificación de órganos diana y otras manifestaciones clínicas de toxicidad aguda.
- Establecer la reversibilidad de las reacciones tóxicas.
- Brindar orientación sobre los intervalos de dosis para otros estudios.

Estos estudios de letalidad aguda son importantes para determinar los efectos tóxicos de las sustancias y su peligrosidad para los humanos. La información más relevante que proporciona la prueba de toxicidad aguda se obtiene a partir de

observaciones clínicas y necropsias de animales, no del valor específico de DL50 (Naciones Unidas 2016).

Los métodos tradicionales para evaluar la toxicidad aguda utilizan la muerte de los animales como criterio de evaluación. En 1984, la Sociedad Británica de Toxicología sugirió un nuevo enfoque para las pruebas de toxicidad aguda basado en la administración de una serie de niveles de dosis fijos. El enfoque evitó que la muerte de los animales fuese el criterio de evaluación y, en cambio, se basó en la observación de signos claros de toxicidad en una serie de niveles de dosis fijos.

La OECD Guideline For Testing of Chemical (OECD 2001) presenta las especificaciones para el estudio de toxicidad aguda por método del Procedimiento de Dosis Fijas. Dicho método proporciona información sobre las propiedades peligrosas y permite que la sustancia sea ordenada y clasificada de acuerdo con el Sistema Globalmente Armonizado para la clasificación de productos químicos que causan toxicidad aguda.

Dicha guía menciona que la especie preferida para los estudios es la rata, sin embargo, se pueden utilizar otras especies de roedores como los ratones. Dichos individuos deben de mantenerse en una sala de experimentación con una temperatura de 22°C (+ 3°C), con una humedad relativa al menos de 30% y que preferiblemente que no sobrepase los 70%, siendo el objetivo de 50%-60% de humedad. La iluminación debe de ser artificial, siendo la secuencia de 12 horas de luz y 12 de oscuridad.

Con respecto a la preparación de dosis, en general, las sustancias ensayos deben de administrarse en un volumen constante en el rango de dosis a probarse variando la concentración de la preparación dosificadora. El volumen máximo que debe de administrarse al animal de prueba por vez depende de su tamaño. En roedores, el volumen normalmente no debe de exceder de 1 mL/ 100 g, sin embargo, en el caso de soluciones acuosa, se puede considerar 2 mL/ 100 g de peso corporal.

La sustancia de ensayo se administra en una sola dosis por medio de una sonda utilizando un tubo estomacal o una cánula de intubación adecuada. En la circunstancia inicial que una dosis única no sea posible, la dosis puede administrarse en fracciones más pequeñas durante un periodo que no exceda las 14 horas.

4.7. Generalidades de analgesia.

La analgesia es la pérdida o modulación de la percepción del dolor. Este puede ser de 3 diferentes maneras; 1) local y afectar sólo una pequeña área del cuerpo, 2) puede ser regional y afectar una porción más amplia del cuerpo o 3) sistemática. La analgesia se logra a través del uso de la hipnosis (sugestión), medicamentos sistémicos, fármacos regionales o fármacos por inhalación (McDonald *et al.* 2023). En otras palabras, se puede definir analgesia como el alivio a la percepción del dolor sin producción intencional de un estado de sedación (Rivera 2002).

4.7.1. Analgesia

La palabra analgésico procede etimológicamente del prefijo griego *a-/an-* (carencia, negación) y de *algos* (dolor). Según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor o por sus siglas en inglés (IASP), este se define “como la experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a una lesión hística real o potencial, o descrita en un término de dicho daño”. Por lo tanto, el dolor no es solamente una sensación o experiencia. Además, no se trata de algo estrictamente sensorial, sino que también tiene un estado emocional; el dolor no precisa de una lesión para manifestarse, ya que puede existir en ausencia de ella (Esteva 2008).

4.7.2. Clasificación de los analgésicos

En la década de los 80's la Organización Mundial de la Salud (OMS), promovió una escala analgésica (figura 9) como marco para el uso racional de los fármacos analgésicos en dolor de origen oncológico que ha sido muy útil en todo tipo de pacientes afectos de dolor crónico. Según dicha escala, el primer eslabón lo constituyen los analgésicos no opioides como el paracetamol, el metamizol o los antiinflamatorios no esteroides.

Si el dolor aumenta de intensidad, se les puede añadir los opioides débiles, los cuales constituyen el segundo eslabón y si estos no logran controlar el dolor se accede al tercer eslabón conformado por los opioides más potentes que no presentan techo analgésico. Es importante mencionar que en cada escalón se puede asociar con fármacos activos coadyuvantes de dolor a los principios activos pertenecientes al nivel (Moreno y Muedra [fecha desconocida]).

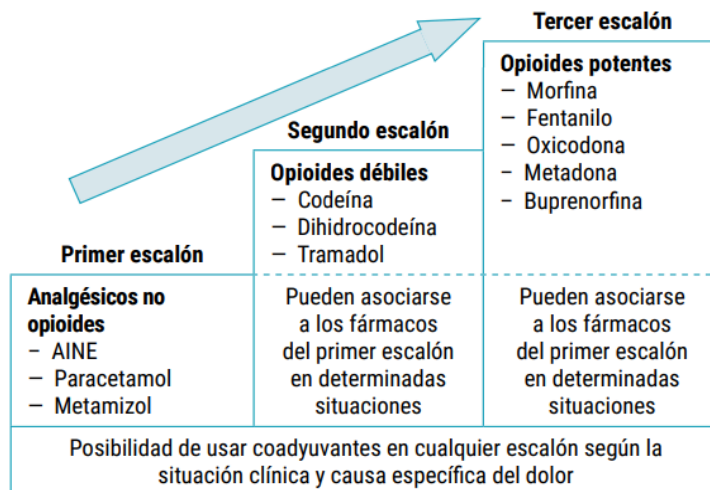


Figura 9. Escalera analgésica de la OMS.

4.7.2.1. Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)

Las AINEs son un grupo de fármacos que permiten disminuir la inflamación, combatir el dolor, bajar la fiebre; forman un numeroso grupo de medicamentos que comparten acciones terapéuticas y efectos adversos, presentan estructuras químicas muy distintas pero no necesariamente relacionadas entre sí y que, fundamentalmente, tiene en común sus propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas (Clasificación... [fecha desconocida]). Estos son la primera opción terapéutica para tratar el dolor en la población, siendo la aspirina el fármaco más utilizado en el mundo (Moreno y Muedra [fecha desconocida]).

Los analgésicos AINEs no producen depresión respiratoria ni generan tolerancia o dependencia física. Su eficacia analgésica es limitada y no dosis-dependiente (el incremento de la dosis puede prolongar el efecto pero no produce más analgesia y aumenta la incidencia de efectos secundarios). Son eficientes para el tratamiento de dolor leve-moderado, siendo posible que logre controlar el dolor intenso de componente inflamatorio, postquirúrgico y tipo cólico (Valdivielso 1998).

Uno de los medicamentos perteneciente a los AINEs es la indometacina (figura 10), cuya acción consiste en detener la producción del cuerpo de una sustancia que causa dolor, fiebre e inflamación (MedlinePlus 2021). Es un agente no esteroideo con propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias que se atribuyen a una capacidad para inhibir la síntesis de prostaglandinas. Cabe mencionar que su capacidad es 20 veces mayor que el ácido acetil salicílico (figura 11). La indometacina se absorbe rápido y por completo a través de la mucosa gastrointestinal y las concentraciones plasmáticas máximas en condiciones de ayuno se logran 3 horas después de su administración oral. Por otro lado, los

efectos terapéuticos se obtienen en concentraciones plasmáticas de 0.5 a 3 µg/ml y los signos de toxicidad aparecen en concentraciones mayores a 6 µg/ml (Campos 2023).

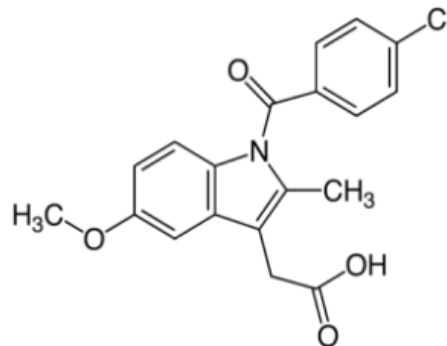


Figura 10: Estructura química de Indometacina (Diaz 2012)

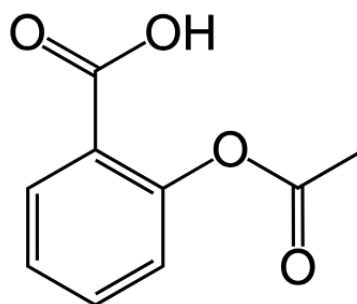


Figura 11. Estructura química del ácido acetil salicílico (Diaz 2012)

4.7.2.2. Analgésicos opioides débiles.

Los analgésicos opioides débiles constituyen el segundo nivel de la escala de analgesia de la OMS. Representado principalmente por codeína (figura 12), dihidrocodeína y dextropropoxifeno. Todos estos fármacos tienen vidas cortas, con una duración de acción estimada entre 2 y 4 horas. Por lo general, se prescriben en dosis bajas en combinación con ácido acetilsalicílico o paracetamol. La dosis se puede aumentar hasta la dosis máxima de analgésicos combinados no opioides (p. ej., 4,000 - 6,000 mg/día de paracetamol; por encima de esta dosis, el opioide incluido en la combinación se puede aumentar como componente único o cambiar a otro agonista puro). Las formulaciones de liberación prolongada de codeína y oxicodona están actualmente en desarrollo y aún se encuentran en la fase de prueba (Valiente *et al.* 2001).

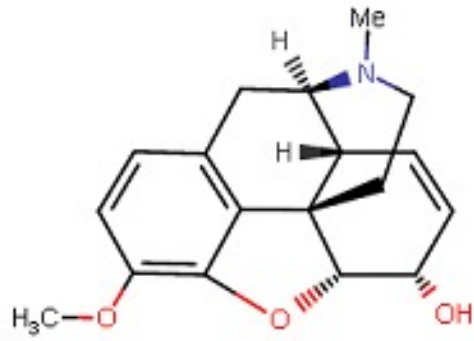


Figura 12: Estructura de la codeína (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases 2019)

4.7.2.3. Analgésicos opioides potentes

Se caracterizan por no tener límite superior de analgesia, es decir, el grado de analgesia aumenta casi infinitamente con el aumento de dosis, y si no fuera por sus efectos secundarios, se podría alcanzar un techo analgésico muy alto. A estos pertenecen la morfina (figura 13), fentanilo, oxycodona y metadona (Moreno y Muedra [sin fecha]). Constituyen el tercer paso de la escala de tratamiento de la OMS. A menudo se consideran el fármaco de elección para el tratamiento del dolor. La dosis apropiada es la cantidad de opioides que controla el dolor con el mínimo de efectos secundarios (Duce *et al.* 2007).

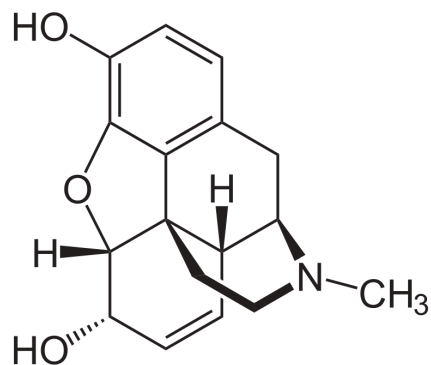


Figura 13: Estructura de la morfina (PubChem [Fecha desconocida]).

4.8. Modelo de dolor en animales

Los modelos animales de dolor son cruciales para el estudio del dolor. En este sentido, un modelo de dolor es el proceso mediante el cual se evalúa la respuesta de un animal ante un estímulo desagradable de diversa índole o ante una situación patológica creada artificialmente y puede ser aplicado en situaciones fisiológicas o patológicas. Pero es importante ver los modelos críticamente porque, si bien podemos medir el componente somático de la respuesta nociceptiva de un animal a un estímulo doloroso, no podemos medir el componente afectivo-emocional, que es un componente fundamental del dolor en humanos y probablemente en animales.

El uso de modelos animales de dolor se justifica por la búsqueda de nuevos analgésicos y los mecanismos íntimos que subyacen al dolor. Los modelos que utilizan un estímulo físico o químico con el objetivo de determinar la latencia de respuesta del animal a dicho estímulo y que tienen un desarrollo temporal condensado, se encuadran básicamente bajo el epígrafe de modelos de dolor agudo. La prueba de presión de la pata o la prueba de presión de la cola en ratas utiliza un estímulo mecánico, mientras que la prueba de la placa caliente, la prueba del movimiento de la cola y la prueba de inmersión de la cola utilizan un estímulo térmico. También se incluyen la prueba de estimulación eléctrica de la cola, que utiliza un estímulo eléctrico, la prueba del ácido acético (prueba de constricción abdominal) y la prueba de formalina (evaluación de la primera fase), que utiliza un estímulo químico (Micó y Ortega-Álvaro 2006).

Si bien no son los únicos animales utilizados en el laboratorio para la investigación *in vivo*, los ratones (generalmente *Mus musculus*) (figura 14) son los más utilizados, ya que son la clave para comprender cómo responde el cuerpo de un mamífero al desafío, la infección o la intoxicación experimental. Se utilizan principalmente en investigación biotecnológica y en la industria farmacéutica para desarrollar nuevos productos biológicos (vacunas, anticuerpos monoclonales) y para probar la eficacia y seguridad de diversos fármacos. Debido a que son pequeños, manejables, fáciles de criar en cautiverio y tienen un ciclo de vida rápido, los ratones se consideran excelentes modelos animales y han demostrado ser útiles para criar y analizar procesos detallados como el cáncer, enfermedades infecciosas y mutaciones genéticas y para estudiar la función del sistema inmune (Salabert 2022).

Las características que han hecho del ratón de laboratorio el modelo biológico y biomédico más utilizado en las investigaciones científicas según Parker (2002) son:

1. Fácil manejo.
2. Tamaño apropiado para la crianza y manipulación.

3. No requieren demasiados cuidados.
4. Tienen un sistema inmune similar al de los seres humanos.
5. Tienen un alto número de crías.
6. Poseen un breve período de gestación (19-21 días) y rápido destete a los 20 días.
7. Las hembras producen un gran número de óvulos, los cuales al ser fecundados son muy resistentes.
8. Al ser mamíferos euterios, al igual que el hombre, tienen un genoma muy similar a los humanos diploides.

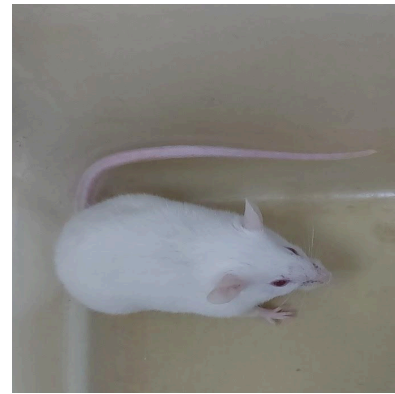


Figura 14. *Mus musculus* NIH.

5. METODOLOGÍA

5.1. Ubicación del área de estudio

El estudio se realizó en la Universidad de El Salvador ubicada en 13°43'6" N 89°12'11" O, específicamente en las instalaciones del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD-UES), en el Laboratorio de Experimentación Animal (LEA) (figura 15).

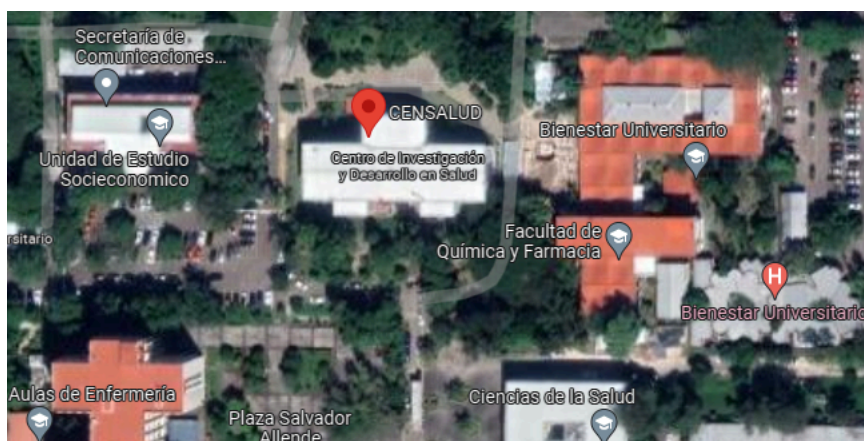


Figura 15. Ubicación del área de estudio.

5.2. Metodología de campo

5.2.1. Obtención del material vegetal

Para la identificación de la especie de trabajo se utilizó la Guía de Identificación de Helechos de El Salvador, junto con el apoyo del Licenciado en biología Roberto Amado Vásquez Díaz. La recolección del helecho *Lygodium venustum* se realizó dentro de las instalaciones de la Universidad de El Salvador, visitando diversas facultades. Posteriormente a la recolección, los helechos fueron secados a temperatura ambiente.

5.3. Metodología de laboratorio

5.3.1. Obtención de extracto de *Lygodium venustum* por medio del método de decocción

Para la preparación del extracto se depositaron las hojas secas y trituradas de *Lygodium venustum* en un recipiente con agua de grifo. Este se colocó a fuego medio hasta alcanzar su punto de ebullición, momento en que se retiró y dejó reposar a temperatura ambiente. Luego se procedió a filtrar la decocción por medio de una gasa o colador para eliminar los restos físicos de las hojas. Las concentraciones utilizadas fueron de 1 y 4 gramos de hojas secas trituradas, en 100 mL de agua, identificándose como concentración baja y alta respectivamente (figura 16).



Figura 16. Obtención del extracto de *Lygodium venustum* por medio del método de decocción.

5.3.2. Animales de experimentación

Para determinar la toxicidad aguda del extracto se trabajó con ratones albinos de la cepa NIH, procedentes del LEA de CENSALUD, con un peso corporal de 20 a 30 gramos, de aproximadamente 5 a 7 semanas de nacidos. Estos se mantuvieron a una temperatura controlada de 22 ± 2 °C entre 50 - 60% de humedad relativa, con un ciclo de luz-oscuridad de 12/12 horas. Su alimentación constó de una dieta estándar a base de concentrado peletizado para roedor y agua a voluntad.

Para su identificación cada individuo fue marcado con ácido pícrico en diferentes partes de su cuerpo de la siguiente manera (tabla 2):

Animal 1:	Sin identificación.
Animal 2:	Marca en la cabeza.
Animal 3:	Marca en la espalda o lomo.
Animal 4:	Marca en la base de la cola.
Animal 5:	Marca en la pata delantera derecha.
Animal 6:	Marca en la pata delantera izquierda.
Animal 7:	Marca en la pata trasera derecha.
Animal 8:	Marca en la pata trasera izquierda.
Animal 9:	Marcas en patas delanteras derecha-izquierda.
Animal 10:	Marcas en patas traseras derecha-izquierda.

Tabla 2: Orden de identificación de los animales de experimentación.

5.4. Estudio de toxicidad aguda durante 14 días

5.4.1. Administración de sustancia.

Se dispuso de 2 grupos, de 5 ratones cada uno, previamente identificados. Un grupo fue utilizado para la administración de la concentración más alta de la decocción (tratamiento) y el restante sirvió como grupo control, a quien se le administró agua destilada. La sustancia fue proporcionada por dosis única mediante vía oral por medio de una cánula intragástrica, sin necesidad de anestésico al ratón; cabe mencionar que el volumen administrado fue en relación con su peso corporal (1 mL/ 100 g de peso corporal).

5.4.2. Consumo de alimento y agua

Durante la prueba se registró el consumo de alimento y agua, tanto del grupo control como el experimental. El peso del consumo y las anotaciones se realizaron el primer y último día de las 2 semanas de estudio, colocándose en una hoja de registro (ver anexo 2).

5.4.3. Observaciones post-administración de la decocción.

Al administrar la concentración a los individuos se mantuvieron en observación durante las primeras cuatro horas, especialmente durante los primeros 30 minutos; posteriormente, se realizaron visitas diariamente para observar los efectos hasta completar los 14 días. Asimismo, se registró el peso corporal una vez por semana, colocándose en una hoja de registro (anexo 3), mientras que los parámetros de toxicidad (tabla 3) se reportaron diariamente en base a descripción de los signos que suelen presentarse (anexo 4).

Parámetros de toxicidad	Descripción
Apariencia de pelo	Textura, color, caída
Apariencia de la piel	Enrojecimiento, sequedad, exudación
Ojos y membranas mucosas	Enrojecimiento, sequedad, secreción anormal
Ataxia	Pérdida del equilibrio, caminata errática
Parálisis	Pérdida de respuesta en cualquier extremidad
Vasoconstricción periférica	Palidez
Vasodilatación periférica	Enrojecimiento
Pilo-erección	Pelaje erizado
Salivación	Exceso de secreción bucal

Tremores y convulsiones	Contracción muscular anormal espontánea. Contracción o estiramiento muscular descontrolado
Respiración	Aumento o disminución de la frecuencia respiratoria
Deshidratación	Prueba de Robinou: pellizco de la piel, sin el retorno de esta a su posición normal
Diarrea	Heces blandas o deposición acuosa
Actividad somatomotriz y motora	Descripción
Actividad motora	Aumento o disminución de la actividad normal, refleja o no
Reacción a estímulos	Respuesta al tacto o al ruido

Tabla 3: Parámetros de toxicidad en animales de experimentación (Mejía y Parada 2009).

5.4.4. Sacrificio y Necropsias

Al finalizar el estudio de toxicidad, los animales se sacrificaron por medio de la dislocación cervical para posteriormente practicarles necropsia y realizar la extracción de los siguientes órganos: hígado, corazón, pulmones, bazo, riñones, estómago e intestinos, los cuales fueron examinados de manera macroscópica.

Asimismo, se realizaron observaciones de apariencia, superficie (lisa, áspera, granular, arrugada), consistencia (firme, quebradizo y esponjoso) y color (homogéneo, manchado), su tamaño (cm) y su respectivo peso (g), con el fin de examinar las posibles presencias o ausencias de lesiones. Todo ello se registró en la hoja de observaciones *post mortem* (Anexo 5).

5.5. ACTIVIDAD ANALGÉSICA

5.5.1. Prueba del Ácido Acético

El fundamento de esta prueba consistió en la inducción de contorsiones en los ratones, mediante la inyección del ácido acético al 1%, vía intraperitoneal (Guerra 2017).

Se utilizaron 4 grupos, de 10 ratones cada uno. La distribución para realizar las pruebas fue de la siguiente manera: al primer grupo, grupo control, se le administró el vehículo, agua destilada; al siguiente grupo se le proporcionó Indometacina a una dosis de 10 mg/kg y a los últimos grupos, 3 y 4, se les administró 1 ml/100 g de peso corporal (Santoro 2013) de la decocción de *Lygodium venustum* en concentraciones baja y alta respectivamente, por vía oral (figura 17).

Media hora después se provocaron las contorsiones inducidas por inyección vía intraperitoneal de solución de ácido acético al 1% v/v, en volumen de 0.1 ml a cada animal (figura 18).



Figura 17: Administración de la decocción de *Lygodium venustum*



Figura 18: Administración de la inyección peritoneal del ácido acético.

Para observar el número de estiramientos realizados (figura 19), los ratones se colocaron en contenedores transparentes individuales. Al pasar 5 minutos de la aplicación de la inyección, la observación del efecto duró 30 min para cada animal. El porcentaje de inhibición de contorsiones se calculó por medio de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibicion} = \frac{X_c - X_p}{X_c} \times 100$$

Dónde:

X_p = número de estiramientos del grupo problema.

X_c = número de estiramientos del grupo control.



Figura 19: Estiramientos inducidos por inyección de ácido acético.

5.5.2. Prueba de Formalina

En esta prueba se utilizó la misma cantidad de grupos y ratones planteados en el ensayo de ácido acético. El inicio de ella fue media hora después de administrar las sustancias correspondientes a cada animal (figura 20). El estímulo doloroso fue inducido por la inyección subplantar de 20 μ l de formalina al 2%, en la pata trasera izquierda del ratón (figura 21), luego se colocaron en contenedores transparentes para su observación.



Figura 20: Administración de la decocción de *Lygodium venustum*.



Figura 21: Lamida de pata por inyección de formalina al 2%

Para esta prueba se distinguieron dos fases según Hunskaar y Hole (1987):

- Fase 1: indicativa del dolor neurogénico (primeros 5 min).
- Fase 2: indicativa del dolor inflamatorio (15 a 30 min después de la administración de la formalina).

Para evaluar ambas fases, se midió el tiempo acumulado en segundos, durante el cual el animal se lame la pata, por medio de un cronómetro. Para ambas fases se determinó el porcentaje de inhibición en los grupos tratados respecto al grupo control, utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{X_c - X_p}{X_c} \times 100$$

Dónde:

Xp = Tiempo de lamidas en segundos del grupo problema

Xc = Tiempo de lamidas en segundos del grupo control

5.6. Análisis estadístico

El análisis de los datos obtenidos se realizó mediante el Software STATGRAPHIC. Para las pruebas de normalidad se utilizó el contraste Shapiro-Wilks. Con respecto a los datos que resultaron de la prueba de toxicidad, el aumento porcentual del peso corporal y el peso de órganos, se analizaron con t-Student, mientras que para las pruebas de analgesia, el estudio de ácido acético y formalina, se trabajó con Análisis de Varianza de una sola vía (por sus siglas en inglés ANOVA), seguida de una prueba Tukey para la comparación entre grupos. La diferencia entre los grupos tratados y los grupos control fue significativa (*) cuando $p < 0.05$. Todos los resultados fueron expresados como la Media \pm el Error Estándar de la Media (E.E.M) de los grupos experimentales.

6. RESULTADOS

6.1. ESTUDIO DE TOXICIDAD AGUDA.

6.1.1. Observaciones clínicas.

Las observaciones clínicas a los animales del grupo control y los tratados con la decocción de *Lygodium venustum* fueron realizadas diariamente durante 2 semanas. No se evidenciaron signos de toxicidad ni efectos adversos como: piloerección, diarrea, cambios en la respiración y apariencia de piel, afectaciones en la actividad motora, etc. Mostrando un comportamiento normal y una adecuada respuesta ante los estímulos (táctiles, auditivos, entre otros).

6.1.2. Consumo de Alimento y Agua.

A continuación, se muestran los resultados del consumo porcentual de comida y agua de ambos grupos, es decir, de 10 ratones en total (tabla 4). Dichos datos se tomaron en las mismas fechas del registro del peso corporal. Comparando los resultados entre el grupo control y el grupo tratamiento, se puede observar que el consumo porcentual total de alimento fue mayor en los 5 ratones del grupo tratamiento, obteniendo un 62.83%, asimismo, con el consumo de agua siendo de 78%.

Tabla 4: Consumo porcentual semanal y total de alimento y agua de los grupos experimentales.

Consumo porcentual de alimento y agua							
Grupo		Inicial	Semana 1	%	Final	%	Ct %
Control	Comida	300 g	44.5 g	14.83%	111.1 g	37.03%	51.86%
	Agua	1000ml	230 ml	23%	250 ml	25%	48%
Tratamiento		Inicial	Semana 1	%	Final	%	Ct %
	Comida	300 g	108.5 g	36.16%	80.0 g	26.67%	62.83%
	Agua	1000ml	400 ml	40%	380 ml	38%	78%

6.1.3. Análisis del Peso Corporal

En la Tabla 5 se analizan los valores del peso corporal inicial, día 7 y día 14 o final. En ella se puede observar que existe una tendencia al aumento del peso corporal, sin diferencia significativa entre el grupo control y el tratamiento. Sin embargo, se contempla que el aumento porcentual para el grupo tratamiento fue mayor que el del grupo control, obteniendo un 14.7% contra un 4.52%, respectivamente.

Tabla 5: Valores promedio del peso corporal en grupo control y experimental.

Grupo	Inicio	Día 7	Final	Aumento %	P valor
Control	27.07 ± 1.68	27.18 ± 0.34	28.06 ± 0.22	4.52 ± 6.69	—
Tratamiento	20.77 ± 1.78	22.13 ± 1.15	23.67 ± 1.89	14.7 ± 9.25	0.872

Los valores se expresan como media ± E.E.M. P<0.05 (*) se considera una diferencia significativa.

6.1.4. Análisis del Peso de órganos

Con respecto al peso de los órganos, la tabla 6 demuestra que no hay diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. En cuanto a la evaluación macroscópica de los órganos (superficie, consistencia, color) no se observaron cambios en la comparación de los grupos.

Tabla 6: Valores promedio del peso de órganos en grupo control y grupo experimental.

ÓRGANO	GRUPO	MEDIA ± EE	P - VALOR
Hígado	Control	1.45 ± 0.10	
	Tratamiento	1.14 ± 0.10	0.0703
Corazón	Control	0.16 ± 0.02	
	Tratamiento	0.12 ± 0.01	0.1518
Pulmones	Control	0.16 ± 0.01	
	Tratamiento	0.15 ± 0.006	0.6086
Riñón derecho	Control	0.23 ± 0.02	
	Tratamiento	0.19 ± 0.02	0.2411
Riñón izquierdo	Control	0.22 ± 0.01	
	Tratamiento	0.19 ± 0.01	0.1317

Estómago	Control	0.60 ± 0.11	
	Tratamiento	0.66 ± 0.22	0.8490
Bazo	Control	0.11 ± 0.01	
	Tratamiento	0.10 ± 0.01	0.8291
Intestino delgado	Control	1.33 ± 0.10	
	Tratamiento	1.23 ± 0.10	0.4920
Intestino grueso	Control	1.11 ± 0.1	
	Tratamiento	1.00 ± 0.01	0.1002

Los valores se expresan como media ± E.E.M. P<0.05 (*) se considera una diferencia significativa.

6.2. ACTIVIDAD ANALGÉSICA

6.2.1 Prueba de Ácido Acético

Los valores obtenidos de la prueba de ácido acético se pueden apreciar en la tabla 7. En primera instancia, se observa que las medias entre los grupos se comportan con una tendencia normal, demostrando que el grupo tratado con agua destilada o grupo control obtuvo el mayor número de contorsiones, siendo su media de 34.5. Por otro lado, el grupo tratado con el fármaco Indometacina obtuvo una media baja y un porcentaje de inhibición significativo, siendo 5.4 y 84.35% respectivamente, indicando su eficacia y marcando el parámetro de comparación con el resto de los tratamientos.

Asimismo, se aprecia que entre la concentración baja y alta existe una diferencia significativa con el grupo control negativo. La concentración baja obtuvo una media de 23.5 con una inhibición del 31.88%. Mientras que la concentración alta obtuvo una media de 6.1 acompañada de un porcentaje de inhibición de 82.32%, dicho tratamiento resultó ser más eficaz y cercano a la acción del fármaco (figura 22).

Tabla 7: Valores promedios y porcentajes de inhibición de la prueba de ácido acético.

Grupos	Media \pm E.E.M	% De inhibición
Control (Agua destilada)	34.5 \pm 1.31	-
Tratamiento Indometacina (10mg/kg)	5.4 \pm 1.14**	84.35
Concentración baja	23.5 \pm 1.95**	31.88
Concentración alta	6.1 \pm 1.18**	82.32

Los valores se expresan como media \pm E.E.M. $P < 0.05$ (*) y cuando $p < 0.01$ (**) se considera una diferencia significativa.

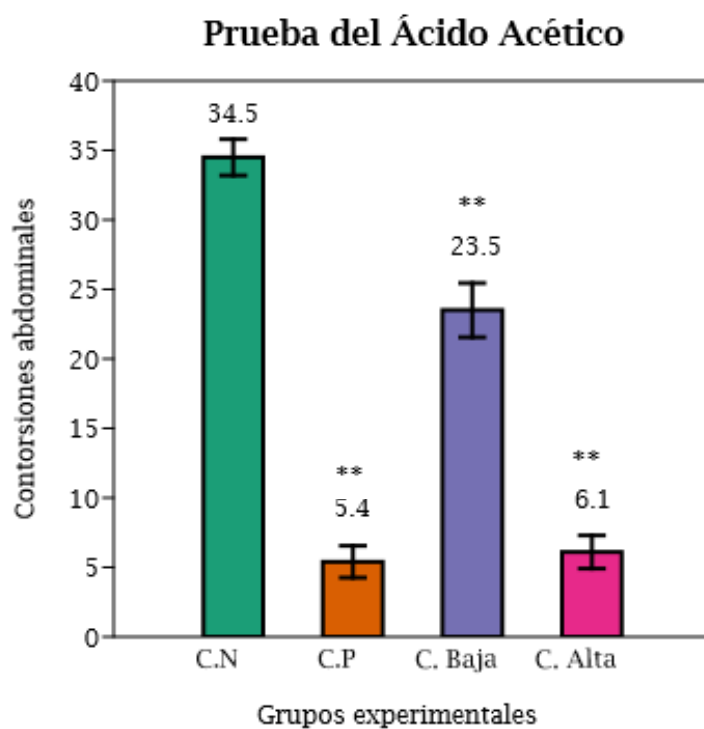


Figura 22: Prueba de ácido acético. Comparación de las contorsiones abdominales realizadas por el grupo control negativo (C.N: H₂O_d), control positivo (C.P: indometacina 10 mg/kg) y las concentraciones de la decocción, siendo C.Baja: Concentración Baja y C.Alta: Concentración Alta. Los datos se expresan como la Media ± E.E.M (Error estándar de la media); ; análisis de varianza unidireccional (ANOVA), seguido de la prueba Tukey.

6.2.2. Prueba de Formalina

En esta prueba se evaluaron los tipos de reacciones al dolor, divididos en dos fases, siendo fase I: neurogénico, calculado en los primeros cinco minutos, y la fase II: el inflamatorio, que comprende los 15 a 30 minutos después de ser inducido el dolor. Como se puede observar en la tabla 8, en la fase I: el grupo control (agua destilada) presenta la media más alta, siendo esta de 83.3 segundos. Cabe mencionar que en esta fase el fármaco de referencia (Indometacina 10 mg/kg) no presentó la eficacia esperada, siendo su media de 81.9 segundos y un porcentaje de inhibición de 1.68%, mientras que las concentraciones baja y alta demostraron una media de 61.1 y 67.4 segundos, respectivamente (figura 23).

Tabla 8: Valores promedios y porcentajes de inhibición de la prueba de formalina.

Grupos	0-5 min Media ± E.E.M	% de Inhibición	15-30 min Media ± E.E.M	% de Inhibición
Control (Agua destilada)	83.3 ± 8.23	-	129.5 ± 15.67	-
Tratamiento Indometacina (10mg/kg)	81.9 ± 7.29	1.68	14.3 ± 3.87**	89.95
Concentración baja	61.1 ± 11.15	26.65	19.9 ± 6.09**	84.63
Concentración alta	67.4 ± 8.82	19.09	10.4 ± 3.21**	91.97

Los valores se expresan como media ± E.E.M (Error estándar de la media). P<0.05 (*) y cuando p <0.01 (**) se considera una diferencia significativa.

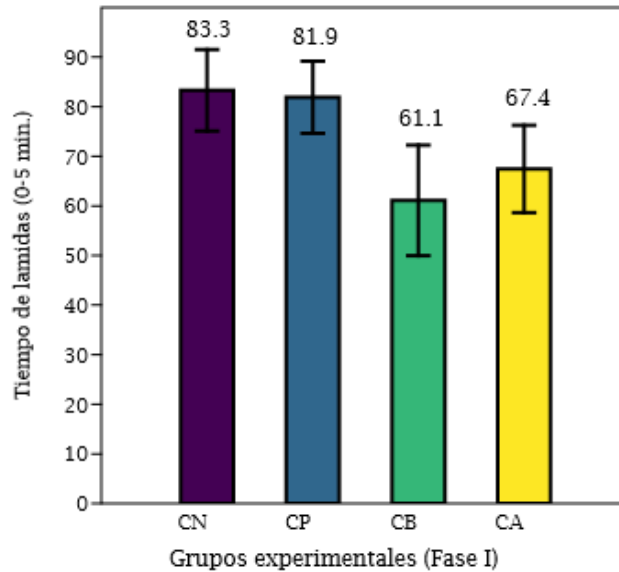


Figura 23: Prueba de formalina, fase I (indicativa del dolor neurogénico). Comparación de los grupos controles (C.N: Control Negativo, C.P:Control Positivo (Indometacina) y grupos tratados (C.B: Concentración Baja, C.A: Concentración Alta). Los datos se expresan como la Media \pm E.E. M (Error estándar de la media); análisis de varianza unidireccional (ANOVA), seguido de la prueba de Tukey.

Al analizar la fase II, que abarca de 15 a 30 minutos, se observa que el grupo tratado con indometacina reduce su promedio a 14.3 segundos, con un porcentaje de inhibición de 89.95%. Por otro lado, la concentración alta demuestra tener un porcentaje de inhibición de 91.97%, con una media de 10.4 segundos, y la concentración baja obtuvo una media de 19.9 segundos y un porcentaje de 84.63%. Dichos datos demuestran que la media de la concentración alta llega a ser menor que la del fármaco utilizado. Asimismo, se aprecia que existen diferencias significativas al comparar el grupo control de agua destilada con los grupos de tratamiento, incluyendo el control positivo indometacina (figura 24).

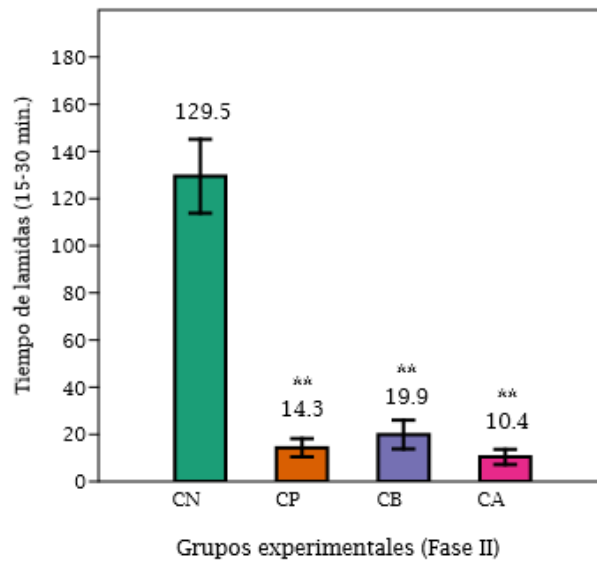


Figura 24: Prueba de formalina, fase II (indicativa del dolor inflamatorio). Comparación de los grupos controles (C.N: Control Negativo, C.P:Control Positivo (Indometacina)) y grupos tratados (C.B: Concentración Baja, C.A: Concentración Alta). Los datos se expresan como la Media \pm E.E (Error estándar de la media); análisis de varianza unidireccional (ANOVA), seguido de la prueba Tukey.

7. DISCUSIÓN

Los modelos animales son herramientas esenciales en la evaluación preclínica de la seguridad y eficacia de nuevos fármacos. La sintomatología de la intoxicación puede manifestarse mediante alteraciones locomotoras, posturas anormales, convulsiones, inanición e incluso muerte (Mejía y Parada 2009). En investigaciones toxicológicas, se evalúan condiciones críticas a través de signos como reflejos disminuidos, cambios conductuales, reducción en el consumo de agua y alimento, vocalizaciones anormales y alteraciones urinarias o intestinales. Además, indicadores visuales como posturas prolongadas, cambios en la textura del pelaje y pérdida de brillo ocular son fundamentales para identificar estados de dolor en roedores (Pérez 2017).

Tomando en cuenta lo anterior, las observaciones clínicas indicaron que la decocción de *Lygodium venustum*, en su máxima concentración, no provocó alteraciones significativas durante el período de observación de 14 días, ya que no se registraron síntomas de intoxicación, cambios de comportamiento o morfológicos. Presentando similitudes con la investigación realizada por Alam *et al.* (2021), en donde se evaluó la toxicidad aguda del extracto metanólico de *Lygodium microphyllum* a 3000 mg/kg por peso corporal. Mencionando que los ratones no estuvieron muertos ni mórbidos durante los 14 días de observación posteriores al tratamiento, no hubo cambios en sus características morfológicas, no se registró sintomatología de intoxicación y su marcha, comportamiento, regulación de reactividad o la estimulación sensorial fue totalmente normal. Asimismo, la investigación *Lygodium lanceolatum* demostró que ni el extracto metanólico ni la decocción poseen toxicidad (Razafin-drabazo *et al.* 2020).

Tanto el peso corporal como el consumo de alimento y agua son indicadores clave para identificar toxicidad en productos químicos, siendo considerado un efecto adverso si el peso corporal disminuye más del 10% respecto al inicial (Mancebo *et al.*, 2002; Flores 2022). En este estudio, los ratones tratados con la concentración alta de *Lygodium venustum* mostraron una tendencia al aumento de peso sin diferencias significativas ($p < 0.05$) frente al grupo control, junto con un mayor consumo de alimento y agua. De acuerdo con el contraste de hipótesis, obteniendo un valor $p = 0.872$, siendo mayor a 0.05 no se puede rechazar la hipótesis nula, concluyendo que la administración de la decocción de *Lygodium venustum* en su concentración más alta no produjo efectos adversos en el peso corporal de los ratones.

De igual manera, se ha demostrado que el extracto etanólico de *Lygodium microphyllum* no causa variaciones significativas en el peso corporal, respaldando la baja toxicidad del género. Es importante mencionar que la tendencia del incremento del peso puede ser atribuida a la presencia de flavonoides, los cuales estimulan el apetito (Kuncoro *et al.* 2024) y estos se encuentran presentes en la especie de

estudio. Los resultados sugieren que la concentración alta de *Lygodium venustum* evaluada no indujo alteraciones significativas en el peso corporal de los animales bajo las condiciones experimentales establecidas.

Los análisis del peso de órganos de los ratones tratados con la concentración alta de la decocción de *Lygodium venustum* no revelaron diferencias significativas con el grupo control, asimismo, las evaluaciones macroscópicas no indicaron cambios significativos en las características. Mostrando similitud con la investigación de Kuncoro *et al.* (2024) sobre el extracto etanólico de *Lygodium microphyllum* en donde no se observaron efectos significativos en el índice de órganos (corazón, riñón, estómago, pulmones, cerebro, intestinos e hígado) ni cambios significativos en las características hepáticas de los ratones tratados. Con lo mencionado anteriormente acerca de la toxicidad, se puede inferir que existe cierta fiabilidad en el uso de extractos o concentraciones de dicho género.

La prueba de ácido acético y la fase tardía de la prueba de formalina se relacionan principalmente con dolor inflamatorio periférico. El ácido acético induce dolor mediante la liberación de prostaglandinas (especialmente PGE₂) y otras sustancias proinflamatorias en la cavidad peritoneal, lo que estimula las terminaciones nerviosas periféricas; en la prueba de formalina, la fase 2 (15–30 min) también involucra procesos inflamatorios periféricos y sensibilización central, donde los mediadores inflamatorios juegan un papel clave (Duarte y Ferreira 1988). Dado que los AINEs inhiben la ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2) y reducen la síntesis de prostaglandinas, su uso es particularmente eficaz y específico para estas pruebas. Esto los convierte en fármacos de referencia adecuados en modelos de dolor de tipo inflamatorio.

Según Le Bars *et al.* (2001) los AINEs son más sensibles y apropiados para establecer una línea base de eficacia analgésica en estos modelos. El uso de AINEs permite detectar efectos analgésicos moderados, como los que se podrían esperar en extractos naturales o nuevos compuestos con potencial antiinflamatorio, sin el efecto potente y generalizado de los opioides, que podrían enmascarar diferencias sutiles en la respuesta.

El uso de opioides como morfina, aunque altamente eficaz, puede inducir efectos adversos centrales (sedación, dependencia, depresión respiratoria), incluso en animales de experimentación. Esto plantea preocupaciones éticas en estudios de tamizaje inicial, donde no se justifica un tratamiento tan potente si no es para fines comparativos específicos (Zimmermann 1983).

Los opioides actúan principalmente a nivel central, activando los receptores μ -opioides, tanto en médula espinal como en cerebro, siendo más útiles en dolor neuropático y nociceptivo severo (Yaksh y Wallace 2011). En contraste, los AINEs tienen un mecanismo periférico y son útiles para evaluar el dolor inflamatorio agudo, que es el que predomina en los modelos de ácido acético y formalina.

En la prueba del ácido acético, la decocción de *Lygodium venustum* mostró una inhibición significativa del dolor, destacándose la concentración alta, que alcanzó un 82.32% de inhibición, comparada con el 84.35% de la indometacina. Este resultado sugiere que la decocción posee una eficacia analgésica comparable al fármaco de referencia. Resultado similar se obtuvo en una investigación realizada por Razafin-drabazo *et al.* (2020), sobre extractos metanólicos y decocciones de *Lygodium lanceolatum*, reportando que tanto los extractos como las decocciones presentaron una acción analgésica dependiente de la dosis sobre la respuesta de retorcimiento. Todos los extractos en diferentes dosis disminuyeron significativamente el número de retorcimientos, siendo la dosis más alta con un mayor porcentaje de inhibición, similar al fármaco de referencia, así como también la dosis más alta de las decocciones.

Un estudio del extracto metanólico de hojas de *Lygodium microphyllum* Cav. (MELM), realizado por Alam *et al.* (2021), evaluó el efecto analgésico de las concentraciones de 200 y 400 mg/kg, utilizando la prueba de ácido acético. Obteniendo como resultado un efecto moderado en comparación con el fármaco estándar diclofenaco, demostrando que el extracto puede tener efectos inhibidores del dolor periférico. Sin embargo, aunque el efecto es moderado la concentración poco más efectiva fue la mayor, es decir 400 mg/kg.

Según Razafin-drabazo *et al.* (2020), se ha demostrado que los flavonoides contribuyen a la actividad antinociceptiva de otros extractos de plantas. Las actividades analgésicas y antiinflamatorias de dichos compuestos están relacionadas con la inhibición del factor nuclear kappa B, el cual se encarga de regular la expresión de genes, controlando los procesos celulares como la inflamación, asimismo, tienen un efecto inhibidor en la COX-2 y COX-1, demostrando analgesia (Ferraz *et al.* 2020). Por lo tanto, se puede inferir que la presencia de dichos metabolitos en ambas especies pueden aportar una actividad antinociceptiva.

Para la prueba de formalina la concentración más alta de la decocción de *Lygodium venustum* mostró resultados favorables en la inhibición de la segunda fase, con un porcentaje de 91.97%, superando al fármaco de referencia, demostrando su potencial analgésico. En el mismo estudio realizado por Alam *et al.* (2021), del extracto metanólico de hojas de *Lygodium microphyllum* Cav. (MELM), en la prueba de formalina, el extracto metanólico se administró en dosis de 200 y 400 mg/kg, mostrando una actividad antiinflamatoria moderada. El tiempo de lamido disminuyó de manera dependiente de la dosis en ambas fases y el extracto causó una inhibición significativa del lamido ($p < 0.05$) tanto en la fase temprana como en la tardía, sin embargo, el ibuprofeno mostró una inhibición mayor que las dosis aplicadas. Indicando que, aunque la efectividad del extracto es moderada, la dosis mayor de 400 mg/kg es la más eficaz, sin superar al ibuprofeno.

En la investigación de Mondal *et al.* (2016), evaluaron los efectos analgésicos mediante la prueba de formalina, usando dosis de 200 y 400 mg/kg del extracto etanólico de las partes aéreas de *Macrothelypteris torresiana*. Demostrando un efecto analgésico significativo, reduciendo el tiempo de lamidas en ambas fases (temprana y tardía), en comparación con el medicamento de referencia (aspirina). Estos resultados podrían deberse a los flavonoides presentes en el extracto etanólico de las partes aéreas de la planta, responsables del efecto analgésico al inhibir la síntesis, liberación o respuestas de los receptores mediados por la prostaglandina.

Por otro lado, *Adiantum cuneatum* es otra especie de helecho registrada en pruebas de analgesia, especialmente la prueba de formalina. Bresciani *et al.* (2003) trabajaron con cuatro compuestos de la fracción hexánica del extracto de hojas secas: filiceno, filicenal, adiantol e isoadiantona, evaluando los efectos analgésicos del filiceno y el filicenal. El primero de ellos, inhibió ambas fases del dolor, mientras que el filicenal solo la fase inflamatoria. Sin embargo, ambos compuestos mostraron una actividad similar a la de los fármacos estándar en la segunda fase de la prueba de formalina. Los resultados indicaron que *Adiantum cuneatum* produce compuestos activos, especialmente triterpenos, que actúan como analgésicos en modelos de dolor en ratones, lo cual confirma y justifica su uso en la medicina popular de Brasil para tratar el dolor. Asimismo, se ha demostrado que *Lygodium venustum* también presenta triterpenos entre sus metabolitos (Morais-Braga *et al.* 2012) posibilitando la obtención de resultados positivos de este estudio.

El metabolismo celular engloba las reacciones químicas necesarias para la vida. Las plantas, como organismos autótrofos, poseen, además del metabolismo primario, un metabolismo secundario que les permite sintetizar compuestos orgánicos de estructura compleja y funciones especializadas. Estos metabolitos secundarios, exclusivos de cada grupo taxonómico, presentan una amplia gama de actividades biológicas y son la base de numerosos productos naturales de interés industrial y farmacéutico (Ávalos y Perez-Urria 2009). Algunos de los grupos de metabolitos secundarios más conocidos son: flavonoides, taninos, terpenos, lignanos, saponinas, alcaloides, polifenoles o cumarinas, entre otros (Lustre 2022).

Villanueva *et al.* (2013), realizaron un estudio fitoquímico de 45 extractos etanólicos de 39 especies vegetales utilizadas en la medicina tradicional de la costa atlántica colombiana, con el fin de caracterizar los metabolitos secundarios presentes. Una de las especies estudiadas fue *Lygodium venustum*. Cuyo extracto etanólico del tallo presentó alcaloides, taninos, glicósidos cardiotónicos, triterpenos/esteroides y quinonas. Mientras que en el extracto etanólico de las esporas, se obtuvo metabolitos similares al tallo, con excepción de taninos; además, se detectaron cumarinas, flavonoides y saponinas

Por tanto, Pérez-Alonso y Jiménez (2011), afirma que los terpenos, compuestos fenólicos y nitrogenados tienen aplicaciones farmacéuticas considerables, tales

como efectos analgésicos, antibacteriano, antihepatotóxicos, antioxidantes, y antitumorales. Los alcaloides en dosis bajas funcionan como relajantes musculares, tranquilizantes y analgésicos (Hernández-Alvarado *et al.* 2018). Asimismo, los triterpenos también actúan como analgésicos (Bresciani *et al.* 2003).

A partir de la información disponible, se puede inferir que ciertos metabolitos presentes en *Lygodium venustum* podrían ser los responsables de los resultados positivos observados en este estudio, demostrando signos alentadores de efectividad contra el dolor. No obstante, se requieren investigaciones más exhaustivas para confirmar sus propiedades analgésicas.

8. CONCLUSIONES

La prueba de toxicidad aguda de la decocción de las hojas de *Lygodium venustum* en su concentración más alta, 4 gramos, no generó efectos significativos en el peso corporal, peso de órganos ni alteraciones en la superficie, color o consistencia de los órganos, indicando la posibilidad de la baja toxicidad del helecho.

En el estudio analgésico, la prueba de ácido acético demostró que la concentración alta obtuvo un porcentaje de inhibición al dolor favorable pero sin superar al fármaco de referencia, indometacina. Mientras que en la prueba de formalina, durante la primera fase, dicho fármaco no mostró la eficacia esperada, siendo su porcentaje de inhibición de 1.68%. Se debe de recordar que según Henriques *et al.* 2014, la indometacina al ser un fármaco de acción periférica tiene un mejor éxito inhibiendo la segunda fase de la prueba.

En la fase II, se observó que la acción de la concentración alta resultó ser un poco más favorable que el fármaco indometacina. Asimismo, la concentración baja obtuvo un porcentaje de inhibición mayor al 80%, sin superar la acción del fármaco. Por ende, a pesar de que la decocción de las hojas de *Lygodium venustum*, en sus dos concentraciones, expresen resultados favorables no se puede asegurar en su totalidad que posean un efecto analgésico y sea un sustituto de fármacos de la misma índole.

9. RECOMENDACIONES

Realizar estudios adicionales de toxicidad sobre *Lygodium venustum*, empleando específicamente el método de dosis continua, con el objetivo de determinar si esta planta presenta efectos adversos en tiempos más prolongados. Estos estudios deberían ofrecer información detallada sobre los efectos que podría tener la planta o confirmar que no es tóxica. Además, es crucial complementarlos con análisis de bioquímica sanguínea, hematología e histopatología para obtener una evaluación integral de los efectos fisiológicos y patológicos inducidos por la planta.

Evaluar extractos acuosos y etanólicos de *Lygodium venustum* en futuras investigaciones con el objetivo de confirmar sus propiedades farmacológicas. Al llevar a cabo estudios con dichos extractos, se logra una evaluación más precisa del contenido vegetal.

Implementar diversos modelos de dolor agudo en ratones de laboratorio, tales como el test de plato caliente, el retiro de cola y la inmersión de la cola en agua caliente, entre otros. Estos modelos permitirán validar de manera más efectiva la actividad analgésica inducida por los extractos de *Lygodium venustum*.

Llevar a cabo más investigaciones científicas sobre las propiedades farmacológicas que pueden tener las pteridofitas en El Salvador, debido a la amplia diversidad de especies que pueden contener metabolitos que podrían ofrecer soluciones innovadoras para el tratamiento de diversas enfermedades y/o dolencias.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[Sin autor]. Naturoplex - Lo mejor para las infecciones urinarias | Naturoplex [Internet]. 2015 [citado Abril 2023]. Disponible en: <https://novi.naturoplex.com/es/tabletas-naturoplex-contrainfecciones-urinarias/>

Alcauter L, Bedolla B. Familia Lygodiaceae. Flora Del Bajío Y De Regiones Adyacentes [Internet]. Instituto de Ecología A.C. Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro Michoacán, México. 2021 [citado en Julio 2023]. Disponible en: <https://libros.inecol.mx/index.php/FB/catalog/view/2021.225/648/3151>

Alam M, Emon N, Alam S, Rudra S, Akhter N, Mamun M, Ganguly A. Assessment of pharmacological activities of *Lygodium microphyllum* Cav. leaves in the management of pain, inflammation, pyrexia, diarrhea, and helminths: In vivo, in vitro and in silico approaches. Biomed Pharmacother [Internet]. 2021 [citado en Abril 2023]; 139:111644. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111644>

Avalos A, Perez-Urria E. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal [Internet]. 2009 [citado en Octubre 2024]; 2 (3): 119-145. Disponible en: <https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/26b94db5-92de-4aaf-8822-8f063c180904/content>.

Ashwani K, Nirmal P, Mukul K, Anina J, Vidisha T, Emel O, Charalampos P, Maomao Z, Tarha E, Sneha K, *et al.* Principales fitoquímicos: Avances recientes en beneficio para la salud y métodos de extracción. Moléculas [Internet]. 2023 [citado Junio 2025]; 28 (2): 887. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/2/887>

Baskaran X, Geo A, Zhang S, Feng S, Liao W. A review of the use of pteridophytes for treating human ailments. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology) [Internet]. 2018 [citado en Marzo 2023]; 19(2):85-119. Disponible en: <https://sci-hub.se/10.1631/jzus.B1600344>

Berdonces J. Principios activos y preparaciones farmacéuticas de las plantas medicinales. Natura Medicatrix: Revista médica para el estudio y difusión de las medicinas alternativas [Internet]. 1995 [citado en Octubre 2024]. N° 37-38 Disponible en : <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4989379.pdf>

Bolivar G. Lifereder [Internet]. Quinonas: qué son, propiedades, clasificación, obtención, reacciones, usos. 2022 [citado en Octubre 2024]. Disponible en: <https://www.lifereder.com/quinonas/>

Bresciani L, Priebe J, Yunes R, Dal Magro J, Delle Monache F, De Campos F, De Souza M, Cechinel-Filho V. Pharmacological and Phytochemical Evaluation of *Adiantum cuneatum* Growing in Brazil. Zeitschrift für Naturforschung C. [Internet]. 2003 [citado en Julio 2023]; 58(3-4):191-194. Disponible en: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/znc-2003-3-409/html>.

Cabezudo B, Trigo M. Pteridofitos (Helechos y Plantas Afines) [Internet]. Primera Edición. Sevilla, España: Rodríguez F. 2004.[citado en Marzo 2023]. Disponible en: https://www.biolveg.uma.es/atlas_fotografico/Flora/Pteridofitos/Pteridofitos.pdf

Campos A, Francisco J. Uso De Plantas Medicinales Como Analgésico Antiinflamatorio En La Parroquia Salasaca-Ecuador. Revista Venezolana De Enfermería Y Ciencias De La Salud [Pdf]. 2018; 11(2): 83-90.

Campos W. Evaluación in vivo de la actividad analgésica de 3 extractos de la corteza *Persea schiedeana* (Lauraceae) [Tesis licenciatura] [Internet]. San Salvador: Universidad de El Salvador. 2023 [citado en Noviembre 2024] Disponible en: <https://repositorio.ues.edu.sv/server/api/core/bitstreams/a837fea9-da82-4c6e-949e-c1113a07355b/content>

Casanova C, Casanova L, Cruz P, Delgado C. Plantas medicinales usadas por los Tének en la Huasteca, México. CienciaUAT [Internet]. 2022 [citado en Agosto 2023]; 16(2): 40-58 Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/pdf/cuat/v16n2/2007-7858-cuat-16-02-40.pdf>

Córdova D, Soto C, Valle F. Efecto De La Decocción De La Flor Macho Del Ayote (*Cucurbita Moschata*) En El Perfil Lipídico En Modelos De Ratones Con Dislipidemia. Universidad De El Salvador, Agosto A Noviembre De 2017 [Seminario Licenciatura] [Internet]. San Salvador: Universidad de El Salvador. 2018 [citado en Abril 2023]. Disponible en: <https://repositorio.ues.edu.sv/items/9eb72e4a-d3c5-4107-ac71-0172e3e069d8/full>

Delgado A, Plaza L. Helechos Amenazados de Andalucía [Internet]. Consejería del Medio Ambiente. Junta de Andalucía; 2006 [citado en Marzo 2023]. Disponible de: https://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/web/Bloques_Tematicos/Publicaciones_Divulgacion_Y_Noticias/Documentos_Tecnicos/helechos_amenazados/libro_helechos.pdf

Duce S, Rollán B, López E, Camarasa J. Terapéutica en Atención Primaria. Uso de los opioides en pacientes con dolor oncológico. Elsevier [Internet]. 2007 [citado en Junio 2023]; 33(10): 520-528. Disponible en: [https://sci-hub.se/10.1016/S1138-3593\(07\)73956-4](https://sci-hub.se/10.1016/S1138-3593(07)73956-4)

Duarte ID, Ferreira SH. Participación del sistema simpático en el retorcimiento inducido por ácido acético en ratones. Braz J Med Biol Res [Internet]. 1988 [citado en Mayo 2024]; 21(2):341–343. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3203167/>

Esteva E. Analgésicos. Clasificación y Usos. Studocu [Internet]. 2008. [citado en Marzo 2023]; 27 (8): 68-76. Disponible en: <https://www.studocu.com/latam/document/universidad-autonoma-de-santo-domingo/toria-farmacoterapeutica/analgesicos-clasificacion-y-uso-offarm/53024047>

Ferraz C, Carvalho T, Manchope M, Artero N, Raquel-Oliveira F, Fattori V, Casagrande R, Verri W. Potencial terapéutico de los flavonoides en el dolor y la inflamación: Mecanismos de acción, datos preclínicos y clínicos, y desarrollo farmacéutico. Moléculas [Internet]. 2020 [citado en Junio 2025]; 25(3): 762. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/3/762>

Flores R. “Actividad analgésica y toxicidad subaguda del extracto acuoso de *Persea caerulea* (Lauraceae)” [Tesis Licenciatura][Internet]. San Salvador: Universidad de El

Salvador. 2022 [citado en Julio 2023]. Disponible en: <https://repositorio.ues.edu.sv/server/api/core/bitstreams/f1a60778-09e7-4db2-a443-2f06f5d2c781/content>.

Gallegos M. Las plantas medicinales: usos y efectos en el estado de salud de la población rural de Babahoyo – Ecuador – 2015 [Tesis para optar el Grado Académico de Doctor en Ciencias de la Salud] [Internet]. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017 [citado en Junio 2023]. Disponible en: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880037/las-plantas-medicinales-usos-y-efectos-en-el-estado-de-salud-de_iHP5e7s.pdf.

Guerra R. Efecto analgésico de un extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora* (Cactaceae) en ratones de laboratorio [Tesis licenciatura] [Internet]. San Salvador: Universidad de El Salvador; 2017 [citado en marzo 2023]. Disponible en: <https://repositorio.ues.edu.sv/server/api/core/bitstreams/fbe910a9-e110-460e-b0c7-b1c9e4357f68/content>

Hernández-Alvarado J, Zaragoza-Bastida A, López-Rodríguez G, Peláez-Acero A, Olmedo-Juárez A, Rivero-Perez N. Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Abanico veterinario* [Internet]. 2018 [citado en Julio 2023]; 8(1):14–27. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2448-61322018000100014&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

Henriques E, Apolinário L, Hitomi C, Santana M, Pinto F, Pereira M, de Oliveira M, da Penha M, Silva M, Santos A *et al.* Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Sesame Oil and Sesamin. *Nutrients* [Internet]. 2014 [citado en Octubre 2024]; 6, 1931-1944. Disponible en: <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.3390/nu6051931>

Hunskar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain, Elsevier* [Internet]. 1987 [citado en Marzo 2023]; 30(1):103–114. Disponible en: doi: [https://sci-hub.se/10.1016/0304-3959\(87\)90088-1](https://sci-hub.se/10.1016/0304-3959(87)90088-1)

Kuncoro H, Saputri A, Tappi A, Anggreini P.. Toxicity Assessment of Ethanol Extract of *Lygodium microphyllum*. *Tropical Journal of Natural Product Research* [Internet]. 2024 [citado en Junio 2023]; 8(7): 7759–7764. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Hadi-Kuncoro/publication/384823364_Tropical_Journal_of_Natural_Product_Research_Original_Research_Article_Toxicity_Assessment_of_Ethanol_Extract_of_Lygodium_microphyllum/links/6708d146dc91726ad38972a0/Tropical-Journal-of-Natural-Product-Research-Original-Research-Article-Toxicity-Assessment-of-Ethanol-Extract-of-Lygodium-microphyllum.pdf.

Le Bars D, Gozariu M, Cadden S. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev* [Internet]. 2001 [citado en Mayo 2023]; 53(4):597–652. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11734620/>

Limón D, Díaz A, Mendieta L, Luna F, Zenteno E, Guevara J. LOS FLAVONOIDES: MECANISMO DE ACCIÓN, NEUROPROTECCIÓN Y EFECTOS FARMACOLÓGICOS. *Mensaje Bioquímico* [Internet]. 2010 [citado en Junio 2025];

34: 143-154. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Liliana-Mendieta/publication/259344548_LOS_FLAVONOIDEOS_MECANISMO_DE_ACCION_NEUROPROTECCION_Y_EFECTOS_FARMACOLOGICOS/links/0c96052b1e26d58038000000/LOS-FLAVONOIDEOS-MECANISMO-DE-ACCION-NEUROPROTECCION-Y-EFECTOS-FARMACOLOGICOS.pdf

Lustre H. Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. RDU UNAM [Internet]. 2022 [citado en Octubre 2024]; 23 (2) Disponible en: https://www.revista.unam.mx/2022v23n2/los_superpoderes_de_las_plantas_los_metabolitos_secundarios_en_su_adaptacion_y_defensa/.

Mancebo A, Scull I, Gonzalez Y, Arteaga M, González B, Fuentes D, Hernández O Correa M. Ensayo de toxicidad a dosis repetidas (28 días) por vía oral del extracto acuoso de morinda citrifolia en ratas Sprague Dawley. Revista de Toxicología [Internet]. 2002 [citado en Agosto 2023]; 19(2):73-78. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91919204>

Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr Hosp [Internet]. 2002 [citado en Octubre 2024]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/10961859_Flavonoids_Properties_and_antioxidizing_action

McDonald J, Biing-Jaw C, Wing-Fai W. Analgesia y anestesia en obstetricia. Acces Medicina [Internet]. 2023 [citado en Marzo 2023]. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1494§ionid=98126957>

MedlinePlus [Internet]. Bethesda, Maryland: The American Society of Health-System Pharmacists. 2021 [citado en Diciembre 2024]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/meds/a681027-es.html#:~:text=La%20indometacina%20pertenece%20a%20una,causa%20dolor%2C%20fiebre%20e%20inflamaci%C3%B3n>

Mejía J, Parada E. Estudio Toxicológico Subcrónico En Ratones (Inh) Por Administración Oral De Infusión De Epazote (*Chenopodium ambrosioides*) [Tesis licenciatura] [Internet]. San Salvador: Universidad de El Salvador; 2009 [citado en Marzo 2023]. Disponible en: <https://repositorio.ues.edu.sv/server/api/core/bitstreams/036170f8-b66d-4a6f-92c0-f0d571fa7e7e/content>

Micó J, Ortega-Álvaro A. Modelos animales de dolor. Reumatología Clínica [Internet]. 2006 [citado en Mayo 2023]; 2:S2-S4. Disponible en: <https://www.reumatologiaclinica.org/es-pdf-S1699258X06730741>

Mondal S, Ghosh D, Ganapaty S, Manna O, Reddy M, Revanth V. Evaluation of Analgesic, Antipyretic and Anti-Inflammatory Effects of Ethanol Extract from a Fern Species *Macrothelypteris Torresiana* (Gaudich) Aerial Parts. Pharmacognosy Communications [Internet]. 2016 [citado en Octubre 2024]; 6 (2): 57-63. Disponible

en:

https://www.researchgate.net/profile/Dr-Sumanta-Mondal/publication/304065669_Evaluation_of_Analgesic_Antipyretic_and_Anti-Inflammatory_Effects_of_Ethanol_Extract_from_a_Fern_Species_Macrothelypteris_Torresiana_Gaudich_Aerial_Parts/links/5780ab8408ae69ab8824a612/Evaluation-of-Analgesic-Antipyretic-and-Anti-Inflammatory-Effects-of-Ethanol-Extract-from-a-Fern-Species-Macrothelypteris-Torresiana-Gaudich-Aerial-Parts.pdf?_sg%5B0%5D=wXT_YKHSou7WWX2ZDDKID9siw7UMfcyegA8tdpQ3xBsH8v8rn7NvsXivwJuxEUXHXwW5JGJMnKOviOkIzrsPw.ynVRJv4RqNGJRmxgomCq9sFdjUvcxipgFAEYP1DICwkqhZPljpwPvmOJLts2JfzLVvVawxDqW-bG92t3Gb3KBw&_sg%5B1%5D=7yeoXzpDUrfYatu8pTd-4H5Po3q_wTepGIG69Y8rp1I0sTBvgZE5RqvysYylaiOUz5f-Lbr_rbgQI4MQsei8grqAxG_lx0dVKh5n-UuDU_1k.ynVRJv4RqNGJRmxgomCq9sFdjUvcxipgFAEYP1DICwkqhZPljpwPvmOJLts2JfzLVvVawxDqW-bG92t3Gb3KBw&origin=publicationDetail

Moreno L, Muedra V. Farmacología básica del dolor (analgésicos). Máster en Abordaje Integral del Dolor [Internet]. [Fecha desconocida] [citado en Marzo 2023]. Disponible en: https://aula.campuspanamericana.com/Cursos/Curso01417/Temario/Master_Abordaje_Dolor/M1T5Texto.pdf

Monterrosa J. 2009 Guía de Identificación de Helechos de El Salvador. Ilustrada. Jardín Botánico La Laguna.

Morais-Braga M, Souza T, Santos K, Andrade J, Guedes G, Tintino S, Sobral-Souza C, Costa J Menezes I, Saraiva A, *et al.* Antimicrobial and Modulatory Activity of Ethanol Extract of the Leaves from *Lygodium venustum* SW. American Fern Journal [Internet]. 2012 [citado en Julio 2023]; 102(2):154–160. Disponible en: <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1640/0002-8444-102.2.154>

Morais-Braga M, Souza T, Santos K, Guedes G, Andrade J, Vega C, Rolón M, Costa J, Saravia A, Coutinho H. Composición fenólica, actividad citotóxica y anticinetoplástica de *Lygodium venustum* SW. (Lygodiaceae). Parasitología Experimental [Internet]. 2013 [citado en Junio 2025]; 134(2): 178-182. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014489413000842?via%3Dihub>

National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. 2019. *Codeine*. In: *LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury* [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; [updated 2019 Apr 25; citado en mayo 2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548359/>

Muñíz M, Mendoza A, Pérez- García B. Uso de Helechos y Plantas Afines. Etnobiología [Internet]. 2007 [2007; citado en Marzo 2023]; 5 (1): 117-125. Disponible en: <https://revistaetnobiologia.mx/index.php/etno/article/view/240#:~:text=Tradicionalmente%20los%20helechos%20se%20han.en%20horticultura%20y%20como%20fertilizantes.antes>.

OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development. OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS. Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure [Internet]. 2001 [citado en Julio 2023]. Disponible en:

<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264070943-en.pdf?expires=1689807723&id=id&accname=guest&checksum=5CB17F462DE773FD0A7A9B1FA08BB30F>

Pérez-Alonso N, Jiménez E. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo *in vitro*. Biotecnología vegetal [Internet]. 2011 [citado en Octubre 2024]; 11(4).

Pérez S. Toxicidad Por Administración Continua (90 Días) Del Extracto Clorofórmico De *Calea Urticifolia* (Juanislama) En Ratones De Laboratorio [Tesis de licenciatura] [Internet]. San Salvador: Universidad de El Salvador; 2017 [citado en Marzo 2023]. Disponible en: <https://repositorio.ues.edu.sv/items/5fad3ba3-5ec9-4175-8660-e2f2a45b37d4>

PubChem. Morphine [Internet]. [Fecha desconocida] [citado en Mayo 2023]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5288826>.

PubChem. Naftalina [Internet]. [Fecha desconocida] [citado en Mayo 2023]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/931>

PubChem. Quercetina [Internet]. [Fecha desconocida] [citado en Mayo 2023]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280343>

Puebla F. Tipos de dolor y escala terapéutica de la O.M.S. Dolor iatrogénico. Oncología. Scielo [Internet]. 2005 [citado Mayo 2023]; 28(3). Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-48352005000300006#:~:text=El%20dolor%20es%20la%20causa,lesi%C3%B3n%20tisular%20real%20%20potencial%22.

Ramírez S, Sánchez-González A. Las Pteridofitas en el Estado de Hidalgo. Revista de la Divulgación de la Ciencia [Internet]. 2007 [citado en Marzo 2023]; 3 (1). Disponible en: https://www.uaeh.edu.mx/campus/icbi/investigacion/biologia/archivo_herreriana/Herreriana04.pdf

Razafin-drabazo F, Donno D, Tombozara N, Razafindrakoto ZR, Rajaonarison JF, Andrianjara C, Ramanitrahasimbola D, Beccaro GL. Fitocompuestos y actividades farmacológicas de *Lygodium lanceolatum* Desv. (*Schizaeaceae*). South African Journal of Botany [Internet]. 2020 [citado en Septiembre 2024]; 135:225–232. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629920310668>.

Rivera R. Sedación y Analgesia: Una Revisión. SciELO [Internet]. 2002 [citado en marzo 2023]; 16(1). Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-0090200200010001#*R

Roldán E. Introducción a la Toxicología [Internet]. UNAM, FES Zaragoza; 2016 [citado en Marzo 2023]. Disponible en: <https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/publicaciones/libros/cbiologicas/libros/Toxico-ago18.pdf>.

Salabert E. ¿Por qué se utilizan ratones en laboratorio?. Webconsultas [Internet].

2016 [actualizado 28 de Junio 2022; citado Junio 2023]. Disponible en: <https://www.webconsultas.com/curiosidades/por-que-se-utilizan-ratones-en-el-laboratorio>

Santoro M. Cuidados con las ratas, ratones y conejos durante la experimentación animal [Internet]. 2013 [citado en Julio 2023].

ScienceDirect Topics. 2025. Gallic acid. In: *Agricultural and Biological Sciences*. Amsterdam (NL): Elsevier. [cited 2025 Sep 18]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/gallic-acid>

Silbergeld E. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo: Toxicología [Internet]. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo INSHT. Ministerio de Empleo y Seguridad Soc. 1998 [citado en Marzo 2023]. Disponible en: <https://www.insst.es/documents/94886/161958/Cap%C3%ADtulo+33.+Toxicolog%C3%ADa>

Naciones Unidas. Toxicidad aguda [Internet]. 2016 [citado en Junio 2023 15]. Disponible en: <https://www.un-ilibrary.org/content/books/9789210573221s004-c001>

Valdivielso A. Dolor agudo, analgesia y sedación en el niño (II): Farmacocinética y farmacodinamia de los analgésicos no opioides. Educación Continuada [Internet]. 1998 [citado en Marzo 2023]; 48 (2):183-194. Disponible en: <https://www.aeped.es/sites/default/files/anales/48-2-19.pdf>

Ullah A, Munir S, Badshah S, Khan N, Ghani L, Poulson B, Emwas A, Jaremko M. Flavonoides importantes y su papel como terapéutico. Moléculas [Internet]. 2020 [citado en 2025]; 25(22): 5243. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7697716/#sec1-molecules-25-05243>

Valiente ML, Salinas F, Verdejo MA. Los fármacos opioides en atención primaria. Med Integral [Internet]. 2001 [citado en May 2023 19]; 38(3):116–126. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-los-farmacos-opioide-s-atencion-primaria-13016400>.

Venegas E. “Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de *Thea sinensis* L. y su capacidad antioxidante” [Tesis de Doctorado] [Internet]. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2012. [citado en Junio 2025]. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/server/api/core/bitstreams/866f3e6a-0e0e-4750-950d-8983fd20049a/content>

Villanueva C, Diaz-Castillo F, Gómez-Estrada H. Tamizaje fitoquímico preliminar de especies de plantas promisorias de la costa atlántica colombiana. Revista Cubana de Plantas Medicinales [Internet]. 2013 [citado en Septiembre 2024]; 18(4):619–631. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubplamed/cpm-2013/cpm134m.pdf>

Yaksh TL, Wallace MS. Opioids, analgesia, and pain management. In: Brunton LL,

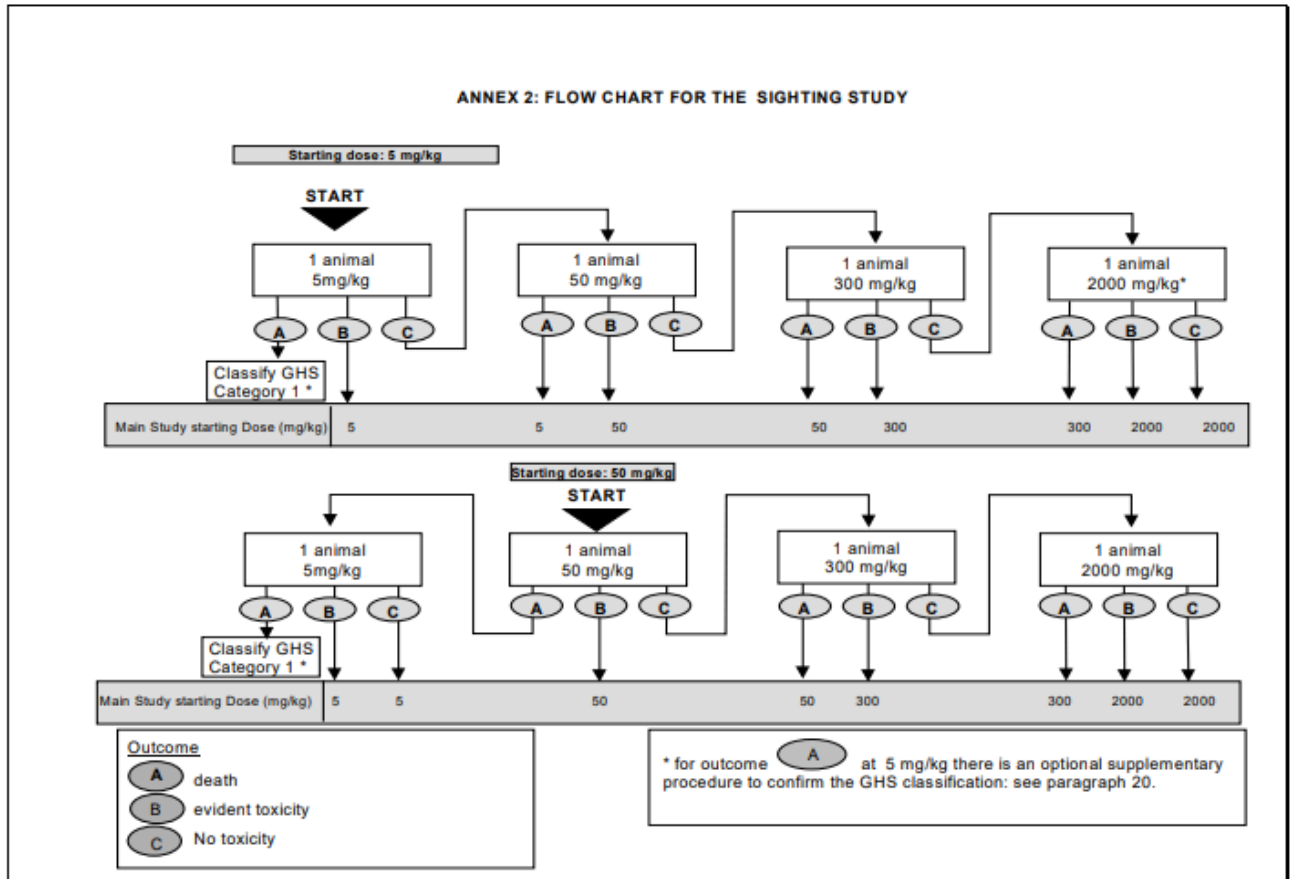
Chabner BA, Knollmann BC, editors. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 2011. 12th ed. New York: McGraw-Hill. p. 481–526.

Zegarra J. Bases fisiopatológicas del dolor. Dialnet [Internet]. 2007 [citado en Mayo 31 2023]; 24(2). Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7760439>

Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. Elsevier [Internet]. 1983 [citado en Marzo 2023]; *Pain*. 16(2):109–110. Disponible en: [https://sci-hub.se/10.1016/0304-3959\(83\)90201-4](https://sci-hub.se/10.1016/0304-3959(83)90201-4)

11- ANEXOS:

Anexo 1. Diagrama de flujo del estudio de observación.



Fuente: OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS
Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure.

Anexo 2.

**LABORATORIO DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**Tabla de registro para consumo de
alimento y agua.**

Consumo porcentual de alimento y agua							
Grupo		Inicial (g)	Semana 1	%	Final	%	Ct (%)
Control (Agua destilada)	Comida						
	Agua	Inicial (mL)					
Tratamiento (<i>Lygodium venustum</i>) 1 mL/100 g	Comida	Inicial (g)	Semana 1	%	Final	%	Ct (%)
	Agua						
		Inicial (mL)					

Anexo 3.

**LABORATORIO DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.**

Hoja de registro de peso corporal semanal

Protocolo: _____ Concentración o dosis: _____ Vía o administración: _____

Especie: _____ Cepa: _____ Sexo: _____ Fecha de inicio: _____ Fecha final: _____

Grupo	Animal	Peso inicial	Semana 1	Semana 2 (quitar)	Peso final	Peso porcentual
Grupo control	1					
	2					
	3					
	4					
Promedio						
Grupo tratamiento	1					
	2					
	3					
	4					
Promedio						

Responsables de la prueba: Daniela Argueta y Bryan Chávez.

Anexo 4.

LABORATORIO DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

ENSAYOS DE TOXICIDAD
HOJA DE OBSERVACIONES CLÍNICAS DE 14 DÍAS

Protocolo: _____ Sustancia de ensayo: _____ Concentración o dosis: _____
Fecha de inicio: _____ Fecha final: _____ Semana n°: _____ Vía de administración: _____
Sexo: _____ Especie: _____ Cepa: _____ Edad inicial: _____ Grupo: Control | Tratamiento

Parámetros de toxicidad	Animal 1							Animal 2							Animal 3							Animal 4						
	D 1	D 2	D 3	D 4	D 5	D 6	D 7	D 1	D 2	D 3	D 4	D 5	D 6	D 7	D 1	D 2	D 3	D 4	D 5	D 6	D 7	D 1	D 2	D 3	D 4	D 5	D 6	D 7
Ataxia																												
Deshidratación																												
Diarrea																												
Parálisis																												
Pilo-erección																												
Respiración ■																												
Salivación																												
Sialorrea																												
Tremores y convulsiones																												
Vasodilatación periférica																												
Actividad motora ○																												
Apariencia de piel *																												
Ojos y membranas Mucosas ○																												
Reacción a estímulos *																												

Clave:

a: AUSENCIA

p: PRESENCIA

■ 0 Normal 1 Acelerada 2 Disminuida

○ 0 Normal 1 Acelerada 2 Exagerada

◆ 0 Normal 1 Enrojecimiento 2 Sequedad 3 Excesiva humedad

Observaciones:

Responsables de la prueba: Daniela Argueta y Bryan Chávez.

Anexo 5.

**LABORATORIO DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

HOJA DE OBSERVACIONES POST MORTEM

Protocolo: _____ Sustancia de ensayo _____

Vía administración: _____ Especie: _____ Cepa: _____ Sexo _____

Grupo: Control Tratamiento

Identificación Animal

No. de jaula _____ No. de Animal (es) _____ Sexo: _____ Especie: _____ Cepa: _____

Promedio de peso: _____ Edad: _____

Muerte: Programada () No programada () Método eutanásico: _____ Fecha de necropsia: _____

Examen interno.

ÓRGANO	Animal	SUPERFICIE				CONSISTENCIA				COLOR				TAMAÑO (cm)				PESO (g)			
		A1	A2	A3	A4	A1	A2	A3	A4	A1	A2	A3	A4	A1	A2	A3	A4	A1	A2	A3	A4
HÍGADO																					
CORAZÓN																					
PULMONES																					
BAZO																					
RIÑÓN																					
ESTÓMAGO																					
INTESTINO DELGADO																					
INTESTINO GRUESO																					

Clave.

Superficie: L. Lisa A. Áspera G. Granula Ar. Arrugada
Consistencia: F. Firme Q. Quebradizo E. Esponjoso
Color: H. Homogéneo M. Manchado

Examen externo (en caso de muerte no programada)

Condición corporal: Buena Regular Mala

Observaciones:

Lesiones: Si No

Descripción

Responsables de la prueba: Daniela Argueta y Bryan Chávez.

Anexo 6.

Laboratorio de experimentación animal

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD
Universidad de El Salvador

Tabla para el método de estiramiento por inducción de AC . Acético
Hoja de observaciones

DESCRIPCIÓN GENERAL

Sustancia tratamiento: _____ Vía de administración: _____ Concentración o dosis: _____

Especie: _____ Sexo: _____ Cepa: _____

Sustancia inductora del dolor: _____ Vía de administración: _____ Concentración o dosis: _____

N° de ratón	Peso (g)	Administración del tratamiento (hora)	Inducción a dolor (hora)	Número de contracciones

Responsables de la prueba: Daniela Argueta y Bryan Chávez.

Anexo 7.

Laboratorio de experimentación animal

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD

Universidad de El Salvador

**Tabla para el método de formalina
Hoja de observaciones**

DESCRIPCIÓN GENERAL

Sustancia tratamiento: _____ Vía de administración: _____ Concentración o dosis: _____

Especie: _____ Sexo: _____ Cepa: _____

Sustancia inductora del dolor: _____ Vía de administración: _____ Concentración o dosis: _____

N° de ratón	Peso (g)	Administración de tratamiento (Hora)	Inducción a dolor (Hora)	FASE 1		FASE 2	
				Tiempo de lamidas (total)	N° de veces de lamidas	Tiempo de lamidas (total)	N° de veces de lamidas (total)

Responsables de la prueba: Daniela Argueta y Bryan Chávez.