

***“Revisión bibliográfica de la actividad analgésica y
antiinflamatoria de plantas endémicas Canarias”***

GRADO EN FARMACIA

TRABAJO DE FIN DE GRADO

CURSO 2020-2021

Alumna: Cynthia Hernández Baute

Tutora: Sandra Dévora Gutiérrez

Co-tutora: Chaxiraxi de la Cruz Morales Marrero

ÍNDICE

ABSTRACT	3
RESUMEN	4
1. INTRODUCCIÓN	5
2. OBJETIVOS	7
3. MATERIALES Y MÉTODOS	8
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
4.1. Endemismos vegetales	10
4.2. Ensayos farmacológicos “in vivo”	14
4.2.1. Estudio de la actividad analgésica	15
4.2.2. Estudio de la actividad antiinflamatoria	20
5. CONCLUSIONES	24
6. BIBLIOGRAFÍA	25

ABSTRACT

Background: Pain is an unpleasant sensory and emotional experience and one of the most frequent reasons for consultation in primary care. The Canary Islands have a vast endemic flora, in which medicinal plants occupy a valuable and prominent place. Some of these endemisms have been used in folk medicine for their analgesic and anti-inflammatory activity.

Objective: To carry out an analysis of the studies carried out on the different endemic plant species used with analgesic and anti-inflammatory effects, in order to determine their number, describe the species and know their useful parts.

Materials and methods: Articles in which the analgesic and anti-inflammatory activity of Canary endemisms were studied, have been selected through a search on different electronic databases and virtual scientific journals (ScienceDirect, Punto Q, Web of Science, Scopus, SciELO, ResearchGate, Wiley Online Library, RIULL and Google Academic) excluding those articles in which Canary endemisms were not studied and did not have the phytotherapeutic activities listed.

Results and discussion: Eighteen articles were selected, where thirteen endemic Canary species were located that have been tested in order to demonstrate their analgesic and anti-inflammatory activity, watching that all of them have these activities and that in some of the endemisms tested, the analgesic percentages of the reference drugs were exceeded.

Conclusions: There are few scientific publications that focus on the study of the analgesic and anti-inflammatory activities of the endemic plant species of the Canary Islands. However, the studies that have been carried out confirm the popular therapeutic use that has been made of these species over the time.

RESUMEN

Introducción: El dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable y uno de los motivos más frecuentes de consulta en atención primaria. Las Islas Canarias cuentan con una vasta flora endémica, en la cual, las plantas medicinales ocupan un lugar valioso y destacado. Algunos de estos endemismos han sido utilizados en medicina popular por su actividad analgésica y antiinflamatoria.

Objetivos: Realizar un análisis de los estudios realizados sobre las diferentes especies vegetales endémicas utilizadas con efecto analgésico y antiinflamatorio, para así determinar su número, describir la especie y conocer sus partes útiles.

Materiales y métodos: Revisión bibliográfica de artículos relacionados con la actividad analgésica y antiinflamatoria de endemismos canarios. La búsqueda se realizó en las diferentes bases electrónicas y revistas científicas virtuales (ScienceDirect, Punto Q, Web of Science, Scopus, SciELO, ResearchGate, Wiley Online Library, RIULL y Google Académico), excluyéndose aquellos artículos en los que no se estudiara endemismos con dichas actividades.

Resultados y discusión: Se seleccionaron 18 artículos, donde se localizaron trece especies endémicas Canarias ensayadas con el fin de demostrar su actividad analgésica y antiinflamatoria, observándose que todas ellas poseen dichas actividades y que, en alguno de los endemismos ensayados, se superaron los porcentajes analgésicos de los medicamentos de referencia.

Conclusiones: Existen escasas publicaciones científicas que se centren en el estudio de las actividades analgésicas y antiinflamatorias de las especies vegetales endémicas de Canarias. No obstante, los estudios que se han llevado a cabo confirman el uso terapéutico popular que se ha realizado de estas especies a lo largo del tiempo.

1. INTRODUCCIÓN

Las Islas Canarias se sitúan a menos de 100 km de la costa atlántica de África (1, 2). El archipiélago está compuesto por ocho islas de origen volcánico, varios islotes y numerosos montes submarinos (3, 4). Posee una considerable antigüedad geológica, que abarca desde los 21 millones de años en Fuerteventura a apenas 1 millón de años en el Hierro (1, 5).

El clima de Canarias es templado, al estar influenciado por diferentes factores como la latitud, la existencia de la corriente fría de Canarias y la orografía. Las islas centrales y occidentales poseen un relieve abrupto, que dificulta el paso de las nubes, lo que produce una distribución desigual de la temperatura y la humedad (2). No obstante, la más notable y particular característica del clima de las Islas Canarias es la existencia de microclimas, lo que permite la existencia de diversos tipos de vegetación y topografía (6, 7).

Las islas cuentan con una gran riqueza en lo que a su flora se refiere, convirtiéndola en una de las regiones botánicas más importantes del mundo. Tal es así, que ocupa el primer puesto en Europa en cuanto al número de plantas endémicas, con más de 600 endemismos, entre las cuales, las plantas medicinales ocupan un lugar destacado y valioso (8, 9).

Los aborígenes de las islas utilizaban ciertas especies vegetales, como la fruta de *Visnea mocanera* -"mocán"- para uso terapéutico, secándolas e hirviéndolas, obteniendo lo que ellos denominaban "chacerquen", que poseía propiedades estimulantes, analgésicas y antieméticas, entre otras (2, 10). El conocimiento medicinal de los Guanches fue transmitido a sus conquistadores, contribuyendo a los recursos terapéuticos de la época (2, 11, 12).

Actualmente, el interés de la sociedad por acercarse a la naturaleza ha supuesto el resurgir de la medicina natural. La amplia variedad de plantas que se encuentran en las islas y, en particular, el gran número de especies endémicas hace que el uso de las especies vegetales como recursos medicinal sea de especial interés (8). La industria farmacéutica, con frecuencia, se ha basado en estos usos y conocimientos tradicionales transmitidos generación tras generación, con el fin de elaborar y sintetizar nuevos principios activos para el abordaje de patologías nuevas o ya existentes.

El dolor es una patología con una elevada prevalencia en nuestra sociedad y acompaña,

en muchas ocasiones, a otras enfermedades. Este síntoma se aliviaba o curaba, en épocas pasadas, con especies vegetales. El dolor se define como: “una experiencia sensorial y emocional, de carácter desagradable, originado en una lesión real o potencial de los tejidos” (13–15). Es uno de los motivos más frecuentes de consulta en atención primaria, afectando aproximadamente a un 29 % de la población española no hospitalizada y siendo crónico en un 17 % de los casos (16–19). Puede cursar con inflamación y precisar un abordaje más complejo que dependerá de la percepción de cada individuo, pues el dolor tiene un componente subjetivo.

Esta revisión bibliográfica se centra en aquellas especies vegetales endémicas canarias que poseen actividad analgésica y antiinflamatoria.

2. OBJETIVOS

- Realizar una revisión de las diferentes especies vegetales endémicas de las Islas Canarias que posean efecto analgésico y antiinflamatorio.
- Conocer cuántas de especies vegetales han sido estudiadas mediante ensayos farmacológicos “in vivo”.
- Analizar los resultados obtenidos con los distintos ensayos farmacológicos realizados.
- Determinar la posible utilidad de las especies vegetales endémicas canarias en el ámbito de la industria farmacéutica.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se ha realizado una revisión bibliográfica de las diferentes especies vegetales endémicas canarias con actividad analgésica y antiinflamatoria. Inicialmente, se incluyeron aquellas especies encontradas en: “Plantas medicinales o útiles en la flora canaria: aplicaciones populares” de Pedro Luis Pérez Paz. Obteniéndose los siguientes resultados (Figura 1):

Figura 1. Clasificación especies vegetales

Efecto analgésico	Efecto antiinflamatorio
<ul style="list-style-type: none">• <i>Avena canariensis</i> → Avena• <i>Cedronella canariensis</i> var. <i>canariensis</i> → Algaritofe• <i>Pinus canariensis</i> → Pino canario• <i>Salix canariensis</i> → Sauce• <i>Schizogyne sericea</i> → Salado• <i>Visnea mocanera</i> → Mocán	<ul style="list-style-type: none">• <i>Argyranthemum frutescens</i> → Magarza• <i>Cedronella canariensis</i> var. <i>canariensis</i> → Algaritofe• <i>Dracaena draco</i> → Drago• <i>Ferula linkii</i> → Cañaheja• <i>Forsskaolea angustifolia</i> → Ratonera• <i>Persea indica</i> → Viñátigo• <i>Rumex lunaria</i> → Vinagrera• <i>Salix canariensis</i> → Sauce• <i>Sambucus palmensis</i> → Saúco• <i>Schizogyne sericea</i> → Salado• <i>Visnea mocanera</i> → Mocán

Se recurrió a las siguientes bases de datos, revistas y bibliotecas virtuales gratuitas para recopilar información: ScienceDirect, Punto Q, Web of Science, Scopus, SciELO, ResearchGate, Wiley Online Library, RIULL y Google Académico utilizando las siguientes palabras clave solas o en combinación:

- “efecto analgésico”
- “efecto antiinflamatorio”
- “endemismo canario”

Este proceso de la búsqueda bibliográfica aumentó la cantidad de especies vegetales endémicas canarias estudiadas por estas propiedades incluyendo: *Hypericum canariense*; *Hypericum glandulosum*; *Hypericum reflexum*; *Neochamaelea pulverulenta*; *Sideritis canariensis* var. *pannosa*; *Sideritis candicans* var. *eriocephala* y *Smilax canariensis*, no incluidas anteriormente.

Se empleó como gestor bibliográfico el programa Mendeley Desktop y su plugin de Microsoft Word 2019 para referenciar los distintos artículos en la bibliografía.

Finalmente, se incluyeron aquellos artículos que incluyeran especies vegetales endémicas canarias con actividad farmacológica analgésica y antiinflamatoria. Se excluyeron aquellos cuya especie vegetal no fuera “endémica” con “actividad analgésica y/o antiinflamatoria” (Figura 2).

Figura 2. Estrategia de búsqueda



4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Endemismos vegetales

La revisión bibliográfica finalizó con un total de trece endemismos vegetales canarios con actividad antiinflamatoria y analgésica demostrada. La Tabla 1 describe otros usos populares que además poseen estas plantas.

Tabla 1. Actividades fitoterapéuticas de especies vegetales endémicas Canarias con actividad analgésica y antiinflamatoria.

Nombre científico	Actividad analgésica	Actividad antiinflamatoria	Otros usos populares
<i>Cedronella canariensis</i> (L.) Var. <i>Canariensis</i>	X	X	Hipoglucemiante, tónico capilar, descongestivo del tracto respiratorio y agente hipotensivo (20).
<i>Dracaena draco</i>	X	X	Tintórea, anticancerígena, forrajera, antibacteriana, hipoglucemiante, hipolipemiante, regulación bidireccional de la hematología, efecto cerebrovascular y cardiovascular (21).
<i>Ferula linkii</i>	X	X	Espasmolítica, antihemorroidal, afrodisiaca y antipirética (2, 22).
<i>Hypericum canariense</i> L.	X	X	Tratamiento de úlcera, sedativa, diurética, vermífuga, antihistérica y agente antidepresivo (2, 23).
<i>Hypericum glandulosum</i> Ait.	X	X	Tratamiento de úlcera, sedativa, diurética, vermífuga, antihistérica, agente antidepresivo y propiedades antibacterianas frente a bacterias grampositivas (2, 23).
<i>Hypericum reflexum</i> L. fil.	X	X	Tratamiento de úlceras, sedativa, diurética, vermífuga, antihistérica, agente antidepresivo y actividad antimicrobiana frente a bacterias grampositivas (24).
<i>Neochamaelea pulverulenta</i>	X	X	Usada en rituales funerarios guanches, antipiréticas, antiasmáticas, hipoglucemiante, usada en dolores como el reuma o la artrosis (2, 25).
<i>Salix canariensis</i>	X	X	Antirreumático, antipirético e hipertensor (26).

<i>Sambucus palmensis</i> Link.	X	X	Purgativa, diurética, diaforética, antierisipela, depurativa, vulneraria, sudorífica y antipirética. La infusión es utilizada en el tratamiento de resfriados y gripes (27).
<i>Sideritis canariensis</i> var. <i>pannosa</i>	X	X	Citostática, antimicrobiana, vulneraria, astringente, vacuna antigripal y estimulante circulatorio (28).
<i>Sideritis candicans</i> Ait. var. <i>eriocephala</i> Webb.	X	X	Descongestiva del tracto respiratorio, agente cicatrizante y astringente de heridas (29).
<i>Smilax canariensis</i>	X	X	Sudorífica, diurética, depurativa, laxante e hipoglucemiante (30).
<i>Visnea mocanera</i> L. f.	X	X	Estomacal, astringente, antiemética, antiulcerosa, hemostática, psicoestimulante, cicatrizante y agente vulnerario (31).

Se observa que la mayoría de las especies vegetales endémicas Canarias enumeradas poseen actividad analgésica y antiinflamatoria (19-29), destacando la leve actividad antiinflamatoria de la especie vegetal *Sideritis candicans* (29) en comparación con el resto de endemismos canarios. *Dracaena draco*, cuya actividad analgésica carece de suficientes estudios que demuestren su utilidad (21, 32), es el endemismo canario que más actividades terapéuticas posee, mientras que el género *Hypericum* es el único que mantiene usos populares comunes entre las distintas especies.

Tabla 2. Nombre popular, compuestos y parte útil de los endemismos en revisión.

Nombre científico	Nombre popular	Componentes	Parte útil
<i>Cedronella canariensis</i> (L.) Var. <i>Canariensis</i>	Algaritofe, Algaritope	Pinocarvone, β -pineno, β -mirceno, sabineno, myrtenil metil éter, β -cariofileno, mirtenol, β -felandreno y limoneno (20, 33)	Partes aéreas en infusión
<i>Dracaena draco</i>	Drago	Flavonas, flavanonas, homoisoflavanonas, dihidrochalconas, homoisoflavanos, chalconas, estilbenos, oligómeros fenólicos,	Savia seca

		oligómeros flavonoides y otros compuestos fenólicos (21)	
<i>Ferula linkii</i>	Cañaheja, Julan	Sesquiterpeno bicíclico lapidin es uno de los compuestos aislados de esta especie (22), no se ha encontrado más información respecto a sus compuestos.	Partes aéreas maceradas, frutos
<i>Hypericum canariense</i> L.	Granadillo, Imperico	-	Hojas, flores y frutos en infusiones
<i>Hypericum glandulosum</i> Ait.	Malfurada, Corazoncillo	-	Hojas, flores y frutos en infusiones
<i>Hypericum reflexum</i> L. fil.	Cruzadilla, hipérico o hierba cruz	Flavonoides, taninos, antraquinonas y saponinas estaban presente en el extracto (24).	Flores, hojas y frutos en infusión
<i>Neochamaelea pulverulenta</i>	Leña santa, Leña buena, Orijama	Cumarinas, cromosomas (derivado de las antraquinonas), neochamelina, pulverina, pulverocromenol, principios amargos y beta-sitosterol (25).	Tallo y sumidades en infusión
<i>Salix canariensis</i>	Sao, Sauce	Contiene taninos y glicósidos fenólicos como salicina (26).	Corteza, flores, hojas y ramas en infusión
<i>Sambucus palmensis</i> Link.	Sáuco canario	Componentes fenólicos polares como taninos y flavonoides, y antocianinas (27).	Corteza, hojas, flores y frutas en infusión
<i>Sideritis canariensis</i> var. <i>pannosa</i>	Chajorra de monte o Chahorra	Compuestos orgánicos como terpenoides y esteroides (28).	Partes aéreas en cataplasmas
<i>Sideritis candicans</i> Ait. var. <i>eriocephala</i> Webb.	Chahorra, Chagorro	Diterpenoides, derivados triterpénicos de alfa y beta amirina y esteroides (29).	Parte aérea
<i>Smilax canariensis</i>	Zarzaparrilla sin espinas, zarzaparrilla canaria o esparraguera	Saponinas, flavonoides, fitosteroles, ácidos, taninos, almidón, resina, colina y sales minerales (30).	Rizomas y tallos en infusión
<i>Visnea mocanera</i> L. f.	Mocán o mocanera	Ácido benzoico, aldehídos benzoicos, ácidos cinámico, flavonoides, glicósidos y antocianinas (10).	Hojas y frutos en sirope denominado "chacerquén" o "chacherquen"

La Tabla 2 muestra el nombre popular de cada una de las diferentes especies, así como la parte útil de cada una y su método de empleo. Destaca el uso de las partes útiles en forma de infusión o “agüitas” en medicina popular (30). Nueve de los endemismos canarios tienen más de una parte útil. *Cedronella canariensis* (L.) Var. Canariensis es la que más componentes aislados y estudiados posee, continúa *Dracanea draco* con un gran número de componentes conocidos aislados. En el 15,4 % de los endemismos (*Hypericum canariense* L. y *Hypericum glandulosum* Ait.) no se encontró estudios de aislamiento de sus componentes.

4.2. Ensayos farmacológicos “in vivo”

Los ensayos farmacológicos realizados para medir la actividad analgésica y antiinflamatoria han sido 7 (Tabla 3), que se pueden agrupar como sigue:

- Actividad analgésica periférica: test de Siegmund, test de Writhing y test de formalina.
- Actividad analgésica central: test de Tail-Flick y test de Hot-plate.
- Actividad antiinflamatoria: test de Levy y test del edema auricular inducido por TPA.

La actividad analgésica periférica ha sido ensayada en todos los endemismos, salvo en *Dracaena draco*, donde únicamente está estudiado el efecto analgésico central y el antiinflamatorio. La actividad analgésica central ha sido estudiada en 10 de las 13 especies vegetales, mientras que la actividad antiinflamatoria fue ensayada en el 100 % de los casos.

Tabla 3. Ensayos farmacológicos realizados a los endemismos objeto de estudio

Nombre científico	Test de Siegmund	Test de Writhing	Test de formalina	Test Tail-Flick	Test de Hot-plate	Test de Levy	Test del edema auricular inducido por TPA
<i>Cedronella canariensis</i> (L.) Var. Canariensis	X					X	
<i>Dracaena draco</i>					X		X
<i>Ferula linkii</i>		X			X	X	
<i>Hypericum canariense</i> L.		X		X			X
<i>Hypericum glandulosum</i> Ait.		X		X			X
<i>Hypericum reflexum</i> L. fil.		X	X	X			X
<i>Neochamaelea pulverulenta</i>		X	X			X	

<i>Salix canariensis</i>		X	X			X	
<i>Sambucus palmensis</i> Link.	X		X	X		X	
<i>Sideritis canariensis</i> var. <i>pannosa</i>		X				X	X
<i>Sideritis candicans</i> Ait. var. <i>eriocephala</i> Webb.		X				X	X
<i>Smilax canariensis</i>	X		X	X		X	
<i>Visnea mocanera</i> L. f.	X			X		X	X

4.2.1. Estudio de la actividad analgésica

Estas pruebas están basadas en la inducción de un estímulo doloroso (34) y, tras esto, se observa si aparecen cambios en el comportamiento del animal (30). Para que este estímulo sea adecuado debe ser cuantificable y reproducible (13, 34, 35).

4.2.1.1. Test de Siegmund

Evalúa el dolor a nivel periférico (36, 37). La inyección intraperitoneal (i.p.) de un agente algésico (fenilquinona) provoca como respuesta refleja contracciones o estiramientos (38) que son cuantificadas durante un tiempo determinado. El efecto analgésico de los distintos compuestos y sustancias que son ensayadas se determinan a razón de la capacidad para reducir el número de contracciones dolorosas o estiramientos que se producen (26). Este test ha sido realizado a 4 de las especies vegetales endémicas, observándose los resultados obtenidos en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultados del test de Siegmund

Especies vegetales ensayadas	Resultados
<i>Cedronella canariensis</i> (L.) Var. Canariensis	La infusión, extracto metanólico y las cinco fracciones estudiadas, salvo la D, presentan actividad analgésica significativa, y las fracciones E, F y G presentan valores dosis-dependientes (37).
<i>Sambucus palmensis</i> Link.	Las tres dosis ensayadas oralmente causaron una inhibición dosis-dependiente del dolor. El extracto acuoso ensayado a 70 mg/kg vía oral demuestra mayor inhibición del dolor (89,4%) que la obtenida por ibuprofeno (73,97%) (27).
<i>Smilax canariensis</i>	Los extractos orgánicos presentaron unos resultados más favorables que la infusión siendo el extracto metanólico el que disminuyó el dolor de forma dosis-dependiente. La dosis de 200 mg/kg vía oral obtuvo un resultado muy superior (76,67%) al obtenido con piroxicam (59,56%) (30).
<i>Visnea mocanera</i> L. f.	La infusión a dosis de 500 mg/kg vía oral (53,94%), así como la fracción de cloroformo (53,03%) y el sirope (55,44%), ensayados a dosis de 250 mg/kg vía oral presentaron una significativa actividad analgésica, a diferencia del extracto acetónico y el extracto metanólico ensayado a dosis de 250 mg/kg, que mostraron una leve pero insignificante actividad analgésica (31).

4.2.1.2. Test Writhing o prueba de torsión inducida por ácido acético

Se puede considerar una variedad del test de Siegmund, en el que se inyecta ácido acético en la cavidad intraperitoneal en lugar de fenilquinona (14). Este otro test de analgesia periférica ha sido ensayado en 7 de los endemismos. La Tabla 5 muestra los resultados obtenidos.

Tabla 5. Resultados del Writhing Test

Especies vegetales ensayadas	Resultados
<i>Ferula linkii</i>	Lapidin, uno de los principios activos de esta especie vegetal, fue aislado en las purificaciones de las fracciones, administrado a dosis de 5-15 mg/kg posee una actividad protectora (18-62%) frente a la solución de ácido acético (22).
<i>Hypericum canariense</i> L. e <i>Hypericum glandulosum</i> Ait.	Salvo la infusión de HC, todos los extractos y fracciones de estas plantas causaron una significativa disminución del dolor. Siendo la fracción clorofórmica de HC a dosis de 500 mg/kg vía oral la más

	efectiva (39,02%). Pero ninguno de los extractos supera al ibuprofeno (60,24%) (23).
<i>Hypericum reflexum</i> L. fil.	La infusión, el extracto metanólico, el extracto acuoso, la fracción de butanol y la de cloroformo reducen significativamente el dolor por vía oral (28-40%), siendo la infusión a dosis de 2500 mg/kg la más efectiva. No obstante, ninguna de las dosis ensayadas alcanzaron los valores obtenidos con ibuprofeno a 50 mg/kg vía oral (64,63%) (24).
<i>Neochamaelea pulverulenta</i>	Todas las dosis de su extracto acuoso disminuyeron las torsiones de manera dosis-dependiente, destacando la dosis más alta del extracto acuoso (5000 mg/kg), con un porcentaje de inhibición (95,90%) comparable al ibuprofeno (100%) (25).
<i>Salix canariensis</i>	Las tres dosis a 52,5, 70 y 105 mg/kg vía oral del extracto acuoso ejercieron una significativa disminución del dolor, siendo superior en las dos últimas dosis (92,1 y 99,1%). No se pudo determinar si el efecto analgésico fue a nivel central o periférico, sin embargo, los resultados obtenidos pueden sugerir una pequeña acción central (26).
<i>Sideritis canariensis</i> var. <i>pannosa</i>	El extracto etanólico a dosis de 500 mg/kg vía oral y la fracción de cloroformo a dosis de 250 mg/kg vía oral inhiben la contracción abdominal (39,93 y 62,36% respectivamente), lo que indica que los componentes que producen la actividad analgésica se encuentran en las dos fracciones, siendo el extracto de cloroformo la más efectiva (28).
<i>Sideritis candicans</i> Ait. var. <i>eriocephala</i> Webb.	Todas las fracciones y extractos ensayados produjeron una inhibición del dolor (42-73%), sin embargo, la fracción de cloroformo a dosis de 250 mg/kg vía oral fue la más efectiva (73,24%), con un porcentaje superior que ibuprofeno a dosis de 50 mg/kg (37,94%) (29).

4.2.1.3. Test de formalina

Mide tanto la analgesia central como la periférica (30). Consiste en la inyección de una solución de formaldehído al 37 % en la superficie dorsal de la pata del ratón (30) o de una solución salina hipertónica (37, 38). Se divide en dos fases: la primera refleja un dolor nociceptivo y la segunda un dolor de origen inflamatorio (29, 39). Las 5 especies vegetales ensayadas se resumen en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultados del test de Formalina

Especies vegetales ensayadas	Resultados
<i>Hypericum reflexum</i> L. fil.	El extracto metanólico y la fracción clorofórmica, a dosis de 1000 y 500 mg/kg vía oral respectivamente, causan una inhibición (24-64%) significativa de ambas fases del dolor inducido por formalina. El pretratamiento con la infusión a 2500 mg/kg vía oral reduce el dolor tan solo en la segunda fase (24%), como ocurre con diclofenaco (29%). El extracto metanólico y la fracción clorofórmica inhiben las dos fases, lo que puede sugerir una acción central de estos (24).
<i>Neochamaelea pulverulenta</i>	Las sacudidas de las patas en los ratones se vieron reducidas con todas las dosis ensayadas para el estudio del dolor neurogénico, produciéndose un incremento de la analgésica de forma dosis-dependiente, llegando a igualar e incluso mejorar con las dosis de 1200 y 5000 mg/kg vía oral del extracto acuoso (41,01 y 57,37% respectivamente) la analgesia del ibuprofeno (41,01%). Todos los lotes ensayados mostraron actividad analgésica periférica dosis-dependiente, salvo con la dosis de 1250 mg/kg. Con la dosis más elevada de 5000 mg/kg vía oral se obtuvo un resultado próximo (78,01%) al ibuprofeno (82,32%) (25).
<i>Salix canariensis</i>	La actividad analgésica fue mayor en la segunda fase con las dosis del extracto de 52,5, 70 y 105 mg/kg vía oral (23,2, 32,5 y 42,1% respectivamente), de manera dosis-dependiente. Los resultados obtenidos pueden sugerir una leve acción central de las dos dosis mayores, sin embargo los resultados presentan una acción mayoritaria periférica (26).
<i>Sambucus palmensis</i> Link.	Se observa un efecto inhibitorio significativo con la mayor dosis ensayada, de 70 mg/kg, de manera dosis-dependiente en las dos fases del test (de 38,89% y 70,11% respectivamente) (27).
<i>Smilax canariensis</i>	La administración oral del extracto acuoso a dosis de 2500 mg/kg en la primera fase casi duplicó (40%) la protección de indometacina (28,55%), mientras en la segunda, se obtuvo un porcentaje superior a la primera fase (73,75%), siendo muy próximo al obtenido por indometacina en esta segunda fase (84,96%). En ambas fases, la infusión consiguió acercarse al valor de analgesia obtenido por morfina (45,26% y 96,16%). El extracto metanólico ensayado a dosis de 200 mg/kg vía oral consiguió resultados superiores (42,04%) que indometacina (28,55%) en la primera fase (30).

4.2.1.4. Test de Tail-Flick

Este modelo sirve para la búsqueda de sustancias que posean propiedades analgésicas a nivel del sistema nervioso central (41). Consiste en aplicar un estímulo térmico en la punta de la cola tras sumergirla en un baño de agua caliente a una temperatura de 54 ± 1 °C (13, 29, 40–42). Este tipo de ensayo posee validez para determinar la potencia analgésica de sustancias de naturaleza narcótica (44). De las 13 especies endémicas, 6 fueron sometidas a este ensayo, tal y como se observa en la Tabla 7.

Tabla 7. Resultados del test de Tail-Flick

Especies vegetales ensayadas	Resultados
<i>Hypericum canariense</i> L.	El pretratamiento con el extracto y fracción no produjeron una alteración significativa de la respuesta al estímulo nociceptivo, a excepción de la fracción butanol que produjo un ligero incremento del tiempo de reacción (23).
<i>Hypericum glandulosum</i> Ait.	La fracción de metanol, butanol, cloroformo y la infusión prolongaron significativamente la reacción del ratón después del tratamiento, pero en menor proporción que petidina. Los resultados indican que posee efecto analgésico central y periférico (23).
<i>Hypericum reflexum</i> L. fil.	El pretratamiento con los extractos y fracciones de esta planta no afectaron de manera significativa la respuesta al estímulo, salvo el extracto metanólico y clorofórmico, a dosis de 1000 y 500 mg/kg respectivamente, que produjeron un incremento significativo de la reacción, lo que confirma el efecto central (24).
<i>Sambucus palmensis</i> Link.	El extracto acuoso no redujo de manera significativa la respuesta al dolor nociceptivo. Tan solo la dosis de 52,5 mg/kg ensayada produjo un ligero incremento del tiempo de reacción (27).
<i>Smilax canariensis</i>	Los tres extractos ensayados de la infusión no presentaron actividad a nivel central. La administración de los extractos orgánicos produjo, en la primera hora, una ligera actividad central, siendo los extractos de diclorometano y acetato de etilo a dosis de 200 mg/kg vía oral los que más se aproximaron (12,05% y 15,67% respectivamente) a la analgesia de la morfina (48,47%) en esta etapa. La segunda medición, realizada a las dos horas, resultó en un aumento de la capacidad para reducir el dolor a nivel central, de los extractos de diclorometano y acetato de etilo a la dosis anterior (16,16% y 18,45%) pero ninguno consiguió acercarse al valor de morfina (58,52%) (30).
<i>Visnea mocanera</i> L. f.	Se experimentó un crecimiento significativo del tiempo de reacción del ratón tanto con la infusión (500 mg/kg), como con el extracto de acetona (500 mg/kg) y el sirope (250 y 500 mg/kg). No obstante,

los efectos analgésicos son más leves que en el caso de piroxicam, ibuprofeno y morfina (31).

4.2.1.5. Test de Hot-Plate

Consiste en introducir un roedor en un espacio cilíndrico, de extremos abiertos, en el que la base consta de una placa metálica que se calienta por un termo o un líquido caliente (44–46). Esto en los animales produce dos tipos de comportamientos: lamer las patas y saltar. Ambas respuestas se consideran integradas a nivel supraespinal (14). El comportamiento de lamerse las patas se encuentra afectado por los opioides, mientras que el tiempo de reacción de salto se encuentra incrementado con analgésicos menos potentes como el ácido acetilsalicílico o el paracetamol (13, 47). La Tabla 8 recoge los resultados de los 2 únicos endemismos a los que se les realizó este ensayo.

Tabla 8. Resultados del test de Hot-plate

Especies vegetales ensayadas	Resultados
<i>Dracaena draco</i>	Su efecto analgésico puede deberse a su interferencia en la transducción central de la información del dolor (21).
<i>Ferula linkii</i>	Se produjo un aumento de la latencia de respuesta al salto con las dosis de 10 y 15 mg/kg, lo que sugiere que lapidín ejerce un efecto inhibitor sobre la tolerancia al dolor (22).

4.2.2. Estudio de la actividad antiinflamatoria

El estudio de la actividad antiinflamatoria utiliza, principalmente, un agente flobógeno que produce una inflamación que se intenta reducir o inhibir con la administración de las sustancias ensayadas (30).

4.2.2.1. Test de Levy

Consiste en inyectar, en el tejido subcutáneo plantar del ratón, una sustancia irritante (29, 48), lo que da lugar a un proceso inflamatorio agudo. Los resultados obtenidos, en las 9 especies vegetales en las que se ensayó, se resumen en la Tabla 9.

Tabla 9. Resultados del test de Levy

Especies vegetales ensayadas	Resultados
<i>Cedronella canariensis</i> (L.) Var. Canariensis	La infusión, el extracto y las cinco fracciones, poseen una significativa propiedad antiinflamatoria. Las fracciones E, F y G poseen actividad dosis-dependiente (37).
<i>Ferula linkii</i>	El pretratamiento con lapidin a dosis de 10-20 mg/kg inhibe la inflamación de manera dosis-dependiente de forma comparable a dosis de 20 mg/kg a la observada tras la administración de indometacina, con la diferencia de que los efectos de lapidin decaen tras tres horas (22).
<i>Neochamaelea pulverulenta</i>	Se confirmó una reducción del volumen de la pata del roedor, observándose con las dosis de 1250, 2500 y 3750 mg/kg una reducción de la inflamación en mayor medida (65,20, 69,15 y 68,99%) que el ibuprofeno (63,92%) (25).
<i>Salix canariensis</i>	La administración de sus extractos causa un efecto dosis-dependiente, con las dosis de 70 y 105 mg/kg se obtiene mejores resultados (75,2 y 78,2% respectivamente), siendo superior al ibuprofeno (69,9%), observándose los mayores resultados en la primera fase (26).
<i>Sambucus palmensis</i> Link.	Produce una inhibición del edema de manera dosis-dependiente, siendo superior a 70 mg/kg (28,57%), de forma análoga al AINE usado como control (47,44%) (27).
<i>Sideritis canariensis</i> var. <i>pannosa</i>	El tratamiento con el extracto de etanol a dosis de 500 mg/kg p.o. posee una significativa inhibición del edema (19,9%) cuatro horas después de la administración del agente flobógeno. Lo mismo se observó con las dos fracciones de cloroformo ensayadas a dosis de 125 y 250 mg/kg y la fracción acuosa a dosis de 125 mg/kg p.o., que alcanza su máxima efectividad dos horas después de la inyección con carragenina (25,4, 33,4 y 36,0% respectivamente) (28).
<i>Sideritis candicans</i> Ait. var. <i>eriocephala</i> Webb.	Todos los extractos ensayados poseen una inhibición significativa del edema dos horas después de la administración de carragenina, siendo la subfracción F3 a dosis de 100 mg/kg la más activa (49,09%). La fracción clorofórmica a dosis de 125 mg/kg causa una inhibición significativa del edema tras cuatro horas (20,84%), aunque esta actividad antiinflamatoria fue menor que la observada con piroxicam, indometacina e ibuprofeno (32,52, 33,68 y 34,20% respectivamente) (29).
<i>Smilax canariensis</i>	La infusión no posee actividad antiinflamatoria. La dosis de 300 mg/kg p.o. del extracto metanólico disminuye la inflamación en un porcentaje que resulta ser la mitad (16,67%) del producido por piroxicam (33,33%) (30).
<i>Visnea mocanera</i> L. f	El pretratamiento con los extractos de acetona (35,15%) y metanol (44,98%) y, en menor medida la fracción acuosa (18,78%), a dosis

de 250 mg/kg p.o., al igual que el sirope a dosis de 250 y 500 mg/kg p.o. (45,41% y 42,36% respectivamente), produce una reducción significativa del edema, alcanzando su máxima actividad 2 horas después de la inyección, no obstante no es superior a ibuprofeno (57,64%) o piroxicam (68,56%) (31).

4.2.2.2. Test del edema auricular inducido por 13-acetato de 12-tetradecanoilforbol (TPA)

Consiste en la administración auricular derecha de TPA disuelto en acetona. La diferencia de la oreja derecha frente a la izquierda indica la protección frente al edema (29). Este test fue realizado en 6 de los endemismos y los resultados se recogen en la Tabla 10.

Tabla 10. Resultados del test del edema auricular inducido por TPA

Especies vegetales ensayadas	Resultados
<i>Dracaena draco</i>	Posee actividad analgésica y antiinflamatoria, ya que bloquea la síntesis y libera la sustancia P mediante la inhibición de la COX-2 y la supresión del ion calcio siendo más potente que diclofenaco (21).
<i>Hypericum canariense</i> L. e <i>Hypericum glandulosum</i> Ait.	Todas las muestras ensayadas, salvo la infusión de ambas especies y la fracción acuosa de HC, producen una significativa inhibición del edema de manera dosis-dependiente, siendo el extracto metanólico de <i>H. canariensis</i> y la fracción butanólica de <i>H. glandulosum</i> a dosis de 1 mg las más efectivas (76,38 y 75,47% respectivamente), similar al porcentaje observado en la dosis de 0.1 mg de dexametasona (83,12%) (23).
<i>Hypericum reflexum</i> L. fil.	Todos los extractos ensayados, con la excepción de la infusión y la fracción acuosa, mostraron una significativa inhibición del edema de manera dosis-dependiente, en comparación con el control. El extracto de metanol a dosis de 1 mg fue el más activo (69,64%) (24).
<i>Sideritis canariensis</i> var. <i>pannosa</i>	El extracto de etanol a dosis de 1,0 y 2,0 mg y la fracción clorofórmica a dosis de 0,5 y 1,0 mg, administrados tópicamente, produjeron una significativa reducción dosis-dependiente de la inflamación (27,5, 44,1, 42,0 y 48,1% respectivamente), pero no fueron superiores a la betametasona ni dexametasona (89,9 y 89,8%) (28).
<i>Sideritis candicans</i> Ait. var. <i>eriocephala</i> Webb.	Todos los extractos inhibieron de manera significativa el edema tras la administración tópica. El extracto de etanol a dosis de 2 mg y la

	<p>subfracción F3, a dosis de 1 mg de la fracción de cloroformo, fueron los que mostraron una mejor actividad antiinflamatoria (58,47 y 60,98% respectivamente), sin embargo ninguna de las dosis obtuvo un porcentaje superior a la dosis de 0,1 mg de betametasona y dexametasona (72 y 88% respectivamente) (29).</p>
<p><i>Visnea mocanera</i> L. f</p>	<p>El extracto acetónico a dosis de 0,10 mg/μL causó una inhibición significativa del edema auricular (39,69%), siendo mayor que la aspirina (24,12%). No obstante, fue menos potente que dexametasona (72,37-74,12%) y betametasona (55,25-76,26%), (31).</p>

5. CONCLUSIONES

1. La revisión bibliográfica ha concluido con 20 endemismos canarios a los que se les atribuye actividad analgésica y antiinflamatoria en las Islas Canarias.
2. Han sido estudiados 13 de estos endemismos para demostrar científicamente las propiedades analgésicas y/o antiinflamatorias.
3. Doce de los trece endemismos estudiados posee ensayos de actividad analgésica periférica. Se observó que el estudio de la actividad analgésica central sólo se ha realizado en diez endemismos. La actividad antiinflamatoria ha sido la más estudiada encontrándose en los trece endemismos canarios.
4. Se ha observado que extractos de ciertas especies ensayadas poseen mayor actividad analgésica que el principio activo utilizado como referencia, lo que podría ser de especial utilidad en la industria farmacéutica.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Carracedo JC, Pérez Torrado FJ, Ancochea E, Meco J, Hernán F, Cubas CR, et al. Cenozoic volcanism II: the Canary Islands. *Geol Spain*. 2002;(18):439–72.
2. Darias V, Bravo L, Barquin E, Herrera DM, Fraile C. Contribution to the ethnopharmacological study of the canary islands. *J Ethnopharmacol*. 1986;15(2):169–93.
3. Martínez A, Domenico M Di, Leasi F, Curini-Galletti M, Todaro MA, Zotto MD, et al. Patterns of diversity and endemism of soft-bodied meiofauna in an oceanic island, Lanzarote, Canary Islands. *Mar Biodivers* [Internet]. 2019;49(5):2033–55. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12526-019-01007-0>
4. Ancochea E, Fuster J, Ibarrola E, Cendrero A, Coello J, Hernan F, et al. Volcanic evolution of the island of Tenerife (Canary Islands) in the light of new K-Ar data. *J Volcanol Geotherm Res*. 1990 Dec 30;44(3–4):231–49.
5. Caujapé-Castells J, García-Verdugo C, Marrero-Rodríguez Á, Fernández-Palacios JM, Crawford DJ, Mort ME. Island ontogenies, syngameons, and the origins and evolution of genetic diversity in the Canarian endemic flora. *Perspect Plant Ecol Evol Syst* [Internet]. 2017;27:9–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ppees.2017.03.003>
6. Huetz de Lemp A. *Le climat des iles Canaries*. París: Faculté des Lettres et des Sciences Humanas. Société d'édition d'Enseignement Supérieur; 1969. 224 p.
7. Carracedo JC. *Canarias*. Madrid: Madrid : Anaya; 1980.
8. Suárez Montesinos M. Plantas medicinales endémicas Canarias. *Actual en Farmacol y Ter* [Internet]. 2004;2(4):281–5. Available from: https://www.iqb.es/farmacologia/revista/aft2_4.pdf
9. Pérez De Paz J, Caujapé-Castells J. A review of the allozyme data set for the Canarian endemic flora: Causes of the high genetic diversity levels and implications for conservation. *Ann Bot*. 2013;111(6):1059–73.
10. Herna M, Herna T, Go C, Estrella I, Rabanal RM. Phenolic Composition of the “Moca ´ n” (*Visnea mocanera* L. f.). 1996;(3):3512–5.
11. Cioranescu A. *Historia de Nuestra Señora de Candelaria* [Internet]. Santa Cruz de Tenerife: Goya; 1980 [cited 2021 Apr 26]. 216 p. Available from: [~ 25 ~](https://puntoquill-es.accedys2.bbtk.ull.es/primo-</div><div data-bbox=)

explore/fulldisplay?docid=ullabsysULL00108403c-0&context=L&vid=ull&lang=es_ES&search_scope=ull_recursos&adaptor=Local Search Engine&isFrbr=true&tab=default_tab&query=any,contains,Historia de Nuestra Señora de Candelaria espinosa 1980&offset=0

12. Abreu Galindo J, Cioranescu A. Historia de la conquista de las siete islas de Canaria [Internet]. Santa Cruz de Tenerife: Goya; 1977 [cited 2021 Apr 27]. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=65402>
13. Font E. Analgesia y analgésicos. Elsevier [Internet]. 2002;21(9):70–8. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-analgesia-analgescicos-13038003>
14. Le Bars D, Gozariu M, W. Cadden S. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev.* 2001;53(4):597–652.
15. Dennis SG, Melzack R. Perspectives on Phylogenetic Evolution of Pain Expression. *Anim Pain.* 1983;151–60.
16. Casals M, Samper D. Epidemiología, prevalencia y calidad de vida del dolor crónico no oncológico. Estudio ITACA. *Rev la Soc Española del Dolor.* 2004;11(5):260–9.
17. Català E, Reig E, Artés M, Aliaga L, López JS, Segú JL. Prevalence of pain in the Spanish population telephone survey in 5000 homes. *Eur J Pain* [Internet]. 2002 Apr 1 [cited 2021 May 1];6(2):133–40. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1053/eujp.2001.0310>
18. López-Silva MDC, Sánchez De Enciso M, Rodríguez-Fernández MC, Vázquez-Seijas E. Cavidol: Calidad de vida y dolor en atención primaria. *Rev la Soc Española del Dolor.* 2007;14(1):9–19.
19. Calsina-Berna A, Moreno Millán N, González-Barboteo J, Solsona Díaz L, Porta Sales J. Prevalencia de dolor como motivo de consulta y su influencia en el sueño: experiencia en un centro de atención primaria. *Aten Primaria.* 2011;43(11):568–76.
20. Coen M, Engel R, Nahrstedt A. Chavicol β -d-glucoside, a phenylpropanoid heteroside, benzyl- β -d-glucoside and glycosidically bound volatiles from subspecies of *Cedronella canariensis*. *Phytochemistry* [Internet]. 1995;40(1):149–55. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003194229500241X>
21. Sun J, Liu JN, Fan B, Chen XN, Pang DR, Zheng J, et al. Phenolic constituents,

- pharmacological activities, quality control, and metabolism of *Dracaena* species: A review [Internet]. Vol. 244, Journal of Ethnopharmacology. Elsevier Ireland Ltd; 2019. p. 112138. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112138>
22. Valencia E, Feria M, Diaz JG, Gonzalez A, Bermejo J. Antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic effects of lapidin, a bicyclic sesquiterpene. *Planta Med.* 1994;60(5):395–9.
 23. Rabanal RM, Bonkanka CX, Hernández-Pérez M, Sánchez-Mateo CC. Analgesic and topical anti-inflammatory activity of *Hypericum canariense* L. and *Hypericum glandulosum* Ait. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2005;96(3):591–6. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874104005203>
 24. Sánchez-Mateo CC, Bonkanka CX, Hernández-Pérez M, Rabanal RM. Evaluation of the analgesic and topical anti-inflammatory effects of *Hypericum reflexum* L. fil. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2006;107(1):1–6. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874106000869>
 25. Fernández Gómez E. Actividad analgésica y antiinflamatoria de especies vegetales endémicas de Canarias [Internet]. Universidad de La Laguna; 2018. Available from: <https://riull.ull.es/xmlui/handle/915/10244>
 26. Martín-herrera D. The bioguided fractionation and pharmacological activity of an endemic *Salix canariensis* species. 2017;67:265–73.
 27. Abdala S, Dévora S, Martín-Herrera D, Pérez-Paz P. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Sambucus palmensis* link, an endemic Canary Island species. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2014;155(1):626–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.06.002>
 28. Hernández-Pérez M, Rabanal RM. Evaluation of the antiinflammatory and analgesic activity of *Sideritis canariensis* var. *pannosa* in mice. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2002;81(1):43–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874102000338>
 29. Hernández-Pérez M, Sánchez-Mateo CC, Montalbetti-Moreno Y, Rabanal RM. Studies on the analgesic and anti-inflammatory effects of *Sideritis candicans* Ait. var. *eriocephala* Webb aerial part. *J Ethnopharmacol.* 2004;93(2–3):279–84.
 30. Dévora Gutiérrez S. Estudio químico y farmacológico de especies botánicas endémicas canarias [Internet]. Universidad de La Laguna; 2011. Available from: <https://riull.ull.es/xmlui/handle/915/21150>
 31. Hernández-Pérez M, Sánchez-Mateo CC, Darias V, Rabanal R. Pharmacological

- properties of *Visnea mocanera* L. f. extracts: Screening for analgesic, antipyretic, antiinflammatory and ulcerogenic activities in rodents. *Phyther Res* [Internet]. 1994 Dec;8(8):465–9. Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0028312292&doi=10.1002%2Fptr.2650080806&origin=inward&txGid=2aef4b1a368ffcc9e1cff20d4a1357ff>
32. Gupta D, Bleakley B, Gupta RK. Dragon's blood: Botany, chemistry and therapeutic uses [Internet]. Vol. 115, *Journal of Ethnopharmacology*. 2007. p. 361–80. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874107005387>
 33. Engel R, Nahrstedt A, Hammerschmidt FJ. Composition of the essential oils of *Cedronella canariensis* (L.) Webb et Berth, ssp. *canariensis* and ssp. *anisata* f. *glabra* and f. *pubescens*. *J Essent Oil Res*. 1995;7(5):473–87.
 34. Morteza-Semnani K, Mahmoudi M, Heidar MR. Analgesic Activity of the Methanolic Extract and Total Alkaloids of *Glaucium paucilobum*. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* [Internet]. 2006 [cited 2021 Apr 27];28(3):151. Available from: https://journals.prous.com/journals/servlet/xmlxsl/pk_journals.xml_toc_pr?p_JournalID=6&p_IssueID=791
 35. Beecher HK. The measurement of pain; prototype for the quantitative study of subjective responses. *Pharmacol Rev* [Internet]. 1957 [cited 2021 Apr 27];9(1):59–209. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13431416/>
 36. Lineberry CG. Laboratory Animals in Pain Research. In: *Methods of Animal Experimentation*. Elsevier; 1981. p. 237–311.
 37. López-García RE, Rabanal RM, Darias V, Martín-Herrera D, Carreiras MC, Rodríguez B. A preliminary study of *Cedronella canariensis* (L.) var. *Canariensis* extracts for antiinflammatory and analgesic activity in rats and mice. *Phyther Res*. 1991;5(6):273–5.
 38. Lewis T, Kellgren JH. Observations relating to referred pain, visceromotor reflexes and other associated phenomena. *Clin Sci*. 1939;4:47–71.
 39. Sutaeg Hwang A, Wilcox GL. Intradermal hypertonic saline-induced behavior as a nociceptive test in mice. *Life Sci*. 1986 Jun 30;38(26):2389–96.
 40. Micó Segura JA, Ortega Alvaro A. Modelos animales de dolor. *Reumatol Clínica*. 2006;2(Extra 1):2–4.
 41. Ben-Bassat J, Peretz E, Sulman FG. Analgesimetry and ranking of analgesic

- drugs by the receptacle method. Arch Int Pharmacodyn Ther [Internet]. 1959 [cited 2021 Apr 28];122:434–47. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13798682/>
42. Janssen PA, Niemegeers CJ, Dony JG. The inhibitory effect of fentanil and other morphine-like analgesics on the warm water induced tail withdrawal reflex in rats. *Arzneimittelforschung*. 1963;13:502–7.
 43. Grotto M, Sulman FG. Modified receptacle method for animal analgesimetry. *Arch Int Pharmacodyn Ther*. 1967;165(1):152–9.
 44. Thompson E. Bioscreening Technique for Analgesic Activity. In: *Drug Bioscreening: Drug Evaluation Techniques in Pharmacology*. New York: Vch Publishers, Inc; 1990. p. 53–78.
 45. WOOLFE G, MACDONALD AD. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (demerol). *J Pharmacol Exp Ther*. 1944;80(3):300–7.
 46. Eddy NB, Leimbach D. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 1953 [cited 2021 Apr 28];107(3):385–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13035677/>
 47. O’Callaghan JP, Holtzman SG. Quantification of the analgesic activity of narcotic antagonists by a modified hot-plate procedure. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 1975 Mar [cited 2021 Apr 28];192(3):497–505. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1168252/>
 48. Ankier SI. New hot plate tests to quantify antinociceptive and narcotic antagonist activities. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 1974 Jun [cited 2021 Apr 28];27(1):1–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4853341/>
 49. Levy G, Tuschima T, Amsel LP. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 1972;13:258.