



UNIVERSIDAD DE CHILE

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FARMACOLÓGICA Y TOXICOLÓGICA
LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES**

**DETERMINACIÓN DE LOS MECANISMOS
INVOLUCRADOS EN LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA
DE LAS HOJAS DE *ARISTOTELIA CHILENSIS* EN
UN MODELO DE DOLOR TÉRMICO AGUDO**

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

MARIELA DEL CARMEN FARÍAS MARENGO

**PROFESORA PATROCINANTE
DRA. CARLA DELPORTE VERGARA**

**DIRECTORES DE MEMORIA
DRA. CARLA DELPORTE VERGARA
DR. HUGO MIRANDA GUZMÁN**

**SANTIAGO, CHILE
2009**

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II. ANTECEDENTES DE <i>Aristotelia chilensis</i>	3
2.1.- Clasificación taxonómica	3
2.2.- Distribución geográfica	4
2.3.- Descripción botánica	4
2.4.- Usos en la medicina popular	4
2.5.- Estudios previos: químicos y farmacológicos	4
CAPÍTULO III. HIPÓTESIS	10
CAPÍTULO IV. OBJETIVOS	11
4.1.- Objetivos Generales	11
4.2.- Objetivos Específicos	12
CAPÍTULO V. MATERIALES Y MÉTODOS	13
5.1.- Animales	13
5.2.- Muestras	13
5.3.- Fármacos antagonistas	14
5.3.1.- Antagonistas opioides	14
5.3.2.- Antagonistas serotoninérgicos	15
5.3.3.- Antagonistas adrenérgicos	15
5.3.4.- Antagonistas muscarínicos	15
5.3.5.- Inhibidor de óxido nítrico sintasa (NOS)	15
5.4.-Ensayo del latigazo de la cola (Test tail-flick)	16
5.5.-Procedimiento	17
5.5.1.- Animales controles salino	17

	5.5.2.- Animales controles extractos	17
	5.5.3.- Animales pretratados con antagonista + extracto	17
	5.6.- Análisis estadístico	19
CAPITULO VI.	RESULTADOS	20
	6.1.- Efecto antinociceptivo del grupo control salino	20
	6.2.- Efecto antinociceptivo del grupo control extracto	20
	6.3.- Efecto antinociceptivo de los extractos de A. chilensis	21
	previo tratamiento con:	
	6.3.1.- Antagonistas opioides	21
	6.3.2.- Antagonistas serotoninérgicos	24
	6.3.3.- Antagonistas adrenérgicos	26
	6.3.4.- Antagonistas muscarínicos	28
	6.3.5.- Inhibidor de NOS	30
CAPITULO VII.	DISCUSIONES	32
CAPITULO VIII.	CONCLUSIONES	37
CAPITULO IX.	BIBLIOGRAFIA	39

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
TABLA 1	Algunos constituyentes químicos de las hojas de <i>Aristotelia chilensis</i> (Mol.) Stuntz	6
TABLA 2	Actividad antinociceptiva vía tópica de extractos de <i>A. chilensis</i> : EH, EDCM y EM correspondiente a su CE ₂₅ en el test de tail-flick	20
TABLA 3	Efectos del pretratamiento con antagonistas opioides en la actividad antinociceptiva de los extractos de <i>A. chilensis</i> en el test tail-flick	22
TABLA 4	Efectos del pretratamiento con tropisetron (TROPI), bloqueador serotoninérgico, en la actividad antinociceptiva de los extractos de <i>A. chilensis</i> en el test tail-flick	24
TABLA 5	Efectos del pretratamiento con prazosin (PRA) y yohimbina (YOH) en la actividad antinociceptiva de los extractos de <i>A. chilensis</i> en el test tail-flick	26
TABLA 6	Efectos del pretratamiento con atropina (ATRO) en la actividad antinociceptiva de los extractos de <i>A. chilensis</i> en el test tail-flick:	28
TABLA 7	Efectos del pretratamiento con L-NAME (5 mg/Kg) en la actividad antinociceptiva de los extractos de <i>A. chilensis</i> en el test tail-flick	30

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

		Página
FIGURA 1	Árbol, hojas y frutos de <i>Aristotelia chilensis</i> (Mol) Stuntz.	3
FIGURA 2a	Alcaloides presentes en las hojas de <i>Aristotelia chilensis</i> (Mol.) Stuntz	7
FIGURA 2b	Alcaloides presentes en las hojas de <i>Aristotelia chilensis</i> (Mol.) Stuntz	8
FIGURA 3	Antocianinas identificadas en los frutos de <i>A. chilensis</i> (Mol.) Stuntz por Escribano-Bailón et al.	9
FIGURA 4	Procedimiento del ensayo de tail-flick	18
FIGURA 5	Histograma del efecto antinociceptivo producido por los extracto EH, EDCM y EM de <i>A. chilensis</i> vía tópica, previa administración i.p. de NTX (1 mg/Kg) antagonista opioide en el test tail-flick	22
FIGURA 6	Histograma del efecto antinociceptivo producido por los extracto EH, EDCM y EM de <i>A. chilensis</i> vía tópica, previa administración i.p de NTI (1 mg/Kg) antagonista opioide en el test tail-flick	23
FIGURA 7	Histograma del efecto antinociceptivo producido por los extracto EH, EDCM y EM de <i>A. chilensis</i> vía tópica, previa administración i.p de Nor-BNI (5 mg/Kg) antagonista opioide en el test tail-flick	23

FIGURA 8	Histograma de efecto antinociceptivo producido por los extractos EH, EDCM y EM de <i>A. chilensis</i> vía tópica, previa administración i.p. de TRO (1mg/Kg) bloqueador serotoninérgico en el test tail-flick.	25
FIGURA 9	Histograma de efecto antinociceptivo producido por los extractos EH, EDCM y EM de <i>A. chilensis</i> vía tópica, previa administración i.p. de PRA (0,1 mg/Kg) antagonista adrenérgico α -1 en el test tail-flick.	27
FIGURA 10	Histograma de efecto analgésico producido por los extractos EH, EDCM y EM de <i>A. chilensis</i> vía tópica, previa administración i.p. de YOH (0,01 mg/Kg) antagonista adrenérgico α -2 en el test tail-flick.	27
FIGURA 11	Histograma de efecto analgésico producido por los extractos EH, EDCM y EM de <i>A. chilensis</i> vía tópica, previa administración i.p. de ATRO (1 mg/Kg) en el test tail-flick.	29
FIGURA 12	Histograma de efecto analgésico producido por los extractos EM, EDCM y (EH) de <i>A. chilensis</i> vía tópica, previa administración i.p. de L-NAME (5 mg/Kg) en el test tail-flick	31

ABREVIATURAS

AINES = antiinflamatorios no esteroideos
ATRO= atropina
CE₂₅ = concentración que produce un 25% de efecto
cGMP = guanilato ciclasa
DMSO= dimetilsulfóxido
DOP-R= receptor opioide delta
EDCM= extracto de diclorometano
EH = extracto de hexano
EM= extracto de metanol
i.p.= intraperitoneal
I.R.= infrarrojo
KOP-R= receptor opioide kappa
L-NAME= N^G-nitro- L-Arginina Metil Ester
L-NMMA= N^G-Monometil-L-Arginina
MOP-R= receptor opioide mu
M.P.E.= Efecto máximo posible
NDMA= N-metil-D-aspartato
NO= óxido nítrico
Nor-BNI= Nor-binaltorfimina
NOS= óxido nítrico sintasa
NTI= naltrindol
NTX= naltrexona
PRA= prazosin

SEM= error estándar de la media

SNC= sistema nervioso central

TRO= tropisetron

YOH= yohimbina

RESUMEN

DETERMINACIÓN DE LOS MECANISMOS INVOLUCRADOS EN LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA DE LAS HOJAS DE *ARISTOTELIA CHILENSIS* EN UN MODELO DE DOLOR TÉRMICO AGUDO

Aristotelia chilensis (Mol) Stutnz, también conocida como maqui, es una especie perteneciente a la familia Eleoocarpaceae, un árbol nativo de Chile y Argentina. La medicina popular le atribuye a las hojas de esta especie, propiedades analgésicas y antiinflamatorias siendo respaldadas por estudios científicos y se ha determinado además que las hojas poseen actividades antimicrobiana y antioxidante. Sus frutos son explotados como alimento y fuente de colorantes.

El presente estudio examinó los posibles mecanismos involucrados en el efecto antinociceptivo tópico de tres extractos de hexano (EH, 3,5%p/v), diclorometano (EDCM, 4,5%p/v) y metanol (EM, 2,7%p/v) obtenidos desde las hojas de *Aristotelia chilensis*, a una concentración correspondiente a su CE₂₅, utilizando como modelo experimental un ensayo de dolor térmico agudo como es el *tail flick* en ratones y la administración previa vía intraperitoneal (i.p.) de los siguientes antagonistas: naltrexona (NTX), naltrindol(NTI), nor-binaltorfimina (Nor-BNI), tropisetron (TRO), prazosin(PRA), yohimbina (YOH), atropina (ATRO) y N^G-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME).

La antinocicepción causada por EDCM y EM fue modificada por NTX, antagonista de MOP-R, mientras que NTI, antagonista de DOP-R sólo varió la analgesia de EM. En contraste, Nor-BNI no provocó cambios significativos en la antinocicepción de los extractos en estudio. El antagonista serotoninérgico (TRO) incrementó el efecto analgésico de EH y EDCM, sin embargo no modificó

significativamente la actividad analgésica de EM. Por otro lado, el antagonista adrenérgico (α -1) PRA aumentó el efecto analgésico de EH, EDCM y EM, mientras que YOH, antagonista adrenérgico (α -2) causó una modificación significativa de la antinocicepción de los extractos EDCM y EM, no así de la analgesia de EH. Por otra parte, la administración de ATRO, antagonista colinérgico muscarínico aumentó la analgesia de EH y EM, no así de EDCM. Por último, L-NAME incrementó significativamente los efectos analgésicos de los extractos EH, EDCM y EM.

En conclusión, la actividad analgésica de EH estaría modulada por receptores serotoninérgicos (5-HT₃), adrenérgicos (α -1), colinérgico muscarínico (ACh-M) y vía L-arginina/NO. En cambio la actividad antinociceptiva de EDCM es modulada por las vías opioide, serotoninérgicas, adrenérgicas y nitridérgicas. Mientras que en el efecto analgésico de EM estarían involucrados los sistemas opioide, adrenérgico, colinérgico muscarínico y L-arginina/NO.

SUMMARY

DETERMINATION OF THE MECHANISMS INVOLVED IN THE ANALGESIC ACTIVITY OF *ARISTOTELIA CHILENSIS* LEAVES IN AN ACUTE THERMAL PAIN MODEL

Aristotelia chilensis (Mol) Stutz, known as "maqui" is a native tree from Chile and Argentina belonging to Eleocarpaceae family specie. Popular medicine ascribes analgesic and anti-inflammatory properties to the leaves of this specie. These facts have been supported by scientific studies and also determining that the leaves have antimicrobial and antioxidant properties. The fruits are exploited as food and dye source.

The present study searches for possible mechanisms involved in the antinociceptive topic effect of the three extracts: hexane (EH, 3,5% w/w), dichloromethane (EDCM, 4,5% w/w) and methanol (EM, 2,7% w/w) obtained from the leaves of *A. chilensis*, with a concentration corresponding to its EC₂₅ using as a experimental model an acute thermal pain assay as is the so called tail flick in mice and the intraperitoneal (i.p.) administration of the following antagonist: naltrexone (NTX), naltrindole (NTI), nor-binaltorfimine (Nor-BNI), tropisetron (TRO), prazosin(PRA), yohimbine (YOH), atropine (ATRO) y N-nitro-L-arginine metil ester (L-NAME).

The antinociception caused by the EDCM and EM extracts was modified by NTX an MOP-R antagonist, while the DOP-R antagonist, NTI only modified the EM analgesia. In the opposite, Nor-BNI does not bring significative changes in the antinociception of the extracts under study. The serotonergic antagonist (TRO) increased the analgesic effect of the EH and EDCM, nevertheless it did not modify significantly the analgesic activity of EM. In another aspect, the adrenergic antagonist (α -1) PRA increased the analgesic effect of EH, EDCM and EM, while YOH adrenergic antagonist (α -2) produced a significative modification of the antinociception of both EDCM and EM extracts, but did not

affect the analgesic effect of the EH was observed. In the other hand, the administration muscarinic cholinergic antagonist ATRO, increased the analgesic effect of EH and EM, but not of EDCM. Finally, L-NAME significantly increased the analgesic effects of the EH, EDCM and EM extracts.

As a final result, the analgesic activity the EH would be modulated by serotonergic (5-HT₃), adrenergic (α -1), muscarinic cholinergic (Ach-M) receptors and L-arginine/NO pathway. The antinociceptive activity of EDCM is modulated by opioid, serotonergic, adrenergic and nitridergic pathways. In the analgesic effect of EM would be involved the opioid, adrenergic, muscarinic cholinergic and L-arginine/NO systems.