



**UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
CON ÉNFASIS EN FARMACOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE LAS ACTIVIDADES ANALGÉSICA Y
ANTIINFLAMATORIA DE PLANTAS PANAMEÑAS CON ACTIVIDAD
ANTIPROLIFERATIVA**

POR

LORENA H CRUZ M

PANAMÁ, REPUBLICA DE PANAMÁ

2015

**UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
CON ÉNFASIS EN FARMACOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE LAS ACTIVIDADES ANALGÉSICA Y
ANTIINFLAMATORIA DE PLANTAS PANAMEÑAS CON ACTIVIDAD
ANTIPROLIFERATIVA**

PRESENTADO POR

LORENA H CRUZ M

**En Cumplimiento de los Requisitos Exigidos para Optar por el grado de Magíster en Ciencias
Biomédicas con énfasis en Farmacología**

PROFESORES ASESORES

**MAGÍSTER JUAN A MORAN P
DOCTORA ESTELA GUERRERO DE LEÓN**

PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ

2015



UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y
POSTGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las 2:00 p.m. del día jueves 18 de junio del año 2015, en el Salón de profesores de la Facultad de Medicina de la Universidad de Panamá, se dio inicio a la sustentación de la Tesis para otorgar por el Título de **Maestría en Ciencias Biomédicas con énfasis en Farmacología** defendida por la estudiante Lorena Haydee Cruz Mercado, con cédula de identidad 8-768-80 y cuyo título es: **“EVALUACIÓN DE LAS ACTIVIDADES ANALGÉSICA Y ANTIINFLAMATORIA DE PLANTAS PANAMEÑAS CON ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA”**.

	Calificación	Firma
Dra. Estela Guerrero	_____	_____
Dr. Mahabir Gupta	_____	_____
Magístra. Leandra Gómez	_____	_____
Promedio y calificación final:	_____	

Dra. Delia de Garrido _____
Representante de la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado

Dra. Zilka Terrientes _____
Directora de Investigación y Postgrado
Facultad de Medicina

DEDICATORIA

Por Dios nacemos y para el vivimos, le dedico este trabajo por la oportunidad y ayuda para culminar y subir otro escalón en mi vida

Lorena Cruz

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primera instancia a mi querido esposo Miguel, por insistirme en que entrara en el programa de Maestría en Ciencias Biomédicas con Énfasis en Farmacología y apoyarme durante los ensayos

A mi madre y hermana, y a todas aquellas personas que creyeron en mí y me motivaron a culminar, porque sin duda sus palabras han sido muy valiosas

A los Profesores Asesores, Juan Antonio Morán y Estela Guerrero, porque en muchas ocasiones estuvieron con nosotros en días feos, fines de semana y desde las cinco y media de la mañana hora de inicio de los ensayos

Gracias al apoyo financiero de la Secretaría Nacional de Ciencias, Tecnología e Innovación y nuestro respeto al Dr Mahabir Gupta, por sus aportes al trabajo escrito

ÍNDICE GENERAL

	Página
PORTADA	I
HOJA DE APROBACIÓN	II
DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTO	III
ÍNDICE GENERAL	IV
ÍNDICE DE CUADROS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ABREVIATURAS	IX
RESUMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN	4
MARCO DE REFERENCIA	
I Proceso de desarrollo de un nuevo fármaco	7
A Validación de la diana y mecanismo de acción de los compuestos candidatos a fármacos	8
B Tamizado farmacológico y selección de alto rendimiento	9
C Selección del candidato para desarrollo de un nuevo Fármaco o Fitofármaco	11
II La investigación de sustancias analgésicas y antiinflamatorias	11
A Relevancia de la investigación de sustancias analgésicas	13
1 Definición de nocicepción y dolor	13
2 El dolor a lo largo de la historia	14
3 Prevalencia del dolor	19
4 Ensayos para evaluar la nocicepción en modelos animales	21
4 1 Estímulos nociceptivos térmicos	23
4 1 1 Plato caliente	23
4 1 2 Retrada de la cola	24
4 1 3 Presión en la pata (Método de Randall-Selitto)	25
4 2 Estímulos nociceptivos químicos	25
B Relevancia de la investigación de sustancias Antinflamatorias	27
1 Definición de inflamación	27
2 Aportes históricos en relación a la enfermedad Inflamatoria	28
3 Prevalencia de la enfermedad inflamatoria	30
4 Modelos de inflamación <i>in vivo</i>	31
4 1 Edema plantar por carragenina en ratas	31
4 2 Edema plantar por mediadores inflamatorios en ratas	32
4 3 Permeabilidad vascular por ácido acético	32
4 4 Modelo de granuloma inducido por Carragenina	33
4 5 Granuloma inducido por pellets de algodón en ratas	33

	Páginas
III Enfoque en la investigación de plantas medicinales	33
1 Relevancia de los productos naturales en la historia del desarrollo de fármacos	34
2 Potencial de las plantas en el desarrollo de fármacos analgésicos y antiinflamatorios	36
3 Panorama futuro de los productos naturales	47
OBJETIVOS	48
METODOLOGÍA	50
I Obtención de los extractos	51
A Recolección e identificación del material vegetal	51
B Procesamiento del material vegetal y extracción	52
II Materiales y métodos	52
A Animales	52
B Equipos	53
C Reactivos	54
D Procedimientos generales	54
E Procedimientos experimentales	55
1 Actividad analgésica	55
1 1 Modelo de contorsiones abdominales inducido por ácido acético	55
1 2 Modelo de dolor inducido por formalina	57
1 3 Modelo de plato caliente	58
2 Actividad antiinflamatoria	60
2 1 Modelo de edema plantar inducido por λ -carragenina	60
2 1 1 Modelo preventivo	60
2 1 2 Modelo curativo	62
2 2 Modelo de edema plantar inducido por serotonina o histamina	63
F Análisis y expresión estadística de los resultados	63
RESULTADOS	64
I Evaluación de la actividad analgésica	65
A Modelo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético	65
B Modelo de dolor inducido por formalina	68
C Modelo de plato caliente	71
II Evaluación de la actividad antiinflamatoria	74
A Modelo preventivo de edema plantar inducido por λ -carragenina	74
B Modelo curativo de edema plantar inducido por λ -carragenina	83
C Modelo de edema plantar inducido por histamina	85
D Modelo de edema plantar inducido por serotonina	86
DISCUSIÓN	88
CONCLUSIONES	107
BIBLIOGRAFÍA	110
ANEXOS	120

ÍNDICE DE CUADROS

		Página
Cuadro I	Antecedentes históricos que dan origen al conocimiento actual sobre el dolor	17
Cuadro II	Pruebas para valorar la nocicepción en roedores	22
Cuadro III	Datos de recolección de las plantas a ensayar	51
Cuadro IV	Porcentaje de actividad analgésica presentada por los Ext Ap-t, Ext Db-h, Ext Dp-t, Ext Ff-t, Ext Ms-t y AAS, en el modelo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético en ratones	66
Cuadro V	Efecto de los Ext Ap-t, Ext Db-h, Ext Dp-t, Ext Ff-t, Ext Ms-t, AAS y tramadol sobre el estímulo nociceptivo inducido por Formalina en ratones	70
Cuadro VI	Efecto de los Ext Ap-t, Ext Db-h, Ext Dp-t, Ext Ff-t, Ext Ms-t y tramadol sobre el dolor inducido por plato caliente en ratones	73
Cuadro VII	Efecto preventivo de los Ext Ap-t, Ext Db-h, Ext Dp-t, Ext Ff-t, Ext Ms-t e indometacina sobre el edema plantar inducido por λ -carragenina en ratas, expresado como el volumen de desplazamiento (mL) y el % de actividad antiinflamatoria	77
Cuadro VIII	Efecto curativo de los Ext Ap-t, Ext Dp-t, Ext Ms-t e indometacina sobre el edema plantar inducido por λ -carragenina en ratas	84
Cuadro IX	Efecto del Ext Dp-t, loratadina e indometacina sobre el edema plantar inducido por histamina en ratas	85
Cuadro X	Efecto del Ext Dp-t, ciproheptadina e indometacina sobre el Edema plantar inducido por serotonina en ratas	87
Cuadro XI	Revisión de las características fitoquímicas de los Extractos o géneros de los extractos ensayados	106

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Flujograma que representa el valor que poseen los estudios preclínicos en el descubrimiento de nuevos fármacos	8
Figura 2	Modelos para la evaluación de la nocicepción en animales de experimentación mediada por estímulos térmicos	24
Figura 3	Administración de sustancias irritantes	26
Figura 4	Los cuatro principales componentes de las vías respiratorias	28
Figura 5	<i>Salix sauce</i> y estructuras químicas del ácido acetilsalicílico	38
Figura 6	<i>Papaver somniferum</i> y estructuras químicas de morfina y codeína	39
Figura 7	Activación de los receptores nicotínicos	42
Figura 8	Estructura de agonistas del receptor VR1 y sus fuentes de obtención	45
Figura 9	Estructuras químicas del α -humuleno y el <i>trans</i> -canofileno	47
Figura 10	Animales de experimentación	53
Figura 11	Procedimientos generales	55
Figura 12	Modelo de contorsiones abdominales	56
Figura 13	Modelo de dolor inducido por formalina	58
Figura 14	Modelo de plato caliente	59
Figura 15	Modelo de edema plantar inducido por λ -carragenina al 1%	61
Figura 16	Numero de contorsiones totales inducidas por ácido acético en ratones tras la administración de dosis oral aguda de Ext Ap-t, Ext Db-h, Ext Dp-t, Ext Ff-t, Ms-t, AAS y CMC	67
Figura 17	Numero de contorsiones inducidas por ácido acético en ratones, observadas en los periodos de 10, 20 y 30 min tras la administración de dosis oral aguda de los diferentes tratamientos	68
Figura 18	Efecto de los Ext Ap-t, Ext Db-h, Ext Dp-t, Ext Ff-t, Ext Ms-t, AAS y tramadol sobre la nocicepción inducida por formalina en ratones	71
Figura 19	Efecto de los Ext Ap-t, Ext Db-h, Ext Dp-t, Ext Ff-t, Ext Ms-t y tramadol sobre la nocicepción inducida por el plato caliente en ratones	74
Figura 20	Efecto preventivo del Ext Ap-t e indometacina sobre el edema plantar inducido por λ -carragenina en ratas	78
Figura 21	Efecto preventivo del Ext Db-h e indometacina sobre el edema plantar inducido por λ -carragenina en	

	ratas	79
Figura 22	Efecto preventivo del Ext Dp-t e indometacina sobre el edema plantar inducido por λ -carragenina en ratas	80
Figura 23	Efecto preventivo del Ext Ff-t e indometacina sobre el edema plantar inducido por λ -carragenina en ratas	81
Figura 24	Efecto preventivo del Ext Ms-t e indometacina sobre el edema plantar inducido por λ -carragenina en ratas	82
Figura 25	Efecto curativo de los Ext Ap-t, Ext Dp-t, Ext Ms-t e indometacina sobre el edema plantar inducido por λ -carragenina en ratas	84
Figura 26	Efecto de los Ext Dp-t, loratadina e indometacina sobre el edema plantar inducido por histamina en ratas	86
Figura 27	Efecto del Ext Dp-t, ciproheptadina e indometacina sobre el edema plantar inducido por serotonina en ratas	87
Figura 28	Estructura química del alcaloide Lupanina	93
Figura 29	Estructura química del triterpeno Lupeol, aislado de <i>Diploptropis ferruginea</i>	97
Figura 30	Estructura química del triterpeno Friedelina	102
Figura 31	Foto de <i>Acosmium panamense</i> (Benth)	120
Figura 32	Foto de <i>Dalbergia brownei</i> (Jacq) Urb	122
Figura 33	Foto de <i>Diploptropis purpurea</i> (Rich) Amshoff	124
Figura 34	Foto de <i>Fissicalix fendleri</i> Benth	125
Figura 35	Foto de <i>Machaenum sp</i>	127

ABREVIATURAS

Δ^9 -THC	Δ^9 -tetrahidrocannabinol
AINE	Antinflamatorios no esteroides
AR	Artritis Reumatoide
ASS	Ácido acetilsalicílico
CIFLORPAN	Centro de Investigaciones Farmacognósticas de la Flora Panameña
CDR	Curvas Dosis-Respuesta
CMC	Carboximetilcelulosa
COX	Ciclooxigenasa
Ext Ap-t	Extracto metanólico de <i>Acosmium panamense</i>
Ext Db-h	Extracto metanólico de <i>Dalbergia browni</i>
Ext Dp-t	Extracto metanólico de <i>Diploporia purpurea</i>
Ext Ff-t	Extracto metanólico de <i>Fissicalyx fendleri</i>
Ext Ms-t	Extracto metanólico de <i>Machaenum sp</i>
EMP	Efecto máximo posible
HS-CRP	Proteína C-reactiva de alta sensibilidad
HTS	"High-throughput Screening" Método de Selección de alto rendimiento
FAAH	Ácidos grasos
IASP	"International Association for the Study Pain" Asociación Internacional para el Estudio del Dolor
iNOS	Óxido nítrico sintasa inducible
IL-1 β	Interleucina-1 beta
ILAR	Institute of Laboratory Animal Resources
OMS	Organización Mundial de la Salud

PGE-2	Prostaglandina E-2
SED	Sociedad Española del Dolor
TNFα	Factor de necrosis tumoral alfa
TXS	Tromboxano sintasa
VR	Receptores vanilloides

RÉSUMEN

EVALUACIÓN DE LAS ACTIVIDADES ANALGÉSICA Y ANTIINFLAMATORIA DE PLANTAS PANAMEÑAS CON ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA

Nombre Lorena H Cruz M
Profesores Asesores Juan A Morán y Estela Guerrero

N° de Páginas 127

Palabras claves *Acosmium*, *Dalbergia*, *Diploptropis*, *Fissicalyx*, *Machaenum*, antiinflamatoria, analgésica, edema, nocicepción

En el presente trabajo se reporta la evaluación de las actividades analgésica y antiinflamatoria de las plantas de *Acosmium panamense* (Benth) Yakovlev, *Dalbergia brownei* (Jacq) Urb, *Diploptropis purpurea* (Rich) Amshoff, *Fissicalyx fendleri* Benth y *Machaenum sp*, usando los modelos de nocicepción química de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético y nocicepción inducida por formalina, y de nocicepción térmica en plato caliente. De igual forma, la actividad antiinflamatoria de las plantas fue evaluada en los modelos preventivo y curativo de edema plantar inducido por λ -carragenina, y el edema plantar inducido por histamina y serotonina. Estos extractos metanólicos (500 mg/Kg) fueron administrados oralmente, 30 y 60 minutos antes que los agentes algésicos y antiinflamatorios, según los respectivos protocolos, con la excepción del edema plantar con λ -carragenina en su variante curativa, en donde el agente antiinflamatorio fue administrado después. Los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad analgésica demostraron, inhibición de las contorsiones abdominales inducidas por ácido acético con *Fissicalyx fendleri* (45.15 %), *Acosmium panamense* (39.69 %) y *Machaenum sp* (18.19 %) con respecto al grupo control. En la prueba de algesia inducida por formalina en la primera fase (0-5 min) las plantas no mostraron un efecto inhibitorio significativo a diferencia de la segunda fase (15-30 min) en donde todas demostraron una inhibición de la algesia significativa, donde el mayor porcentaje de inhibición se reportó con *Machaenum sp* (91.38 %). En el modelo de nocicepción térmica (plato caliente) resultados concluyentes fueron reportados solamente para *Fissicalyx fendleri*. Las plantas que generaron una actividad antiinflamatoria significativa en el modelo preventivo *Acosmium panamense*, *Diploptropis purpurea* y *Machaenum sp* se emplearon en la variante curativa de edema plantar inducido por λ -carragenina. Para la planta de *Diploptropis purpurea*, único extracto ensayado en los modelos de edema plantar inducido por histamina y serotonina sus propiedades antiinflamatorias evidenciadas durante nuestra investigación, no mostraron sean determinadas por su capacidad para modular las acciones de histamina o serotonina.

SUMMARY

Antiinflammatory and analgesic activities of the methanolic extracts of panamanian plants with activity antiproliferative

Name Lorena H Cruz M
Director Juan A Moran P y Estela Guerrero

Pages 127

Keywords *Acosmium*, *Dalbergia*, *Diploptropis*, *Fissicalyx*, *Machaenum*, antiinflamatorna, analgésica, oedema, nociception

In the present study we have evaluated the antiinflammatory and analgesic activity of *Acosmium panamense* (Benth) Yakovlev, *Dalbergia brownei* (Jacq) Urb, *Diploptropis purpurea* (Rich) Amshoff, *Fissicalyx fendlen* Benth and *Machaenum sp*, by two experimental models involving a chemical stimulus (acetic acid-induced abdominal writhing and formalin-induced nociception tests) and a model of thermal stimulus (hot plate test) The antiinflammatory activity was evaluated by carrageenan, histamine and serotonin-induced paw oedema tests This methanol extract (500 mg/Kg) was given orally, 30 y 60 min prior to algesic and antiinflammatory agents, according to approval protocols with the exception carrageenan- induce paw oedema (curative variant), wherein the antiinflammatory agent was administered later The results of evaluation analgesic activity, showed inhibition of writhing induced by acetic acid with *Fissicalyx fendlen* (45 15 %), *Acosmium panamense* (39 69 %) and *Machaenum sp* (18 19 %) compared to the control group In testing algesia induced by formalin in the first phase (0-5 min) plants showed no significant inhibitory effect unlike the second phase (15-30 min) where all demonstrated a significant inhibition of algesia, where the highest percentage of inhibition is reported with *Machaenum sp* (91 38 %) In the model of thermal nociception (hot plate) conclusive results were reported only for *Fissicalyx fendlen* The plants that generated a significant anti-inflammatory activity in the preventive model *Acosmium panamense*, *Diploptropis purpurea* y *Machaenum sp* were used in carrageenan- induce paw oedema (curative variant) During our research, *Diploptropis purpurea*, unique extract tested in models of histamine and serotonin induced paw oedema showed not be determined by their ability to modulate the actions of histamine o serotonin

INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido utilizadas tradicionalmente por diferentes culturas y civilizaciones en preparaciones empíricas utilizando el extracto crudo en forma de emplastos, tinturas, té o polvos con fines medicinales (Poll, 2007) Según la OMS, el 80% de la población mundial en algún momento ha recurrido a la medicina tradicional incluyendo el uso de las plantas medicinales. Tan sólo en los Estados Unidos se ha observado que el 25% de las prescripciones contienen extractos de plantas o principios activos obtenidos de ellos y alrededor de 119 sustancias químicas derivan de 90 especies de plantas, en donde el 74% han sido el resultado de estudios químicos o del aislamiento de los principios activos de plantas usadas en la medicina tradicional (Laza, 2003). El aislamiento de compuestos activos como morfina (Gómez, 2006), codeína y aspirina, a partir de plantas medicinales despertaron el interés de la estandarización y el perfeccionamiento de nuevas técnicas experimentales.

Algunos de los métodos de selección de plantas para realizar investigaciones se orientan por los usos nativos de las plantas y el valor medicinal que a éstas se les adscriben (estudios etnobotánicos) o por bioprospección, herramienta utilizada para la selección de las plantas objeto de estudio. Nuestro interés científico tiene por objetivo general, el empleo de modelos experimentales validados para determinar el perfil de actividad analgesia y antiinflamatoria de los diversos extractos metanólicos de plantas medicinales panameñas pertenecientes a la familia de las Fabaceae reconocidas por sus propiedades antiproliferativas (Wang, 2011) antimalaria (Ajayioba, 2013), Hepatoprotectiva

(Yahya, 2013), antimicrobianas (Pereira, 2006) y antioxidantes (Mokgotho, 2013) Consientes que mundialmente existen miles de personas que sufren por dolor o inflamación crónica, siendo en muchos casos difíciles de tratar y convirtiéndose en un campo de investigación de interés para el desarrollo de nuevos medicamentos

En las siguientes secciones se describe como **Marco de Referencia**, el proceso de desarrollo de un nuevo fármaco, la investigación de sustancias analgésicas y antiinflamatorias y un enfoque en la investigación de plantas medicinales Seguido se detalla la **Metodología**, incluyendo la obtención de los extractos, materiales y métodos Se presenta un reporte completo de los **Resultados** de la evaluación de la actividad analgésica y antiinflamatoria de las plantas y la **Discusión** de nuestros hallazgos Por ultimo, incluimos nuestras **Conclusiones** y la **Bibliografía** citada Como **Anexos**, incluimos la descripción taxonómica de las plantas estudiadas

MARCO DE REFERENCIA

I. PROCESO DE DESARROLLO DE UN NUEVO FÁRMACO

Luego de años de investigación en el proceso de descubrimiento de un fármaco (identificación del blanco y validación del candidato a fármaco) aun queda un largo camino por recorrer antes que el proceso de desarrollo de un fármaco finalice. El desarrollo de un fármaco abarca aspectos relacionados con la seguridad, eficacia, formulación y fabricación. Normalmente, los estudios de seguridad inician con los estudios preclínicos antes que los estudios clínicos sean realizados (Figura 1). Diferentes empresas asignan nomenclatura variada para cada etapa y también difieren en los requisitos para la transición de candidatos a fármacos entre las diferentes etapas. Sin embargo, el proceso puede ser descrito de forma genérica y nos servirá para desarrollar la utilidad que poseen los modelos animales en la comprensión de la fisiopatología del dolor, así como su uso en el descubrimiento de fármacos analgésicos y antiinflamatorios (Kruger, 2010).

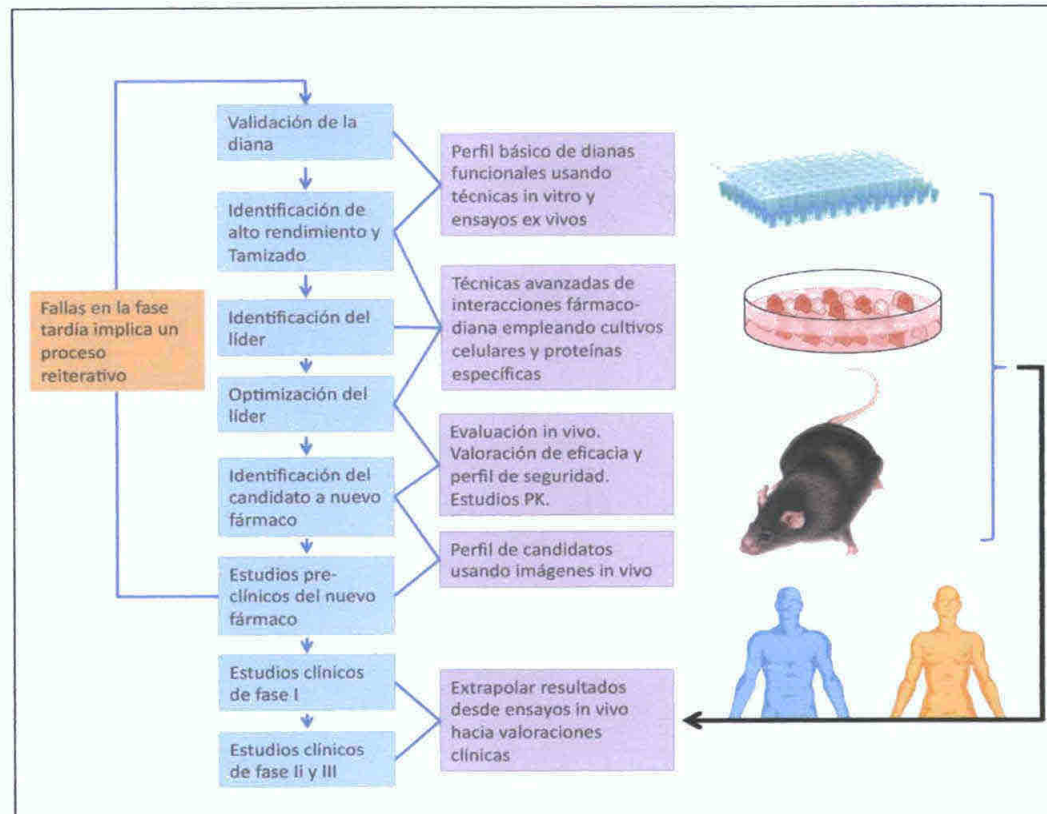


Figura 1. Flujograma que representa el valor que poseen los estudios preclínicos en el descubrimiento de nuevos fármacos, incluyendo la validación inicial de la diana, identificación del cabeza de serie (líder), optimización del líder, hasta llegar a las fases clínicas de la investigación.

A. VALIDACIÓN DE LA DIANA Y MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS COMPUESTOS CANDIDATOS A FÁRMACOS

En este punto los trabajos de investigación tienen como objetivo reconocer los mecanismos por los cuales una molécula endógena, proceso o vía de señalización, está vinculado al estado de la enfermedad (O'Connell y Roblin 2006). Mientras que la identificación proporciona objetivos potenciales, la validación de la diana demuestra con alta certeza que son una parte integral de un modelo de enfermedad. Para los propósitos de descubrimiento de fármacos, también hay que determinar si la molécula, proceso o vía pueden

ser manipulados con el fin de detener o revertir la enfermedad o aliviar los síntomas. Los blancos son más comúnmente proteínas, tales como receptores acoplados a proteínas G, canales iónicos, enzimas, o transportadores. Hay varias estrategias para la validación de dianas. Los modelos *in vivo*, empleando animales de experimentación, se utilizan con el objeto de validación de las dianas, al igual que pueden emplearse con el mismo fin, muestras de tejidos y fluidos de seres humanos y animales.

Un enfoque farmacológico generalmente utiliza una pequeña molécula que interactúa con el blanco. La molécula pequeña puede ser un fármaco utilizado para validar un objetivo en una nueva enfermedad, o puede ser una molécula de herramienta que tiene características inadecuadas para convertirse en un fármaco, pero puede ser útil para validar una diana en un modelo animal. En la mayoría de los ensayos empleados en el desarrollo de nuevos fármacos, a esta sustancia se le conoce como "patrón". Ninguna de las técnicas farmacológicas empleadas en la evaluación de un candidato a fármaco es impecable. Por esta razón, a menudo se emplean enfoques múltiples o combinados con el fin de mejorar la confianza de los resultados obtenidos y que justifiquen la investigación adicional hacia los largos y costosos ensayos clínicos.

B. TAMIZADO FARMACOLÓGICO Y SELECCIÓN DE ALTO RENDIMIENTO

El tamizado o screening farmacológico, así como el método de selección de alto rendimiento (HTS, de sus siglas en inglés High-throughput Screening),

representan, cada uno a su manera, formas de identificar entre un grupo de compuestos o extractos de plantas, aquellos que describan un mejor perfil. En el caso del tamizado, se corresponde con un conjunto de pruebas, la mayoría de ellas observacionales, que lo que buscan es identificar los efectos macros de los compuestos o productos ensayados. Para este tipo de ensayos se emplean principalmente roedores. Además de datos de actividad farmacológica, el tamizado permite valorar la toxicidad de los agentes evaluados (Mrad, 1989).

Lo que respecta a la selección de alto rendimiento, se trata de un método para la experimentación científica, utilizado especialmente en el descubrimiento de fármacos y que integra los campos de la biología y la química. El uso de la robótica, procesamiento de datos y software, dispositivos para manejo de líquidos y detectores sensibles, empleados en el cribado de alto rendimiento, permiten al investigador realizar rápidamente millones de ensayos químicos o farmacológicos. A través de este proceso se pueden identificar rápidamente compuestos activos, anticuerpos, o genes que modulan una vía biomolecular particular (Wagner, 2006). Los resultados de estos experimentos proporcionan puntos de partida para el diseño de fármacos y para la comprensión de la interacción o papel de un proceso bioquímico particular, en biología. Pese a la rapidez con la que se pueden obtener estos resultados, a menudo no son perfectos. Esta es la razón por la cual, los modelos animales se emplean a menudo en esta etapa para asegurar que los resultados del HTS, se traduzcan en un perfil farmacocinético y una eficacia aceptable *in vivo*.

C SELECCIÓN DEL CANDIDATO PARA DESARROLLO DE UN NUEVO FÁRMACO O FITOFÁRMACO

Esta fase permite la selección de un pequeño número de candidatos a fármacos, o en el caso de los extractos provenientes de plantas, seleccionar uno o varios fitofármacos (Kruger, 2010). Los primeros ensayos son valiosos, pero a partir de este punto los productos seleccionados, son sometidos a diferentes estudios, empleando múltiples modelos experimentales. Los nuevos ensayos tienen como finalidad generar un perfil farmacológico, además de generar datos de seguridad y toxicidad.

Los modelos empleados van a variar de acuerdo con el tipo de actividad que se está investigando (Kruger, 2010). Invariablemente, en esta fase del desarrollo de un nuevo fármaco, se contempla la utilización de modelos *in vitro* e *in vivo*. En esta etapa, se genera un número importante de curvas dosis-respuesta (CDR), que se emplean para generar datos de eficacia y potencia. En el diseño de la investigación se incluye la evaluación de la molécula en modelos que reproduzcan la patología para la cual se pretende corroborar su eficacia. Finalmente, se investiga el efecto de la administración crónica del compuesto con la finalidad de observar si se produce taquifilaxia, o si el compuesto induce efectos adversos con tratamientos a más largo plazo.

II LA INVESTIGACIÓN DE SUSTANCIAS ANALGESICAS Y ANTIINFLAMATORIAS

Históricamente, los fármacos analgésicos y antiinflamatorios tuvieron sus orígenes en el descubrimiento fortuito a partir del uso que se les daba a

ciertas plantas y extractos de éstas, en el alivio del dolor, la fiebre y la inflamación. A partir del descubrimiento de los salicilatos en el siglo XIX, se inicia la era moderna de la investigación destinada al desarrollo de fármacos empleados en el abordaje del dolor y la inflamación. A partir de este primer compuesto se pudo sintetizar al ácido acetilsalicílico (Aspirina®). Del mismo modo, los avances químicos de finales del siglo XIX y principios del XX conducen al desarrollo de los medicamentos antiinflamatorios no esteroides (AINE).

En el presente, los modelos para evaluar las actividades analgésicas y antiinflamatorias, así como la detección de los mediadores que participan en estos procesos, han sido la clave para el desarrollo de nuevos analgésicos y nuevos antiinflamatorios.

Es así como el conocimiento más profundo que se tiene de ambos procesos, ha llevado a establecer nuevas rutas o dianas novedosas para lograr obtener nuevos fármacos, algunos de ellos generados con base en las acciones que pueden ejercer sobre las diferentes mediadores, dianas o señales de transducción y, que hoy día, además de la inhibición de la COX, se incluyen citoquinas, bradicininas, leucotrienos, interleucinas, entre muchos otros (Rainsford, 2007).

De esta forma podemos decir que lo que comenzó como medicamentos para controlar la inflamación, el dolor y la fiebre, en los dos últimos siglos ha explotado para revelar una enorme variedad y tipo de agentes terapéuticos, y paralelamente el descubrimiento de nuevas dianas. Todos estos aspectos se suman para lograr la obtención de fármacos útiles en el tratamiento de una

amplia gama de condiciones patológicas, para las cuales hasta ahora no se preveía una terapia eficaz

A RELEVANCIA DE LA INVESTIGACIÓN DE SUSTANCIAS ANALGÉSICAS

1. DEFINICIÓN DE NOCICEPCIÓN Y DOLOR

La distinción entre la nocicepción y el dolor es importante tenerla en cuenta cuando en los ensayos preclínicos se utilizan modelos murinos. De acuerdo con la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), nocicepción se define como "los procesos neuronales de codificación y procesamiento de los estímulos nocivos", mientras que el dolor es "una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con daño tisular real o potencial o descrita en términos de dicho daño" (Loeser y Treede, 2008)

La nocicepción incluye por tanto los mecanismos por los cuales los estímulos nocivos son detectados por el sistema nervioso periférico, codificados, transferidos, e inconscientemente tratados por el sistema nervioso. La detección se garantiza mediante transductores moleculares específicos asumidos por las neuronas nociceptivas cuyos cuerpos celulares se agrupan en la raíz dorsal o ganglios del trigémino. Esta señal aferente se trata a continuación por las redes complejas en el asta dorsal de la médula espinal (Todd, 2010) o su equivalente en el tronco cerebral. Este tratamiento es bajo la influencia tanto de la información sensorial y controles descendente desde el cerebro. La nocicepción incluye también parte del tratamiento de la información por el cerebro, así como algunas de las respuestas reflejas para

proteger el organismo. En contraste, el dolor es una experiencia consciente que requiere el tratamiento cortical y la interpretación aversiva de la información nociceptiva. Es una experiencia subjetiva y compleja con un componente afectivo necesario, junto con componentes sensoriales discriminativos, autonómicos, y cognitivos. Aunque la nocicepción y el dolor aparecen estrechamente vinculados, la evidencia clínica demuestra que se pueden disociar una de la otra. En los pacientes, el dolor es evaluado y cuantificado por la expresión verbal, lo cual no es posible en los roedores. Por lo tanto, lo que se conoce comúnmente como "pruebas de dolor" en roedores, de hecho son pruebas nociceptivas, y la determinación preclínica del dolor en sí, sigue siendo un reto para la investigación.

Tanto la nocicepción como el dolor son elementos críticos para la supervivencia (Le Bars *et al*, 2001). Ofrecen un sistema de alarma que tiene la capacidad de iniciar una respuesta adaptativa inmediata, que puede evolucionar hacia la resolución y mejora de una condición anómala. A pesar de esta importante función fisiológica, son críticos cuando pierden su pertinencia como un sistema de alarma, y esto ocurre cuando el dolor se convierte en crónico o disociado de una lesión real. Esto requiere de tratamientos adecuados, cuyo desarrollo puede beneficiarse de pruebas y modelos preclínicos (Negus *et al*, 2006 y Mogil *et al*, 2010).

2. El dolor a lo largo de la historia

"El dolor está extendido en la tierra en proporción infinitamente más vasta que la alegría. Quien crea que no ha sufrido, solamente tiene que tener un poco de paciencia"

Seneca

Dolor y enfermedad han sido un binomio lacerante que ha acompañado al hombre a lo largo de toda su historia (Pérez-Cajaraville, 2005), y de allí que la anestesia y analgesia son conceptos que se remontan a civilizaciones antiguas. Para el hombre primitivo sólo el dolor postraumático era justificable y los demás eran asociados al castigo de los dioses o se les confería connotaciones mágicas. Etimológicamente tanto "dolor" en español, como "pain", en inglés, derivan del latín. Es posible que el síntoma más antiguo, como expresión de sufrimiento sea el dolor pues existe desde que aparece el hombre sobre la tierra (Krivoy, 2010). Es así como la condición patológica, cualesquiera que sea esta, permanece oculta o por lo menos suele ser tolerada sólo hasta que aparece el dolor.

"El dolor es para la humanidad un tirano más temible que la misma muerte "

Es la forma como el médico, filósofo y Premio Nobel de la Paz, Albert Schweitzer, describe una condición que trasciende todas las esferas históricas, culturales y sociales. El dolor es una patología por sí misma, aunque algunas veces sea la evidencia de un mal más profundo. Millones de personas en todo el mundo padecen dolor, miles de científicos escriben sobre él y el dolor es tan antiguo como la humanidad misma, sin embargo, en la actualidad es uno de los problemas de mayores dimensiones a los que se enfrentan quienes lo padecen y quienes intentan aliviarlo (Zegarra, 2007, Ho, 2009). Es así como el tratamiento eficaz del dolor, cualquiera que sea su origen, intensidad o evolución, es un tema pendiente entre la comunidad médica y científica.

El dolor es un mecanismo de protección que, sin un tratamiento eficaz, se convierte en un problema de salud que afecta la calidad de vida del paciente. En la mayoría de los casos, el dolor es un indicativo de lesión tisular, por la que en un número importante de patologías, es esa lesión, caracterizada por inflamación, la que desencadena los estímulos algésicos. Quizás se ha comprendido mejor al binomio "dolor-inflamación" cuando se han logrado dilucidar que los mecanismos y mediadores implicados en una, también están presentes en la otra. Esta particularidad es lo que hace que existan fármacos que poseen de manera indistinta ambas indicaciones. Hasta ahora los medicamentos más comúnmente utilizados para tratar estos padecimientos pueden agruparse de la siguiente manera: los agentes antiinflamatorios esteroideos, considerados los más potentes antiinflamatorios, y los analgésicos, antipiréticos, antiinflamatorios no esteroideos (AINE). También existen dos grupos importantes y bien diferenciados de analgésicos: los analgésicos opioides y los analgésicos no opioides (Shewale *et al*, 2012).

Cuadro I: Antecedentes históricos que dan origen al conocimiento actual sobre el dolor

Fecha	Acontecimiento histórico relacionado con el dolor
460-377 a.C.	Aristóteles fue el primero en plantear el dolor como "una alteración del calor vital del corazón", a su vez determinado por el cerebro (veía al corazón como motor y origen de dolor).
130-200 d.C.	Galeno define el dolor como una "sensación originada en el cerebro".
Siglo XI	Avicena , médico persa, escribe un importante tratado "El canon de la Medicina" en donde resalta la anatomía de los receptores para el dolor en el ventrículo anterior. Describe unos quince tipos de dolor e inflamación.
Renacimiento	Leonardo Da Vinci hace una descripción anatómica de los nervios en el cuerpo humano y los relaciona directamente con el dolor, confirmando la teoría galénica sobre el cerebro como motor central del dolor. Considero el tercer ventrículo como estructura receptora de las sensaciones y la médula como conductora de estímulos.
1664	Descartes aportó el concepto que el dolor viaja por finas hebras, apoyando con sus teorías a Galeno. Definió los nervios como "tubos" que transmitían sensaciones directamente al cerebro y de allí a la glándula pineal. Lo anterior, se refleja en su libro " <i>L Homme</i> ", en un dibujo de un niño y su pie asentado sobre fuego.
Siglo XIX	El científico francés, François Magendie y el británico Charles Bell , explicaron, cada uno por separado, las funciones de las raíces espinales, promulgando las astas posteriores como centro de confluencia de la sensibilidad dolorosa, y a las anteriores como las encargadas del control motor.
1840	Johannes Peter Müller anatomista y fisiólogo alemán, establece la importancia del sistema nervioso en la transmisión del dolor, poniendo las bases de la moderna neurofisiología.
1894	El fisiólogo austro-alemán Maximillian Von Frey , defiende que el dolor es una sensación equiparable a cualquier otro de los sentidos, perpetuando así la teoría de Avicena y Descartes (Teoría de la especificidad o sensorial).

Fecha	Acontecimiento histórico relacionado con el dolor
	Una segunda teoría defendida por Goldscheider (inicialmente formulada por Erasmus Darwin basada en criterios Aristotélicos) decía que el dolor nacía de la excesiva estimulación del sentido del tacto, presión, frío o calor (Teoría de la intensidad). Tanto esta última como la Aristotélica, van perdiendo criterio y permanece la sensorial hasta los estudios posteriores de Melzack y Wall.
1939	René Leriche cirujano francés, es el primero en publicar la idea de dolor crónico como enfermedad en su libro "La cirugía del dolor".
1942-43	Livingston comienza a explicar el mecanismo del dolor de la causalgia y sus estados afines, creando un laboratorio de investigación en dolor.
1946	Henry K. Beecher investigó la respuesta al placebo y realizó observaciones sobre el dolor en los heridos de la Segunda Guerra Mundial.
1953-1960	John J. Bonica en 1953, publica "The management of Pain" un libro de 1500 páginas exclusivamente sobre el tratamiento del dolor e impulsa las Unidades de Dolor. En 1960 crea la primera clínica multidisciplinaria del dolor (psiquiatra, cirujano ortopédico y un neurocirujano) que ha servido de modelo para multitud de clínicas en todo el mundo.
1965	Ronald Melzack y Patrick D. Wall publican la teoría de la Puerta de Entrada, reconociendo al sistema nervioso como modulador de la información sensorial tanto en las sinapsis primarias como en el cerebro. Describieron las vías nerviosas del dolor y establecieron la existencia del sistema nervioso central y periférico.
1973	Organizado por John J. Bonica en Seattle, se realiza el primer simposio internacional sobre dolor y tratamiento. Nacen las bases para la creación de la IASP.
1975	La IASP edita desde 1975 la revista Pain , dedicada exclusivamente a la investigación en dolor.
1986	Se publica la primera revista especializada en lengua española, Dolor.

Fecha	Acontecimiento histórico relacionado con el dolor
1991	Fundación de la Sociedad Española del Dolor (SED) capítulo español de la IASP. Trabajos como los de Clifford Wolf y Bennett puntualizan el importante papel de los receptores N-metil -D-Aspartato en la génesis de un estado de sensibilización central, produciendo dolor crónico.
1994	Se inicia la publicación de la Revista de la Sociedad Española del Dolor (página web: www.sedolor.es)
1996	Se realizan investigaciones en nuevos mediadores de la inflamación como los canales de sodio y calcio, relacionados directamente con la transmisión de las fibras aferentes.

Modificado de Pérez-Cajaraville, 2005

3. Prevalencia del dolor

En el mundo el dolor representa un evidente problema de salud pública, por ejemplo, tan solo en los Estados Unidos la prevalencia de dolor crónico es del 35%, siendo los principales los de origen osteoarticular, lumbalgias, migraña y cáncer; afectándose la calidad de vida, el desempeño social y laboral de los pacientes (Palanca Sánchez *et al.*, 2011). En Europa, el dolor crónico afecta alrededor del 19% de la población general (Breivik, 2006); mientras que en Canadá afecta por lo menos al 29% y entre 17-20% de la población en Australia (Ho, 2009).

Para optimizar el diagnóstico y resultados favorables en su tratamiento, es importante delimitar los rasgos específicos de lesión tisular, la evolución en el tiempo, el sitio y la hipersensibilidad al contacto donde el paciente refiere el

dolor, debido a que distintas enfermedades producen patrones característicos

Cada año mueren 6 millones de personas en el mundo por cáncer; en el momento del diagnóstico de una neoplasia, entre el 30-50% de los pacientes presentan dolor, y en las fases avanzadas de la enfermedad puede llegar al 70-90% (Puebla Díaz, 2005) Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el año 2010, el cáncer sena la principal causa muerte en nuestra región y es conocido que el 80% de estos pacientes mueren con diferentes grados de dolor En el año 2013 monrán 62 millones de personas en el mundo por enfermedades cardiovasculares (38%), cáncer (15%), enfermedades crónico degenerativas (30%) y por VIH (17%) Para el 2020 se duplicará la incidencia del dolor por cáncer en el mundo y el 70% de los casos nuevos serán en países en desarrollo como los nuestros Se estima que para el año 2050 en el mundo habrá 2 mil millones de personas con dolor crónico

Una encuesta realizada a finales de los años noventa por la Sociedad Española del Dolor (SED), reveló que el dolor tiene una alta prevalencia y un gran impacto individual, familiar, laboral, social y económico incidiendo en el 56% de las relaciones de la vida diana (De Barutell, 2009) Entre los participantes, el 30% de la población refiere haber padecido dolor en los días previos y se observó, que de la tercera parte de la población que refiere haber tenido dolor, el 60,5% lo padecía desde hacía más de tres meses El dolor parece aumentar con la edad, afectando al 42,6% de los adultos mayores de 65 años y la mujer es más comunmente afectada La población joven padece mayormente de dolores de cabeza, mientras que los adultos

mayores (> 65 años) mayormente dolor en las extremidades inferiores. Hasta el 61,7% de las personas con dolor toman algún medicamento y hay un 29% de autoprescripción ante la presencia de dolor (De Barutell, 2009)

4 ENSAYOS PARA EVALUAR LA NOCICEPCIÓN EN MODELOS ANIMALES

Durante mucho tiempo, la ciencia básica del dolor y la investigación preclínica en fármacos para el abordaje terapéutico del dolor estuvo basada esencialmente en las pruebas nociceptivas realizadas en animales nativos. Pese a que se dieron grandes avances en el campo del dolor, el aporte de estas pruebas para el desarrollo de nuevos tratamientos era cada vez más limitado. Así, en la actualidad, la mayor relevancia de la investigación preclínica ocurre cuando se asocian modelos de dolor y pruebas de nocicepción (Barrot, 2012)

Las pruebas para valorar la nocicepción utilizan estímulos eléctricos, térmicos, mecánicos o químicos (Le Bars *et al*, 2001). Algunos de ellos se basan en la latencia de la aparición de un comportamiento de evitación, por lo general un reflejo de retrada de la pata o la cola. Las pruebas nociceptivas también pueden determinar el umbral de estímulo necesario para provocar una conducta de evitación. En este caso, el estímulo es cualquiera de las variables, con el aumento de valor.

Los resultados obtenidos en la mayoría de pruebas nociceptivas muestran una variabilidad interindividual relativamente baja en comparación con lo que se observa en otros campos de estudios de comportamiento. Como consecuencia, los experimentos en las respuestas nociceptivas a menudo

pueden llevar a cabo con un menor número de animales que lo que sería necesario para estos otros estudios (Le Bars *et al.*, 2001). Aún así, la medida de la respuesta nociceptiva en roedores requiere experiencia en el campo del comportamiento para evitar las trampas experimentales y artefactos potenciales. En la investigación farmacológica, la elección de la prueba es un paso crítico. En este punto, las pruebas clásicas realizadas en roedores se describen brevemente en el **Cuadro II**.

Cuadro II. Pruebas para valorar la nocicepción en roedores

Test	Modalidad	Estímulo	Parámetro evaluado	Grado de estandarización
Retiro de la cola (Tail flick)	Térmico (calor)	T° fija	Latencia de retirada	+++
Plato caliente	Térmico (calor)	T° fija (48-55 °C)	Latencia de retirada o salto	+++
Plantar®	Térmico (calor)	T° fija	Latencia de retirada	+++
Plato frío	Térmico (frío)	T° fija	Número de tanteos (mordidas/lamidas)	+/-
Test de acetona	Térmico (frío)	T° fija	Número de tanteos (mordidas/lamidas) y duración del comportamiento nociceptivo	+
Randal-Selito	Mecánico	Presión en la pata		+++
Test de formalina	Químico	Administración en la pata	Número de tanteos (mordidas/lamidas) y duración del comportamiento nociceptivo	+++
Test de ácido acético	Químico	Administración peritoneal	Número de contorsiones abdominales	+++

+++ , test clásico estandarizado; +, test con ligeras dificultades técnicas; +/-, procedimientos delicados. Tomado y modificado de Barrott, 2012.

4.1 Estímulo nociceptivo térmico

En las pruebas que miden la respuesta nociceptiva tras la aplicación de estímulos térmico, pueden emplearse tanto ratas y como ratones. Por lo general, están diseñadas para observar la respuesta nociceptiva entre 5 y 10 s. Por encima de estos valores, el riesgo de errores en la medición aumenta por la presencia de un movimiento de los animales que no necesariamente guarda relación con el estímulo nociceptivo. El observador puede detener el estímulo automáticamente cuando el animal responde, como es el caso de la retrada de la cola. Para plato caliente, el científico debe retirar el animal inmediatamente, tan pronto como se observe la respuesta. Para todas las pruebas, se define un tiempo de corte o de máxima exposición al estímulo para evitar o limitar los riesgos de lesión. Estas pruebas permiten a menudo las medidas repetidas, pero son sensibles al estrés y la analgesia inducida por estrés. Como consecuencia, la primera medida puede dar una mayor latencia que las posteriores (Le Bars *et al* , 2001)

4.1.1 Plato Caliente

La prueba del plato caliente, desarrolladas por Woolfe y MacDonald, (1944) y adaptada por O'Callaghan y Holtzman, (1975), es otra prueba clásica en el campo de estudio de la analgesia (**Figura 2a**). La temperatura generalmente se controla entre 52 y 55 ° C, ya que esta configuración permite la observación de las latencias basales entre 5 y 10 s, determinada por "lamida de la pata" y "salto". Algunos estudios se basan específicamente en la latencia de salto, en particular en ratones. Sin embargo, este parámetro se debe utilizar con precaución, ya que se traduce en latencias más largas, que

pueden plantear cuestiones éticas. El evaluador deberá considerar que pequeñas diferencias en la temperatura de la placa pueden dar lugar a diferencias importantes en la latencia de respuesta. Esto se controla utilizando placas de diseño confiable, con un ajuste rápido de los cambios de temperatura y con una precisión de 0,1 ° C. Aunque la prueba es fácil de realizar, el equipo no está automatizado, y el temporizador se inicia y se detiene por el experimentador.

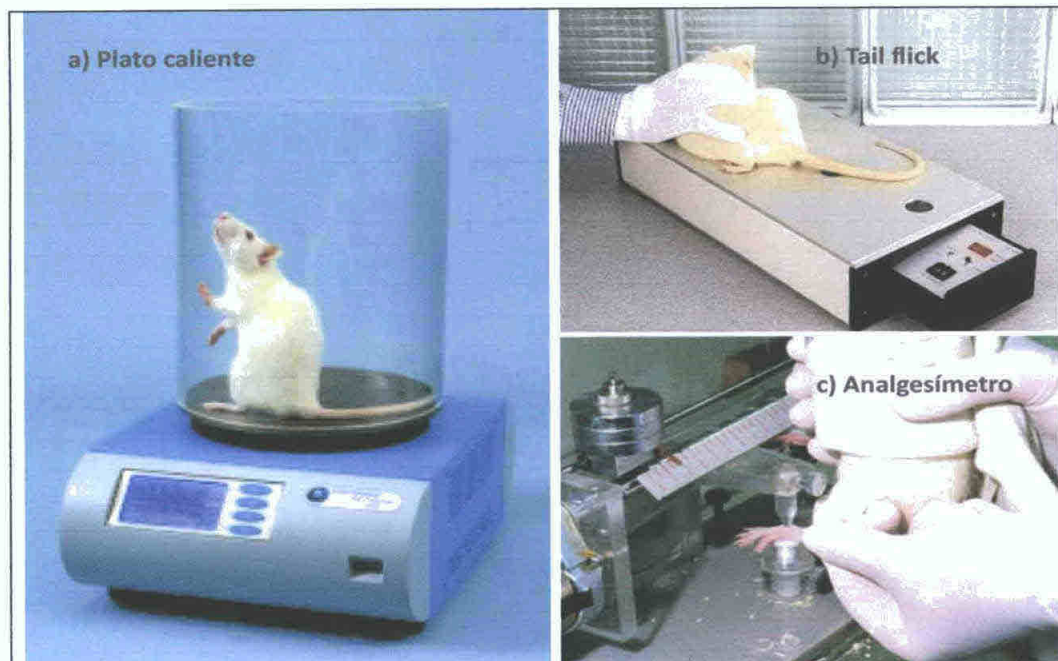


Figura 2. Modelos para la evaluación de la nocicepción en animales de experimentación, mediada por estímulos térmicos. a) Plato caliente, b) Retirada de la cola "Tail flick", c) Presión de la pata (Analgesímetro).

4.1.2 Retirada de la cola

La retirada de la cola es una de las pruebas nociceptivas más antiguas (D'Amour y Smith, 1941). El parámetro medido es la latencia con la que se presenta el reflejo de retirada de la cola después de su exposición a un

estímulo térmico El estímulo puede ser aplicado por inmersión de la punta de la cola en un baño a una temperatura controlada o mediante la exposición de la cola a una lámina de calor infrarrojo, también controlado (**Figura 2b**) En este último caso, el aparato permite una detección automática de la retirada de la cola y la medida de su latencia La retirada de la cola es un reflejo espinal, pero está sujeto a influencias supraespinales que pueden afectar a este reflejo (Yaksh y Rudy, 1978 y Millan, 2002) Esta prueba es muy sensible a los opiáceos (Le Bars *et al* , 2001)

4 1 3 Presión de la pata (método de Randall-Selitto)

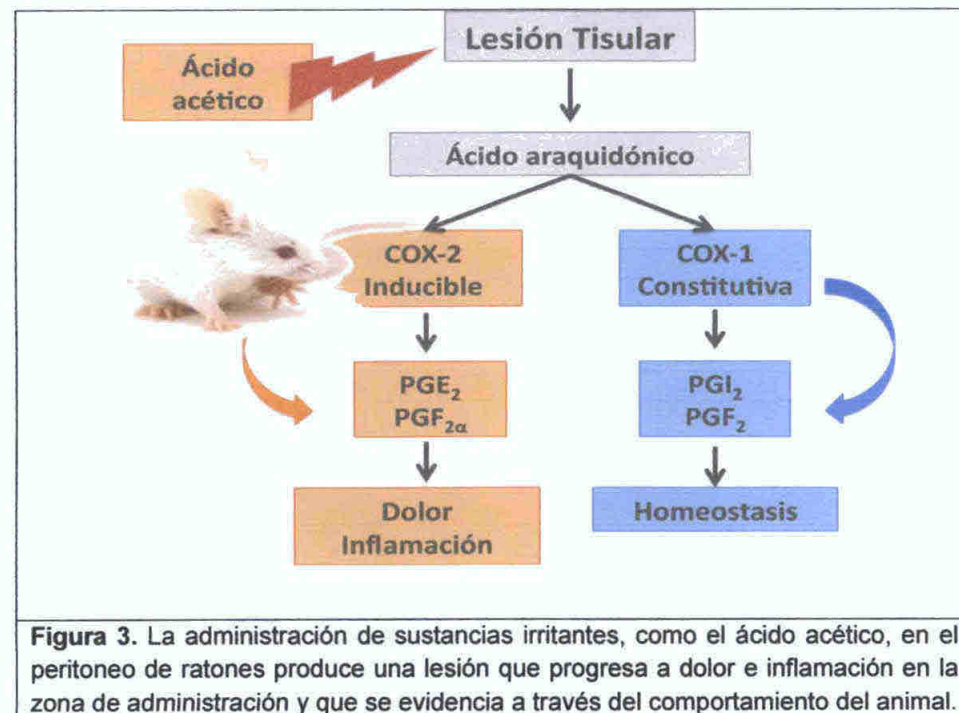
Existen muchas variantes para este método, algunas de ellas muy rudimentarias Para mejorar la precisión de las determinaciones se emplea el analgesímetro (**Figura 2c**), que es el dispositivo clásico para llevar a cabo experimentos de presión de la pata de acuerdo con el método de Randall-Selitto La fuerza se aplica a la pata animal, que se coloca en un pequeño espacio bajo un empujador en forma de cono con una punta redondeada Típicamente, el método se utiliza para la detección rápida y sensible de fármacos analgésicos y antiinflamatorios (Santos-Nogueira *et al* , 2012)

4 2 Estímulos nociceptivos químicos

Los modelos de nocicepción mediada por estímulos químicos, describen manipulaciones de los animales realizadas con el fin de generar un estado que comúnmente se manifiesta como hipersensibilidad, tales como la hiperalgesia, definida como una sensibilidad aumentada a un estímulo doloroso, alodinia, una respuesta dolorosa a un estímulo normalmente no

doloroso; o ambos. Comúnmente los modelos de nocicepción química pueden dividirse en tres grupos principales:

- a) Inyección local de una sustancia algésica, como la capsaicina, la bradicinina o ácido acético diluido (Le Baars, 2001, Mohd *et al.*, 2012) **(Figura 3).**
- b) Inyección de sustancias, ya sea local o sistémicamente, que causan una respuesta inflamatoria y el estado algésico sobreviene posterior a la inflamación. Ejemplos de tales sustancias incluyen carragenina, y zymosan, que pueden ser administradas en el peritoneo o pleura del animal (Da Rocha *et al.*, 2012).
- c) Inducción de lesión directa en el sistema nervioso, ya sea mecánica, metabólica o química. Ejemplos de cada uno incluyen la ligadura del nervio espinal (mecánica), el tratamiento con estreptozotocina (metabólica) y el tratamiento con taxol (química) (Courteix *et al.*, 1993).



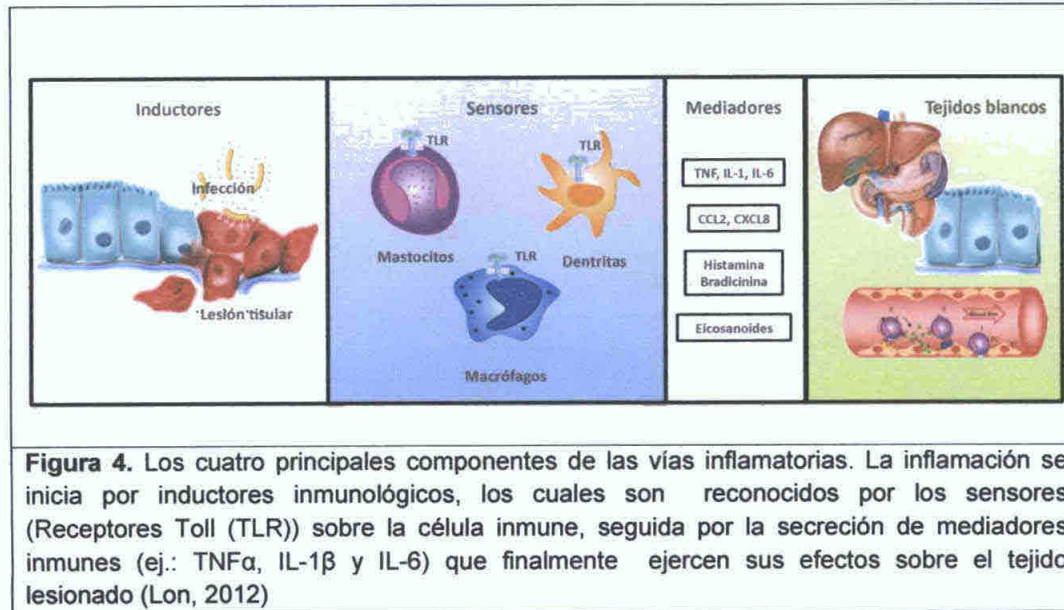
De esta manera, la extensión de la hipersensibilidad se puede medir, al igual que se puede evaluar la inversión de dolor por intervención farmacológica

B RELEVANCIA DE LA INVESTIGACIÓN DE SUSTANCIAS ANTIINFLAMATORIAS

1 DEFINICIÓN DE INFLAMACIÓN

La inflamación, al igual que el dolor, es una respuesta fisiológica y necesaria para la supervivencia del organismo. La palabra inflamación deriva del latín "inflammare", que significa encender fuego. La inflamación es una matriz de la respuesta inmune a la infección y a las lesiones. Es el resultado de una cascada compleja que involucra al sistema inmunológico y es la base de muchas enfermedades crónicas tales como la artritis, la aterosclerosis, la diabetes y el cáncer, entre otras (Barrero, 2008)

La inflamación puede producir dolor, enrojecimiento, rigidez o pérdida de la movilidad, hinchazón y calor. Los agentes inflamatorios incluyen agentes patógenos como bacterias, virus, parásitos u hongos, agentes físicos como radiaciones ultravioletas, frío o calor; agentes químicos como venenos o toxinas, traumatismo y alteraciones vasculares como la isquemia (Lon, 2012). Se sabe que una respuesta inflamatoria aguda sigue a cuatro procesos principales, a saber, (1) invasión de estímulos infecciosos (a menudo denominado como inductores inflamatorios), (2) reconocimiento sensorial de los agentes proinflamatorios, (3) activación de mediadores de la inflamación y (4) modulación ejercida por los mediadores sobre los tejidos diana (**Figura 4**)



2. Aportes históricos en relación a la enfermedad inflamatorias

Aulus Celsus (alrededor del año 30 a.C. hasta 38 d.C.) la definió por los cuatro signos cardinales: rubor, tumor, calor y dolor (rubor y calor proceden de la medicina hipocrática) y Galeno (131-201 d.C.) le añadió el de 'functio laesa' (trastorno funcional) (Ryan, 1977). En el siglo XVIII, John Hunter concibió a la inflamación no sólo como una enfermedad sino como una expresión de defensa y reacción positiva del organismo; en su libro *Tratado de la Inflamación, la Sangre y Heridas de bala*, demuestra la ocurrencia de dilatación de los vasos sanguíneos y que el pus representaba una acumulación derivada de la sangre. La primera descripción de las células inflamatorias, se debe a Rene Dutrochet (1824) y a Rudolf Wagner (1839) la primicia de la descripción del rodamiento leucocitario (Barrero, 2008). Según señala Rudolf Virchow (siglo XIX) en su obra *Patología Celular*, Galeno le confiere mayor valor al calor y de ahí procede, la designación flogosis que en griego significa calor o llama. Estableció que la inflamación es la reacción a

una injuria previa de los tejidos (células) e indicó un quinto signo denominado impotencia funcional del órgano afectado, el cual fue señalado por Galeno en sus escritos. Julius Cohnheim (1877), demostró que el pus no se formaba espontáneamente de la linfa preexistente, sino que se movilizaba a través de los vasos desde la sangre, estableciendo así el concepto de la migración leucocitaria a través de las paredes de la microvasculatura. Eli Metchnikoff (1880-1890), describió la fagocitosis en tejidos transparentes, destacando su papel dentro del proceso inflamatorio y abriendo el camino al estudio de la interrelación entre los agentes injuriantes y las células, permitiendo así el desarrollo de las reacciones citoimmunológicas. Tomas Lewis demostró que la histamina produce un incremento de la permeabilidad vascular y determina la migración de leucocitos a los espacios extracelulares, inicia el conocimiento sobre los mediadores químicos de la inflamación y describió la triple respuesta observada con histamina por la administración intradérmica.

La serie de mediadores inflamatorios culminó con el estudio de las prostaglandinas valiéndoles el Premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1982 a los investigadores Sune K. Bergström, Bengt I. Samuelson y John R. Vane, por sus descubrimientos sobre estructura, síntesis, papel fisiológico y el bloqueo de la biosíntesis de estos mediadores. Por otro lado, el papel de las citocinas inflamatorias (IL-1 β) y TNF- α , su papel activador del endotelio vascular potenciando la adhesión de los leucocitos y la identificación de las moléculas de adhesión (selectinas e integrinas), quedaron establecidos en la década de los años 1980 (García, 2008).

3 Prevalencia de la enfermedad inflamatoria

Investigaciones realizadas, sugieren que enfermedades como la artritis reumatoidea (Lesuis, 2012), el lupus entematoso, la diabetes, la Enfermedad de Crohn, Alzheimer, arterosclerosis, la obesidad, el envejecimiento precoz y diversos tipos de canceres (García, 2008), son causados o potenciados por la inflamación crónica. Las enfermedades cardiovasculares también parecen estar relacionadas con estados inflamatorios. En un estudio llevado a cabo en aproximadamente 28,000 mujeres durante un periodo de ocho años, se encontró que cerca de la mitad de los ataques cardiacos y las apoplejías ocurrieron en aquellas cuyos niveles de colesterol no se consideraban elevados. Sin embargo, se encontró que estas mujeres, por lo general, tenían niveles elevados de la proteína C-reactiva de alta sensibilidad (HS-CRP, por sus siglas en inglés). La proteína C-reactiva corresponde a una proteína de fase aguda, predominantemente sintetizada por el hígado y regulada por citocinas proinflamatorias, tales como TNF- α e IL-6, (Crossley, 2010). Las principales actividades biológicas de esta proteína incluyen activación del complemento y opsonización bacteriana, modulación de monocitos, macrófagos y producción de citocinas, unión a cromatina bacteriana y prevención de migración tisular de neutrófilos. Su concentración sérica se puede determinar a través de diversas pruebas como Elisa, aglutinación reversa rápida en látex, inmunodifusión, electroinmunoensayo y ensayo inmunoturbidimétrico. Los nuevos estudios indican que la presencia de niveles altos de HS-CRP son útiles para determinar la probabilidad de que alguien sufra un infarto (Whayne, 2006), una apoplejía o como un potencial biomarcador de mayor riesgo de cáncer (Crossley, 2010).

4 MODELOS DE INFLAMACIÓN *IN VIVO*

La inflamación es un mecanismo de protección y de defensa del cuerpo. Durante las condiciones inflamatorias tienen lugar diversos cambios patológicos. En los estudios preclínicos, estos cambios pueden ser inducidos por la administración de agentes proinflamatorios, con el propósito de evaluar productos con potencial capacidad para modular la respuesta inflamatoria (Le Bars *et al* , 2001)

4.1 Edema plantar por carragenina en ratas

Este modelo se basa en el principio de la liberación de diversos mediadores inflamatorios por carragenina (Winter *et al* , 1962). La inyección subplantar de carragenina produce la inflamación resultante de la extravasación plasmática, aumento de agua en el lugar de administración y la exudación de proteínas del plasma junto con la extravasación de neutrófilos, todo debido al metabolismo del ácido araquidónico (Crunkhorn *et al* , 1971)

El edema inducido por carragenina está asociado con tres fases características. La primera fase se vincula a la liberación temprana de histamina y serotonina (1 h), la segunda fase (60 a 150 min) es caracterizada por la liberación de bradicinina y presencia de dolor y por último, la fase tardía (3 a 4 h) predominan las acciones mediadas por eicosanoides, principalmente prostaglandinas (Patel *et al* , 2012). De esta forma, la actividad del compuesto ensayado puede asociarse a los mediadores, en función de la fase que se vea mayormente inhibida.

4.2 Edema plantar por mediadores inflamatorios en ratas

La histamina es un mediador de la fase temprana de la inflamación. El edema de la pata inducido por histamina se dice que se produce en la etapa anterior a la reacción vascular de la inflamación inducida químicamente. En este modelo, la inflamación se produce principalmente debido a la acción de la histamina sin la participación significativa de otros mediadores (Amann *et al*, 1995).

Al igual que histamina también se emplean otros mediadores para inducir el edema plantar en ratas, tal es el caso de serotonina y bradicinina. Los métodos se han desarrollado a partir del reconocimiento de las acciones de estos mediadores en las diferentes fases del edema inducido por carragenina.

4.3 Permeabilidad vascular por ácido acético

La prueba se utiliza para evaluar la actividad inhibitoria de los fármacos contra el aumento de la permeabilidad vascular que es inducida por ácido acético mediante la liberación de mediadores inflamatorios (**Figura 3**). El ácido acético provoca la estimulación de los mastocitos con la consecuente liberación de histamina, y producción de prostaglandinas y leucotrienos. Esto conduce a una dilatación de las arteriolas y vénulas que conduce a un aumento de la permeabilidad vascular. Como consecuencia, el fluido y la proteína plasmática se extravasan y dan origen al edema (Zhao *et al*, 2012).

4 4 Modelo granuloma inducido por carragenina

Este modelo de inflamación sub-aguda en el que la administración de carragenina en la superficie dorsal de las ratas, donde previamente se ha creado una bolsa de aire, genera un granuloma (Adams, 1976) Este modelo es un excelente método para valorar la extravasación de fluidos, migración de leucocitos y diversos exudados bioquímicos implicados en la respuesta inflamatoria La bolsa de aire tiene la ventaja de suministrar un espacio adecuado para la inducción de respuestas inflamatorias

4 5 Granuloma inducido por pellets de algodón en ratas

Este modelo se basa en el granuloma de cuerpo extraño que es provocado mediante la implantación subcutánea de pellets de algodón en ratas Después de varios días, se observa un incremento del tejido conjuntivo y de la infiltración de fluido (Anuja *et al* , 2014, Suleyman *et al* , 1999, Shewale *et al* , 2012) La cantidad de tejido conjuntivo recién formado puede ser determinado pesando los gránulos secos La formación de granulomas se intensifica si las bolitas de algodón son impregnadas con carragenina En todo caso el granuloma inducido por pellets de algodón es un modelo para valorar la inflamación crónica

III. ENFOQUE EN LA INVESTIGACIÓN DE PLANTAS MEDICINALES

Las plantas representan una inagotable fuente de moléculas potencialmente útiles en el abordaje farmacológico de muchas enfermedades, por lo que pueden contribuir en diversas formas con los servicios de salud y a la obtención y producción de nuevos fármacos

- a) Emplearse directamente como agentes terapéuticos (extractos vegetales, material vegetal seco)
- b) Las estructuras de los compuestos fitoquímicos pueden servir como modelo para el desarrollo de productos semisintéticos de mayor complejidad
- c) Las estructuras de compuestos aislados a partir del material vegetal se emplean como modelos para la síntesis de moléculas farmacológicamente activas
- d) Se pueden emplear como marcadores químico-taxonómicos en la búsqueda de nuevos compuestos (Kruger, 2010)

1 Relevancia de los productos naturales en la historia del desarrollo de fármacos

Los productos naturales han servido como fuente de inspiración para una gran parte de la farmacopea actual. Aunque las estimaciones varían dependiendo de la definición de lo que se considera como un fármaco derivado natural, es seguro decir que entre el 25 y el 50% de los medicamentos que se comercializan actualmente deben sus orígenes a los productos naturales (Kingston, 2011). Por lo tanto, una revisión por Newman y Cragg (2007) analizan las fuentes de los medicamentos obtenidos entre 1981 y 2006, y el uso de una definición bastante amplia de lo que constituye un "fármaco derivado de producto natural", indica que casi el 50% de los nuevos medicamentos introducidos durante este período tuvo su origen a partir de un producto natural. En el caso de agentes anticancerígenos y anti-infecciosos, la proporción es aun mayor, y una estimación es que casi dos

tercios de los mismos fueron obtenidos a partir de productos naturales (McChesney, 2007) Vanos estudios recientes destacan la importancia de los productos naturales en el proceso de descubrimiento de fármacos (Butler, 2008, Bake, 2007, Cragg, 2010) Muchos de los medicamentos que se utilizan clínicamente derivados de productos naturales se obtuvieron a partir de especies microbianas, particularmente en el campo anti-infeccioso, pero las drogas de origen vegetal también han hecho contribuciones significativas La relevancia de este punto es tal que la humanidad sería inconmensurablemente más pobre si no contaran con fármacos de origen vegetal tales como la morfina, vinblastina, vincristina, quinina, artemisinina, etopósido, tenipósido, paclitaxel, y los derivados de camptotecina, topotecán e irinotecan (Kingston, 2011)

Con esta discusión no pretendemos dar a entender que los productos naturales son la única fuente viable de nuevos fármacos Un análisis reciente ha sugerido que los productos de origen natural de manera preferente poseen como blanco de acción proteínas que son esenciales para el organismo, probablemente porque se trata de sustancias eficaces para la defensa Se concluye entonces que los productos naturales pueden no mostrar suficiente versatilidad para ser empleados en el tratamiento de todas las enfermedades (Dancik, 2010) El hecho, sin embargo, es que los fármacos derivados de productos naturales han hecho y pueden continuar haciendo enormes contribuciones a la salud humana

2 Potencial de las plantas en el desarrollo de fármacos analgésicos y antiinflamatorios

Como ya hemos señalado, la naturaleza es una de las principales fuentes de compuestos para fines terapéuticos. Los agentes antiinflamatorios y analgésicos conocidos pertenecen a una gran diversidad de esqueletos estructurales ya que los procesos inflamatorios y el dolor comparten muchos blancos biológicos. Los orígenes de los antiinflamatorios y analgésicos actuales, se extienden a plantas y organismos marinos, además de los producidos por semi-síntesis y la síntesis total. Los principales compuestos activos derivados de plantas y que poseen propiedades como moduladores de la nocicepción y la inflamación, son organizados por sus orígenes biosintéticos como terpenoides, macrólidos, policétidos y ansamicinas, compuestos fenólicos, alcaloides, péptidos, glicoconjugados, entre otros compuestos más variados y menos comunes.

Sustancias derivadas de productos naturales se han utilizado desde el comienzo del tiempo para diversos propósitos, incluyendo el tratamiento del dolor (Mc Curdy, 2005). El opio, por ejemplo, se ha utilizado desde los primeros registros de tiempo atrás, algunos 7000 años. No fue sino hasta el siglo XIX eran componentes individuales de diferentes remedios de productos naturales identificadas y purificadas. Hoy en día, el descubrimiento de fármacos se ha convertido en un campo complejo mucho más allá de la utilización de productos naturales. Sin embargo, los productos naturales han dominado la industria de las drogas desde hace muchos años y varios fármacos comercializados se basan en compuestos aislados de plantas. Reciente se ha observado un resurgimiento en el estudio de los productos

naturales, especialmente de la industria de suplementos dietéticos. La investigación académica ha seguido siendo un fuerte líder en el campo de los productos naturales. La investigación en el área de manejo del dolor y la obtención de fármacos antiinflamatorios, originalmente se centró exclusivamente en productos naturales. Más recientemente, se han obtenido los análogos a partir de sustancias naturales, así como compuestos completamente sintéticos basados en farmacóforos naturales. Todo esto se desarrolla mientras los clínicos y pacientes se enfrentan con los perfiles de efectos secundarios de las sustancias analgésicas y antiinflamatorias.

A continuación presentamos un resumen de las características de fármacos analgésicos y antiinflamatorios de origen natural.

Ácido acetilsalicílico

El ácido acetilsalicílico (**Figura 5**), derivado del ácido salicílico, extraído de la corteza del árbol de sauce (*Salix alba*), es uno de los compuestos más utilizados y disponibles para el tratamiento del dolor leve a moderado. El ácido acetilsalicílico se desempeñó como el primer fármaco AINE e inhibe la ruta del ácido araquidónico que finalmente conduce a la síntesis de eicosanoides, potentes mediadores del dolor (Vane, 1971). El uso del ácido acetilsalicílico, que inhibe específicamente las enzimas ciclooxigenasas (COX), llevó al desarrollo sintético de otros fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINE).

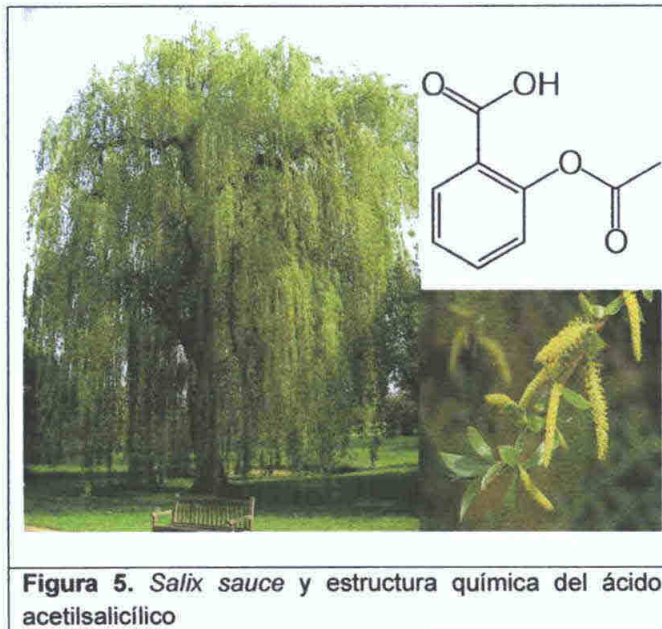


Figura 5. *Salix sauce* y estructura química del ácido acetilsalicílico

Opiáceos

Durante miles de años, los opiáceos originalmente derivados de la semilla de la adormidera (*Papaver somniferum*), fueron utilizados tanto para propósitos recreativos como medicinales (**Figura 6**). En el siglo XVI, el láudano, opio preparado en una solución alcohólica, se utilizó como analgésico.

Posteriormente, en el siglo XIX, la morfina se extrajo del opio por primera vez y durante la guerra civil de los Estados Unidos, se utilizó ampliamente como analgésico. Desde el punto de vista clínico, en el tratamiento del dolor, la morfina es, hoy por hoy, la sustancia activa más importante obtenida del opio (Castañeda, 2008).

La codeína presente, también en el opio, es menos potente y fue aislada por Jean Pierre Robiquet (Francia, 1830) para propósitos médicos, siendo utilizada principalmente como remedio para la tos. En 1874, en un intento por

encontrar una forma menos adictiva de la morfina desarrollaron la heroína que resulto ser el doble de potente que la morfina y su adicción se convirtió en un grave problema (NIDA, 2012).

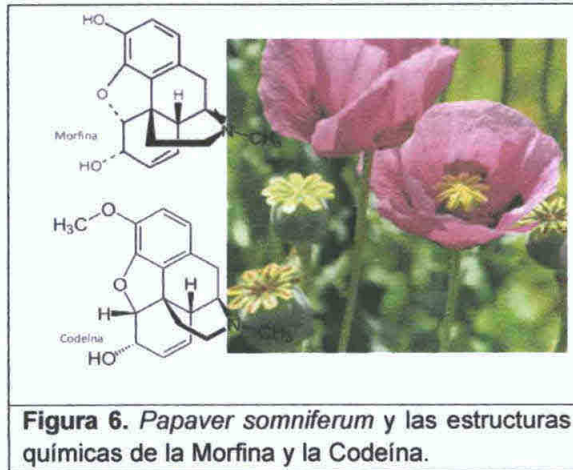


Figura 6. *Papaver somniferum* y las estructuras químicas de la Morfina y la Codeína.

En 1937, los científicos alemanes Max Bockmühl y Gustav Ehrhart, de la compañía IG Farben, buscaban un analgésico de fácil utilización durante una cirugía y que tuviera un menor potencial adictivo, lo que dio como resultado la obtención mediante síntesis de la metadona. Así inicia la era de los opioides, es el nombre común para todos los compuestos que tienen el mismo mecanismo de acción que los constituyentes de opio.

Fue en la década de 1970 cuando se descubrió el receptor natural de la morfina, una molécula que se encuentra mayoritariamente en las neuronas del sistema nervioso, a la que se fija de forma selectiva y específica, no sólo la morfina, sino todos los analgésicos opiáceos. Esta molécula fue denominada receptor opioide, y a partir de ahí se ha decidido convencionalmente que cuantos productos alivien el dolor, previa fijación a dicho receptor, sean denominados analgésicos opioides. El término opiáceo

quedaría, pues, relegado a los fármacos naturales y semisintéticos que derivan estrictamente del jugo extraído del opio (Flórez, 2004)

Con el transcurso de los años, nuevos analgésicos opioides han surgido en el mercado como la hidrocodona (1984), oxicodona (1995) y combinaciones de oxicodona- paracetamol (1999)

Salvinonna A

Los reportes en la literatura etnofarmacológica que señalaban el uso de extractos de hojas de *Salvia divinorum* en el alivio de dolores de cabeza, como sedante y para el tratamiento de algunos trastornos gastrointestinales (Valdés *et al*, 1983), fue elemento clave para iniciar el estudio de esta planta y de sus constituyentes. Es así, como en el 2002 se reporta por primera vez un ligando selectivo del receptor opioide *kappa*, la salvinonna A (Roth *et al*, 2002). Salvinonna A, el componente activo de los extractos de *Salvia divinorum*, es uno de los alucinógenos más potentes conocidos hasta la fecha (Siebert, 1994). Durante muchos años el blanco molecular para salvinonna A era desconocido desde que los investigadores creían que debería interactuar con blancos conocidos para los alucinógenos, a saber, el sistema receptor de la serotonina. Salvinonna A se proyectó inicialmente en contra de una serie de receptores que no incluían los receptores opioides (Siebert, 1994).

Roth *et al* (2002) llevaron a cabo un tamizado farmacológico que les llevó a demostrar que la salvinonna A interactuaba selectivamente con el receptor opioide *kappa*. Este mecanismo propuesto encaja además con las propiedades del producto, debido a la naturaleza psicoactivo del receptor

opioide Dado que este producto genera disfonia como efecto adverso, las investigaciones dirigidas a desarrollar su potencial terapéutico se han visto agotadas Varios países han prohibido su uso, incluida Australia y algunos países miembros de la Unión Europea

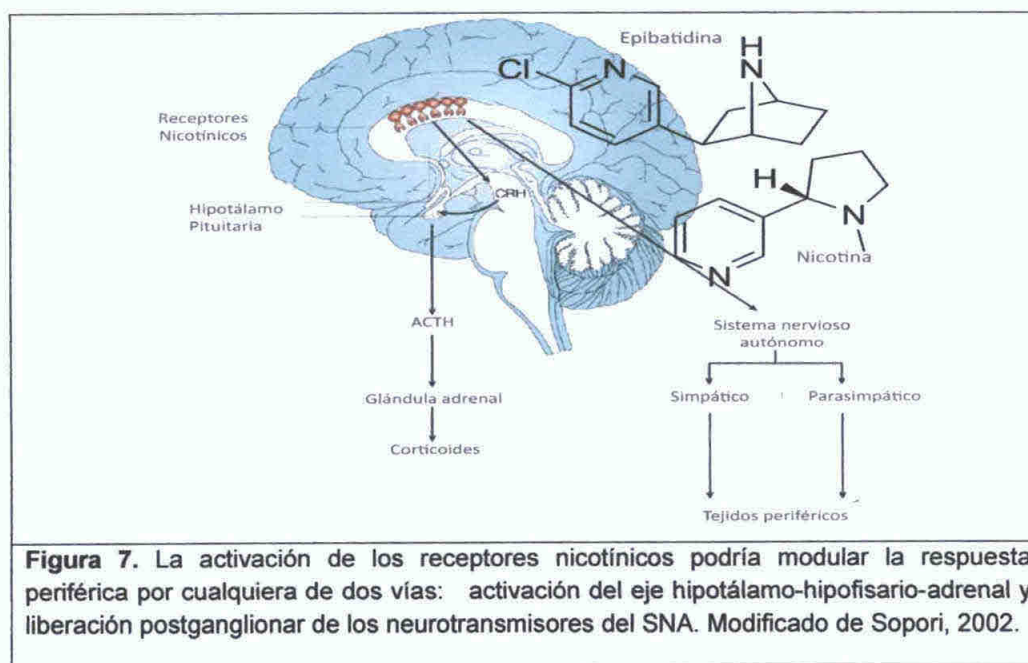
Agonistas colinérgicos

Los receptores muscarínicos, que endógenamente responden a la acetilcolina, poseen muchos ligandos obtenidos a partir de productos naturales, tales como la hiosciamina, la atropina y la escopolamina Las acciones propias de cada uno de estos fármacos no son objeto de esta revisión, sólo un reconocimiento del aporte de los productos naturales en el desarrollo de terapias eficaces

Lo que nos compete señalar es que los receptores nicotínicos, que también responde a la acetilcolina, han demostrado que probablemente desempeñen un papel en los procesos analgésicos

De hecho, la nicotina fue reportada como antinociceptiva en 1932 (Davis *et al* , 1932) Este campo de conocimiento no había sido tan explorado en la investigación, hasta el descubrimiento del alcaloide natural, epibatidina (Spande *et al* , 1992) (Figura 7) Epibatidina se aisló de la piel de la rana *Epipedobates tricolor* (Daly, 1974) Este compuesto se ha reportado como analgésico potente y cuyas acciones que podrían ser antagonizadas por mecamilamina, un antagonista del receptor nicotínico, pero no por los antagonistas de opioides (Spande *et al* , 1992) Este trabajo solidificó el papel de los receptores nicotínicos en la analgesia y creó un gran interés en el desarrollo de nuevos compuestos relacionados con epibatidina Un campo

para el desarrollo de este tipo de fármacos es en el abordaje terapéutico de la artritis reumatoide (AR) Zhang *et al.*, 2010; Pan *et al.*, 2010). Aunque los fármacos antirreumáticos han sido ampliamente utilizados en las clínicas, la AR es controlada de manera variable. Por lo tanto, la búsqueda de nuevos fármacos para el tratamiento de la AR se ha convertido en un tema prioritario de reumatólogos y cirujanos ortopédicos. Dado que la principal característica patológica de la AR es la inflamación, la exploración de los fármacos antiinflamatorios se ha convertido en un punto de acceso. Las funciones antiinflamatorias y antinociceptivas de los receptores nicotínicos, recientemente descritas, hacen de los agonistas de los receptores nicotínicos, fármacos potencialmente útiles en el tratamiento de la AR.



Cabe señalar que, hasta la fecha, ninguno de los compuestos estudiados ha llegado al mercado. Sin embargo, la capacidad de producir un analgésico

no opioides, que además posea una potencia igual o mayor que la morfina, sigue siendo un gran desafío, lo que alimenta el desarrollo de este campo de investigación, incluyendo la búsqueda de compuestos de origen vegetal con capacidad para interactuar y activar a los receptores nicotínicos

Canabinoides

Otro sistema bien conocido implicado en los procesos dolorosos son los receptores de canabinoides. El ligando prototípico, Δ^9 -tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC), aislado de *Cannabis sativa*, es una molécula lipofílica no nitrogenada que interactúa con los receptores de canabinoides acoplados a proteína G (Gerard *et al*, 1990). En la actualidad se comercializa en los Estados Unidos para el tratamiento de las náuseas y vómitos asociados con la quimioterapia del cáncer y también como estimulante del apetito en los pacientes con VIH-SIDA (EISOHLY *et al*, 2001). Más recientemente se ha demostrado que produce antinocicepción en seres humanos y animales (Grotenhermen, 2004).

La familia endógena de ligandos que interactúan con estos receptores son conocidos como los anandamidas. Fueron descubiertas recientemente y son en sí, antinociceptivas pero no tan potente como Δ^9 -THC (Felder *et al*, 1993). Se ha encontrado que son degradadas rápidamente por la enzima, amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) (Giang y Cravatt, 1997). Los estudios con ratones knockout han demostrado incrementos de hasta 15 veces los niveles endógenos de la anandamida (Cravatt *et al*, 2001). Además, estos animales parecen tener un umbral más alto para el dolor en modelos de nocicepción.

Este trabajo demuestra el potencial de receptores cannabinoides y de la enzima FAAH como dianas en el tratamiento antinociceptivo

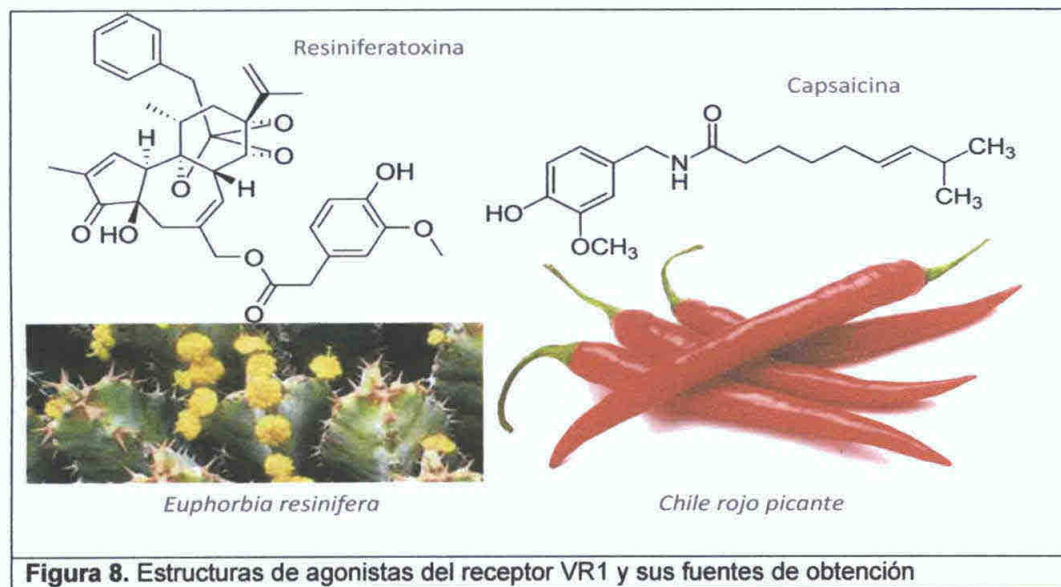
Agonistas de receptores vainilloides

Recientemente, los receptores vainilloides (VR) han sido el foco de muchas investigaciones farmacéuticas y académicas por su potencial como nuevos analgésicos. Los receptores vainilloides son canales de iones y se han demostrado estar involucrados en los procesos nociceptivos (García-Martínez *et al*, 2002). Sin embargo, aun queda por demostrar su potencial clínico. No obstante, varios productos naturales han sido identificados como moduladores de estos receptores.

La capsaicina, aislada del "chile rojo picante", es un agonista del receptor VR1 (Caterina *et al*, 1997) y se comercializa en los Estados Unidos en preparaciones tópicas para el tratamiento de la artritis y el dolor articular inflamatorio, dolor relacionado a la neuralgia post-herpética y problemas ortopédicos (**Figura 8**). Hay inconvenientes con estos preparativos, ya que pueden causar irritación severa a las membranas mucosas y los ojos. Sin embargo, tienen un éxito en el mercado y llevan a pensar a los investigadores que los agonistas del receptor VR1 pueden ser buenos candidatos farmacológicos.

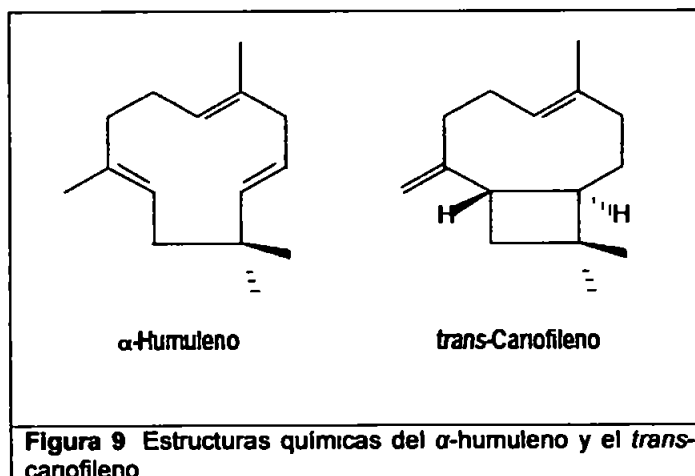
La resiniferatoxina, aislado a partir de *Euphorbia resinifera*, es otro producto natural que se ha identificado como un agonista del receptor VR1 (Szallasi *et al*, 1999) (**Figura 9**). Hay varios estudios en la literatura que demuestran el uso de resiniferatoxina como agente analgésico. Uno de ellos publicado por Karai *et al* (2004), señalan que la administración de

resiniferatoxina abole selectivamente a las neuronas nociceptivas. Por lo tanto, el potencial para el desarrollo de compuestos que interactúan con los receptores VR1 sigue siendo interesante.



Eupatilina

Eupatilina es una flavona farmacológicamente activa, compuesto derivado de *Artemisia argyi*, una planta empleada en la medicina tradicional coreana para la diarrea crónica (Kim, 2004). El laboratorio farmacéutico Dong-A, evalúa DA-6034 130, un análogo sintetizado de eupatilin. Este nuevo compuesto se encuentra en ensayos clínicos de fase I y II, para su uso en el tratamiento del ojo seco y la gastritis, respectivamente (Mishra, 2011). Un derivado sintético, la isoflavona NV-52, es un inhibidor selectivo de la tromboxano sintasa (TXS) y está siendo desarrollado como un tratamiento para enfermedades inflamatorias del intestino por Novogen. Tras haber completado los estudios de fase I, Novogen señala que a las dosis



3 Panorama futuro de los productos naturales

Para desarrollar este punto, nos pareció interesante apuntar algunos datos derivados de la lectura del artículo "Biodiversity, Traditional Medicine And Drug Discovery - A Symbiotic Relationship" (Cordell, 2003) de la cual extrajimos buena parte de sus conclusiones, a todas luces relevantes para el tema que nos atañe

Los productos naturales, en forma de principios activos purificados y extractos de plantas, son reconocidos como la piedra angular en la atención primaria la salud a nivel mundial, y en los países desarrollados para el mejoramiento de las condiciones de estilo de vida

Los desafíos para la atención de salud en el futuro siguen siendo significativos. En los países desarrollados y en vías de desarrollo, se carece de fármacos verdaderamente eficaces para el manejo de las principales enfermedades mortales. La problemática que representa la resistencia a los medicamentos en los regímenes quimioterapéuticos existentes para las infecciones micóticas y bacterianas, para el SIDA, el cáncer y la malaria,

empleadas, no se detectaron efectos secundarios importantes para el NV-52 (Howes *et al* , 2007)

Cordia verbenacea

Cordia verbenacea es una planta perenne perteneciente a la familia Boraginaceae, nativa de la costa brasileña, conocida también como, maría milagrosa y utilizada popularmente como antitumoroso, antiinflamatorio, antirreumático, analgésico y tonificante. En 2001, se describió que de la acción antiinflamatoria no era responsable la artemetina (flavonoide) descrito en la literatura hasta entonces, sino que sus acciones antiinflamatorias se deben al α -humuleno y el trans-canofileno (Figura 9), constituyentes activos, que actúan mediante la inhibición de TNF α y IL-1 β , reducción de la expresión de COX2 e iNOS y la reducción de PGE-2 (Lazzarini, 2006). Por ahora, existen productos tópicos que se utilizan como coadyuvantes en el alivio sintomático del dolor e inflamación local (Acheflan®, Cordiaflan®). Aunque su potencial antimicrobiano ha sido evaluado demostrándose que puede ser usada como un coadyuvante en la terapia con antibióticos, contra agentes patógenos bacterianos que afectan las vías respiratorias (Rodrigues *et al* , 2012, Ferreira *et al* , 2013)

OBJETIVOS

GENERALES

Determinar la actividad analgésica y antiinflamatoria de *Acosmium panamense* (Benth) Yakovlev, *Dalbergia brownei* (Jacq) Urb, *Diplostropis purpurea* (Rich) Amshoff, *Fissicalyx fendleri* Benth y *Machaenum* sp, plantas panameñas de la familia Fabaceae

ESPECÍFICOS

- Evaluar la actividad analgésica de extractos metanólicos de cinco especies de plantas de la familia Fabaceae empleando modelos animales de nocicepción química
- Evaluar la actividad analgésica de extractos metanólicos de cinco especies de plantas de la familia Fabaceae empleando modelos animales de nocicepción térmica
- Inferir en el nivel de acción de los extractos a través del empleo de técnicas de nocicepción específica
- Evaluar la capacidad de los extractos de cinco plantas panameñas para prevenir la inflamación inducida por λ -carragenina en ratas
- Cuantificar la capacidad que poseen los extractos para curar la inflamación inducida por λ -carragenina en ratas
- Valorar las implicaciones de mediadores específicos, serotonina e histamina, en los receptores antiinflamatorios presentados por los extractos

METODOLOGÍA

I. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

A. Recolección e identificación del material vegetal

Las plantas se recolectaron en diferentes lugares del país, por los licenciados Alex Espinosa y Carlos Guerra, tal como se describe en el **Cuadro III**. La identificación taxonómica definitiva fue establecida por el licenciado Alex Espinosa y las muestras voucher reposan en el Herbario de la Universidad de Panamá (Pmá).

Cuadro III: Datos de Recolección de las plantas a ensayar

Nombre de la planta	Parte	Lugar de Recolección	Fechas de recolección	Nº Voucher CIFLORPAN
<i>Dalbergia brownei</i> (Jacq.) Urb	Hoja	Costa Abajo, salud. A un Km después de punta del medio, Colón	20-jul-08	7961 Ext Db
<i>Machaerium sp.</i>	Tallo	Las Peñitas de San Carlos hacia el Valle de Antón, Coclé	27-may-08	7872 Ext Msp
<i>Diploptropis purpurea</i> (Rich.) Amshoff	Tallo	Agua Clara ANAM, Sierra Llorona, Santa Rita, Colón	19-jul-08	7951 Ext Dpa
<i>Acosmium panamense</i> (Benth) Yakovlev	Tallo	Parque Nacional Chagres, Sección Cerro Jefe, Panamá	27-ago-03	6277 Ext Ap
<i>Fissicalyx fendleri</i> Benth	Tallo	Parque Nacional Soberanía, sendero el Charco, Panamá	13-Feb-96	2470 Ext Ff

B Procesamiento del Material Vegetal y extracción

Los extractos fueron proporcionados por el CIFLORPAN. Se separaron las diferentes partes de cada planta, las cuales se secaron al aire y una vez secos se pulverizaron en un molino Thomas Wiley con malla de 2 mm. Posteriormente, se extrajeron 50 a 100 g del material vegetal seco pulverizado (2X24) con metanol 100% por maceración con agitación en rotor a $< 40^{\circ} \text{C}$. Los extractos fueron filtrados y evaporados al vacío y luego liofilizados, obteniéndose así el extracto crudo.

II Materiales y métodos

A Animales

Ratones CD1 (18-25g) y ratas Sprague-Dawley machos (150-200g), provenientes del Bioteno de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Panamá, fueron empleados para el desarrollo experimental del presente trabajo (**Figura 10**).

Los animales fueron alojados en el laboratorio de ensayos biológicos cinco días previos al ensayo bajo condiciones apropiadas, determinada por ciclos de luz-oscuridad de 12 horas y temperatura de 22°C . Durante el periodo de aclimatación recibieron agua y alimento *ad libitum*, hasta 12 horas antes del ensayo.

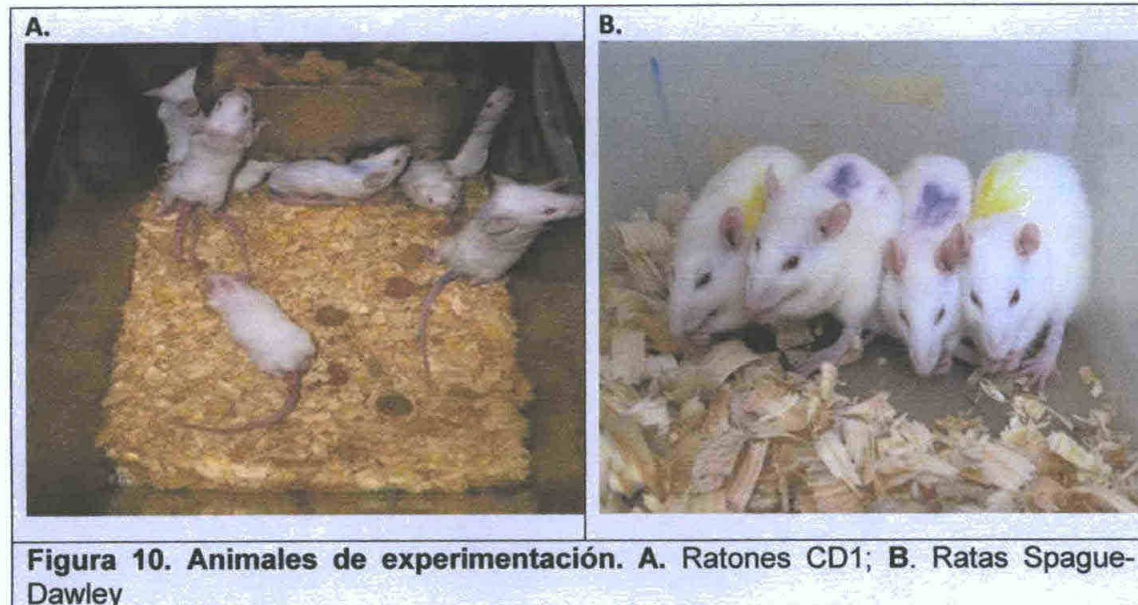


Figura 10. Animales de experimentación. A. Ratones CD1; B. Ratas Spague-Dawley

Todos los procedimientos experimentales descritos en esta investigación se realizaron siguiendo las instrucciones incluidas en “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”, descritas por Institute of Laboratory Animal Resources (ILAR) of the National Research Council (Garber et al., 2011).

B. Equipos

Plato Caliente Socrel[®] modelo-DS37
 Plato caliente Thermolyne Nuova II[®] modelo SP18425
 Pletismómetro digital Panlab Harvard Apparatus[®] modelo LE 7500
 Campana anestésica
 Micropipetas de 1000 μ L

Balanza analítica Mettler Toledo[®] modelo ms204s/01
 Balanza para animales Hanson[®]
 Crónometro Weston[®] modelo JS-316
 Corrales de observación
 Microjeringuilla Hamilton[®] de 100 μ L
 Cánulas de administración oral para ratas y ratones
 Aguja calibre 30 G X 1 $\frac{1}{8}$ ”
 Vasos químicos de 100 y 2000 mL
 Jeringuillas de 1 mL

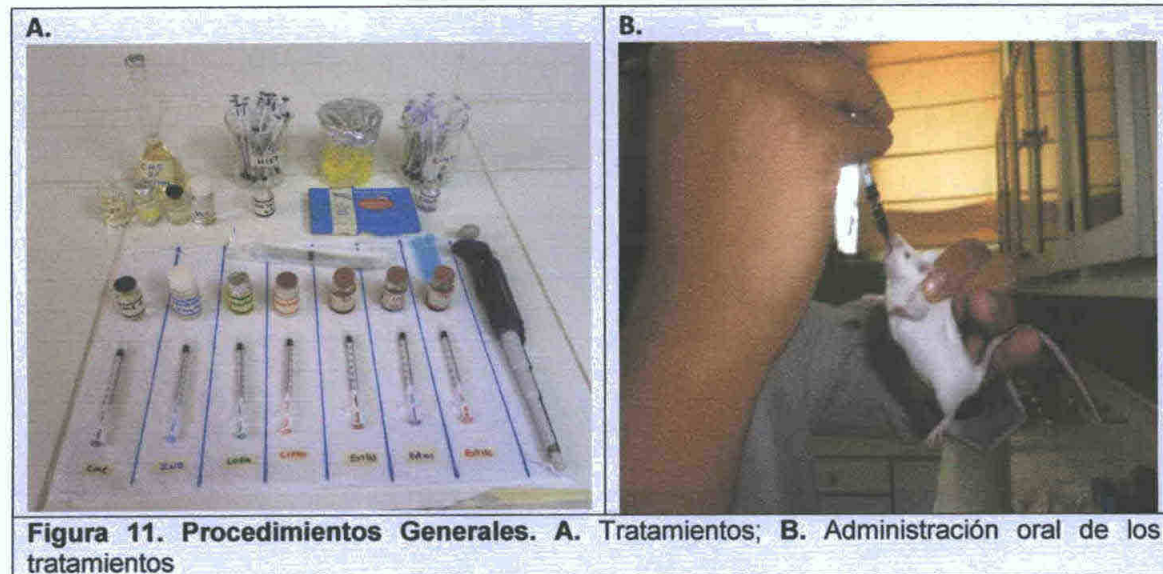
C. Reactivos

Todos los reactivos fueron adquiridos de Sigma. Ácido acético glacial, formalina 37%, ácido acetilsalicílico, tramadol, indometacina, ciproheptadina, loratadina, carboximetilcelulosa, λ -carragenina, histamina, serotonina excepto sevoflurano Abbott®

D Procedimientos generales

En todos los protocolos experimentales descritos para valorar la nocicepción se emplearon dosis de 500 mg/kg de cada uno de los extractos. Para la administración oral de los extractos, estos fueron suspendidos en carboximetilcelulosa (CMC 2%), por lo que en todos los protocolos se mantuvo un grupo control que recibió el disolvente empleado (20 mg/Kg). Adicionalmente, se mantuvieron grupos controles positivos que recibieron el fármaco patrón para cada ensayo, a saber ácido acetilsalicílico (200 mg/Kg) y tramadol (20 mg/Kg). Por otra parte, en los modelos de inflamación se mantuvieron los grupos que recibieron 500 mg/kg de uno de los extractos previamente descritos y el control con CMC, en tanto que otro grupo recibió indometacina (10 mg/Kg) como control positivo en el ensayo de edema plantar inducido por λ -carragenina. En los ensayos donde el agente para inducir el edema plantar era serotonina o histamina, se emplearon como controles positivos ciproheptadina (10 mg/kg) y loratadina (10 mg/kg), respectivamente. Todos los experimentos fueron realizados empleando grupos de 7 animales para cada tratamiento, y en todos los casos, los tratamientos fueron administrados por vía oral empleando una

cánula para su administración, excepto tramadol que fue administrado subcutáneamente (**Figura 11**).



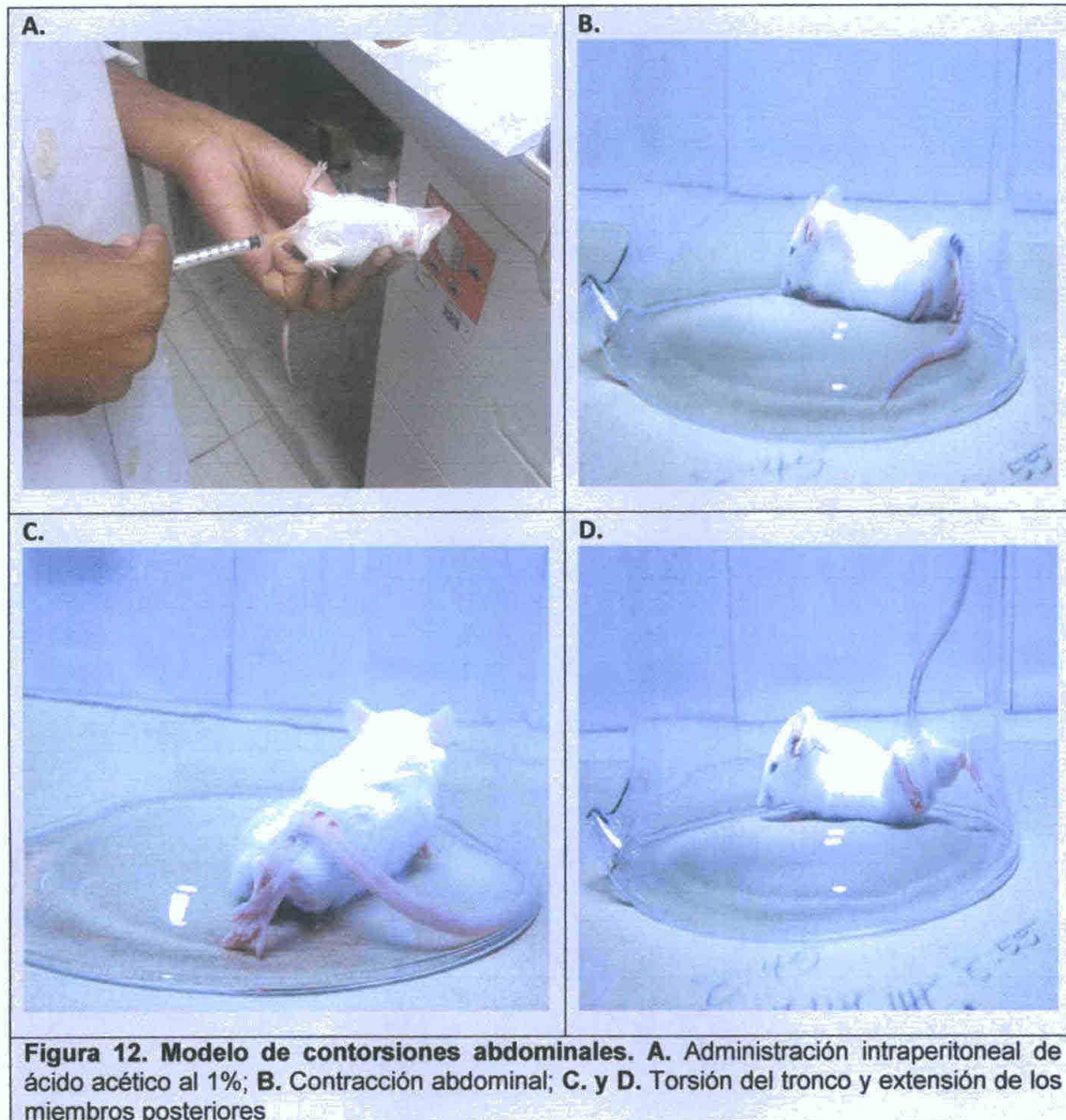
E. Procedimientos experimentales

1. Actividad analgésica

1.1. Modelo de contorsiones abdominales inducido por ácido acético

El método usado en este ensayo fue una ligera modificación del descrito por Koster *et al* (1959). Se emplearon ratones CD1 machos (18-25 g), a los cuales se les administraron los tratamientos antes descritos para los modelos de nocicepción. Después de 30 minutos de haber recibido el tratamiento correspondiente, se les administró ácido acético 1% (10mL/Kg) por vía intraperitoneal. Tras la administración del estímulo algésico, los animales fueron colocados bajo un vaso químico de 2 L que permitía el conteo del número de contorsiones realizadas por cada ratón, durante un periodo de observación de 30 minutos. El registro de las contorsiones se inició 5 minutos después de la

administración del ácido acético. Las contorsiones se manifestaron como contracciones abdominales seguidas de torsión del tronco y extensión de los miembros posteriores en respuesta a la irritación producida por este agente algésico (**Figura 12**).



El porcentaje de analgesia se calculó mediante la siguiente fórmula

$$\% \text{ Analgesia} = \frac{X_{CMC} - X_{Tx}}{X_{CMC}} \times 100$$

X_{CMC} . promedio del número de contorsiones registradas con CMC 2%

X_{Tx} promedio del número de contorsiones registradas con cada tratamiento

1.2. Modelo de dolor inducido por formalina

Para confirmar la actividad antinociceptiva de los extractos empleamos el método de inducción del dolor inducido por formalina en ratones descrito por Hunskaar y Hole (1987), con ligeras modificaciones. En este ensayo se administraron los diferentes tratamientos y transcurridos los 30 minutos se indujo el estímulo algésico, que consistió en la administración de 20 μ L de formalina al 1.4% en la aponeurosis subplantar trasera izquierda. Inmediatamente, los animales fueron colocados en un corral de observación y empleando un cronómetro (Weston[®] modelo JS-316) se registró la duración de las lamidas o mordidas al área de aplicación (**Figura 13**). Estas determinaciones fueron diferenciadas en dos periodos de observación: el primero realizado durante los primeros 5 minutos después de la administración del estímulo algésico (fase temprana), y el segundo de 15 a 30 minutos posterior a la administración de formalina (fase tardía). Estas fases representan el dolor neurogénico e inflamatorio, respectivamente.



El porcentaje de analgesia para cada tratamiento se determinó en los diferentes periodos de observación (0-5 min y 15-30 min) a través de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Analgesia} = \frac{X_{\text{CMC}} - X_{\text{Tx}}}{X_{\text{CMC}}} \times 100$$

X_{CMC} : Promedio de lamidas o mordidas registradas con CMC 2%.

X_{Tx} : Promedio de lamidas o mordidas registradas con los tratamientos.

1.3. Modelo de plato caliente

Habiendo realizado modificaciones menores al modelo de plato caliente descrito por Lanhers *et al* (1991), realizamos los ensayos para valorar la actividad analgésica de los extractos, tras la generación de un estímulo térmico.

El día del ensayo se realizó un proceso de selección en el que los ratones CD1 machos fueron colocados de manera individual sobre un plato Socrel (modelo

DS-37), manteniendo una temperatura constante de $55\pm 0.2^{\circ}\text{C}$. Durante el proceso de selección, así como en las observaciones posteriores, la respuesta ante el estímulo térmico se determinó midiendo el tiempo que tardaba el animal en manifestar una respuesta indicativa de la percepción algésica entre las que se consideró salto con éxito, intento a salto o lamerse las patas anteriores (**Figura 14**). El tiempo de reacción para la preselección se determinó a intervalos de cero y diez minutos, donde el promedio de estos valores fue el tiempo inicial de reacción, descartando los animales cuyo tiempo de reacción fue de más de 20 segundos.



Una hora después de haber sido preseleccionados, los animales fueron divididos en los diferentes grupos de tratamiento. Transcurridos treinta minutos de la administración de los extractos o de los patrones, los animales fueron sometidos nuevamente al estímulo algésico para determinar el tiempo de

reacción, y esta determinación se repitió a los 60 y 120 minutos después de haber recibido el tratamiento. El porcentaje de analgesia en el modelo de plato caliente se determinó en los diferentes tiempos a través de la siguiente fórmula

$$\% \text{ EMP} = \frac{X_{Tx(t)} - X_{Tx 0}}{t_{Rmax} - X_{Tx(t)}} \times 100$$

$X_{Tx 0}$: Promedio del tiempo de lamidas o saltos o intento de salto registrados a tiempo cero

$X_{Tx(t)}$: Promedio del tiempo de lamidas o saltos o intento de salto registradas a los diferentes tiempos

t_{Rmax} : tiempo máximo de reacción (20 segundos)

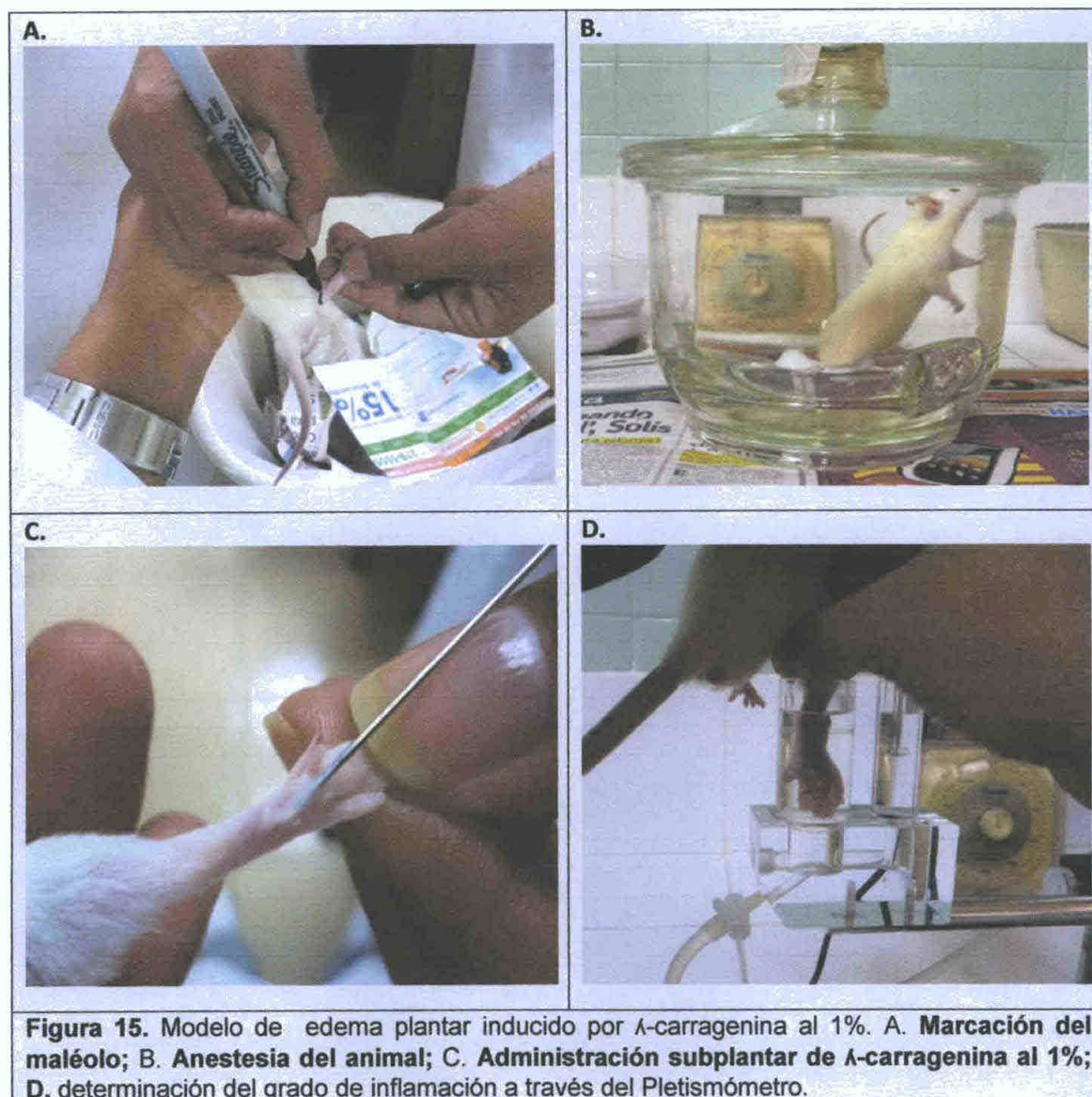
2. Actividad antiinflamatoria

2.1 Modelo de edema plantar inducido por λ -carragenina

2.1.1 Modelo preventivo

El modelo del edema plantar inducido por λ -carragenina fue originalmente descrito por Winter *et al* (1962). Habiendo realizado ligeras modificaciones al protocolo original, empleamos ratas Sprague-Dawley machos (150-200 g), a las cuales se les marcó el maléolo lateral de la pata trasera derecha antes de introducirla, justo hasta la marca realizada, en el líquido contenido en el pocillo del pleetismómetro digital (Panlab Harvard Apparatus modelo LE 7500). Anotada la lectura de desplazamiento de volumen para cada animal, se procedió a la administración de los tratamientos y el patrón positivo empleado fue

indometacina (10 mg/kg). Transcurrida una hora de la administración de los tratamientos, se procedió a anestésiar los animales con sevofluorano para administrar 0.1 mL de λ -carragenina al 1% por debajo de la aponeurosis subplantar trasera derecha y posteriormente, se determinó el volumen desplazado por la pata de cada animal a diferentes tiempos: 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 24 h (**Figura 15**).



Se emplearon la relación de volumen de desplazamiento de las ratas que recibieron los extractos frente el valor obtenido al mismo tiempo en el grupo control CMC para obtener el porcentaje de efecto antiinflamatorio en cada uno de los grupos, según lo expresa la siguiente fórmula

$$\% \text{ Efecto antiinflamatorio} = \frac{X_{\text{CMC}}(t) - X_{\text{Tx}}(t)}{X_{\text{CMC}}(t)} \times 100 \%$$

$X_{\text{Tx}}(t)$ Promedio del volumen desplazado con el tratamiento a un tiempo

$X_{\text{CMC}}(t)$ Promedio del volumen desplazado con CMC a un tiempo

2.1 2 Modelo curativo

Este ensayo es una variación del modelo preventivo descrito por Winter (1962), donde luego de haber determinado el volumen desplazado a tiempo cero, se administró λ -carragenina en la aponeurosis subplantar trasera derecha. Transcurrida una hora de la administración del agente inflamatorio, se procedió a administrar cada uno de los tratamientos antes descritos y el volumen desplazado se determinó a diferentes tiempos 4, 4.5, 5, 6 y 24 h. Para calcular el % de efecto antiinflamatorio se utilizó la fórmula descrita en el modelo preventivo.

2.2 Modelo de edema plantar inducido por serotonina o histamina

Para este modelo se siguió la metodología descrita para el edema plantar inducido por λ -carragenina, que en este caso fue reemplazado por la administración de serotonina o histamina en la aponeurosis subplantar (Singh *et al* , 1996) En lo que respecta al tratamiento, se consideraron los utilizados en el modelo preventivo y adicionalmente, se administró ciproheptadina (10 mg/Kg) o loratadina (10 mg/Kg) al inducir el edema plantar por serotonina o histamina, respectivamente. Transcurrida una hora de la administración de los tratamientos, se procedió a anestésiar los animales con sevoflurano para administrar 0.1 mL de serotonina o histamina al 0.5% por debajo de la aponeurosis subplantar trasera derecha y se determinó el volumen desplazado en diferentes tiempos: 0.5, 1 y 2 h. El cálculo del porcentaje de efecto antiinflamatorio se determinó utilizando la fórmula descrita para el protocolo original con λ -carragenina.

F. Análisis y expresión estadística de los resultados

Los resultados se expresaron como la media \pm error (n=7). Para la comparación entre los diferentes grupos se aplicará un Análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para gráficas lineales seguidos por una prueba t de Student, donde los valores de $P < 0.05$ serán considerados como indicativos de significancia estadística. Para tales fines se utilizó el programa GraphPad Prism[®].

RESULTADOS

I Evaluación de la actividad analgésica

A Modelo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético

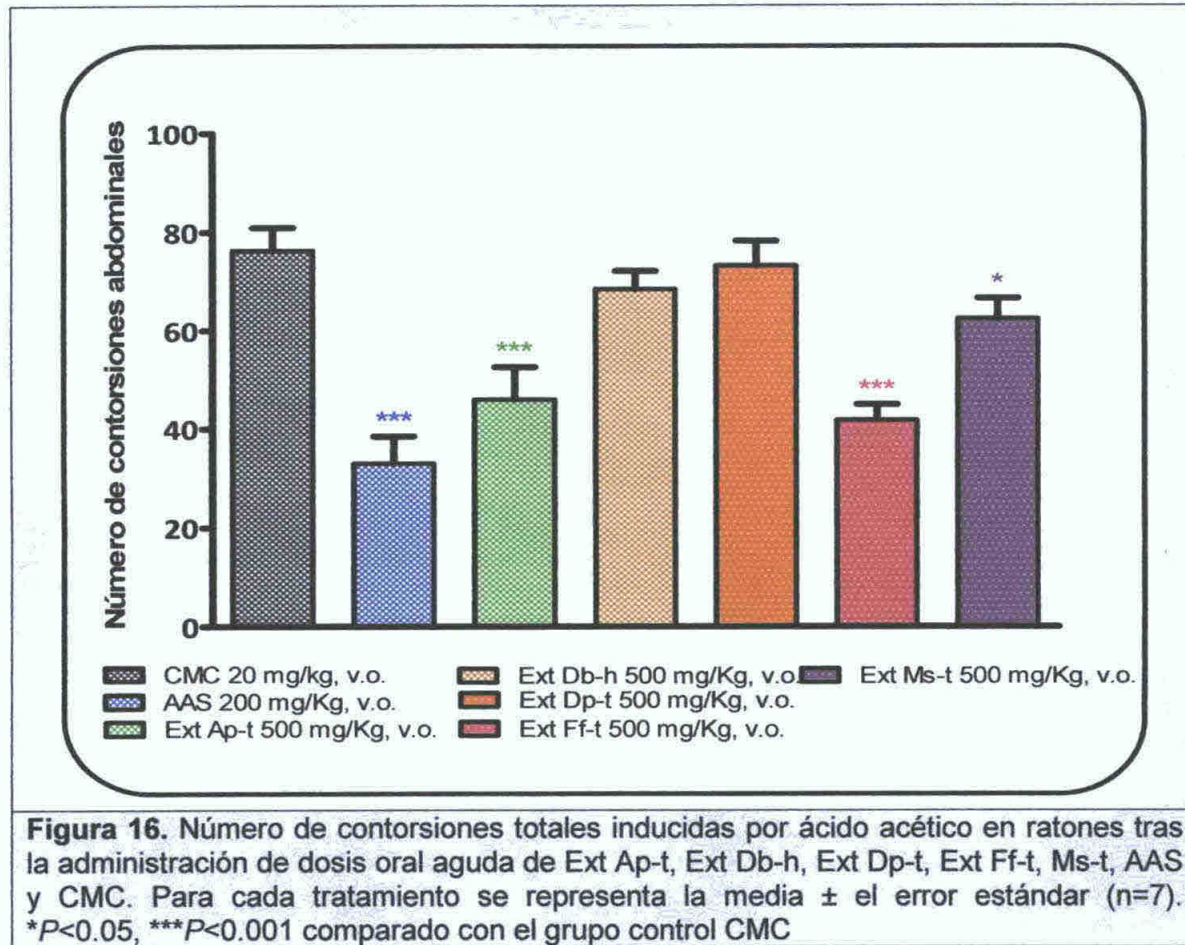
La actividad antinociceptiva de diversos extractos metanólicos de plantas panameñas fue ensayada a dosis única de 500 mg/Kg en ratones, empleando el método de nocicepción química inducida por ácido acético. En este modelo se mantuvo un grupo control positivo que recibió ácido acetilsalicílico, en tanto que se contó con un grupo de animales que recibieron el solvente empleado para disolver los extractos, CMC al 2%. En este modelo el AINE produjo una inhibición de la nocicepción en un 56.73 %, cuando el número de las contorsiones abdominales presentadas en este grupo fueron comparadas con las registradas en los que recibieron CMC (33 ± 5.48 y 76.27 ± 4.63 , respectivamente) durante los 30 minutos de observación (**Figura 16**). En cuanto a la modulación de la respuesta nociceptiva generada tras la administración de los extractos, en el **Cuadro IV** se puede observar que la mayor inhibición de las contorsiones se obtuvo con la administración de Ext Ff-t, con una actividad analgésica del 45.15 %. También es válido resaltar que se observó un efecto analgésico del 39.69 % cuando ensayamos el Ext Ap-t en el modelo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético. Para el Ext Ms-t, aunque se observa un efecto analgésico con respecto al grupo control que recibió CMC, este fue discreto (18.19 %), en tanto que los extractos Db-h y Dp-t no produjeron cambios significativos en la percepción del dolor de los animales, observando que el número de contorsiones totales fue de 68.40 ± 3.70 y 73.20 ± 4.97 ,

respectivamente, comparado con valores de 76.27 ± 4.63 para este mismo parámetro en ratones que recibieron CMC (**Figura 16**).

Cuadro IV. Porcentaje de actividad analgésica presentada por los Ext Ap-t, Ext Db-h, Ext Dp-t, Ext Ff-t, Ext Ms-t y AAS, en el modelo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético en ratones.

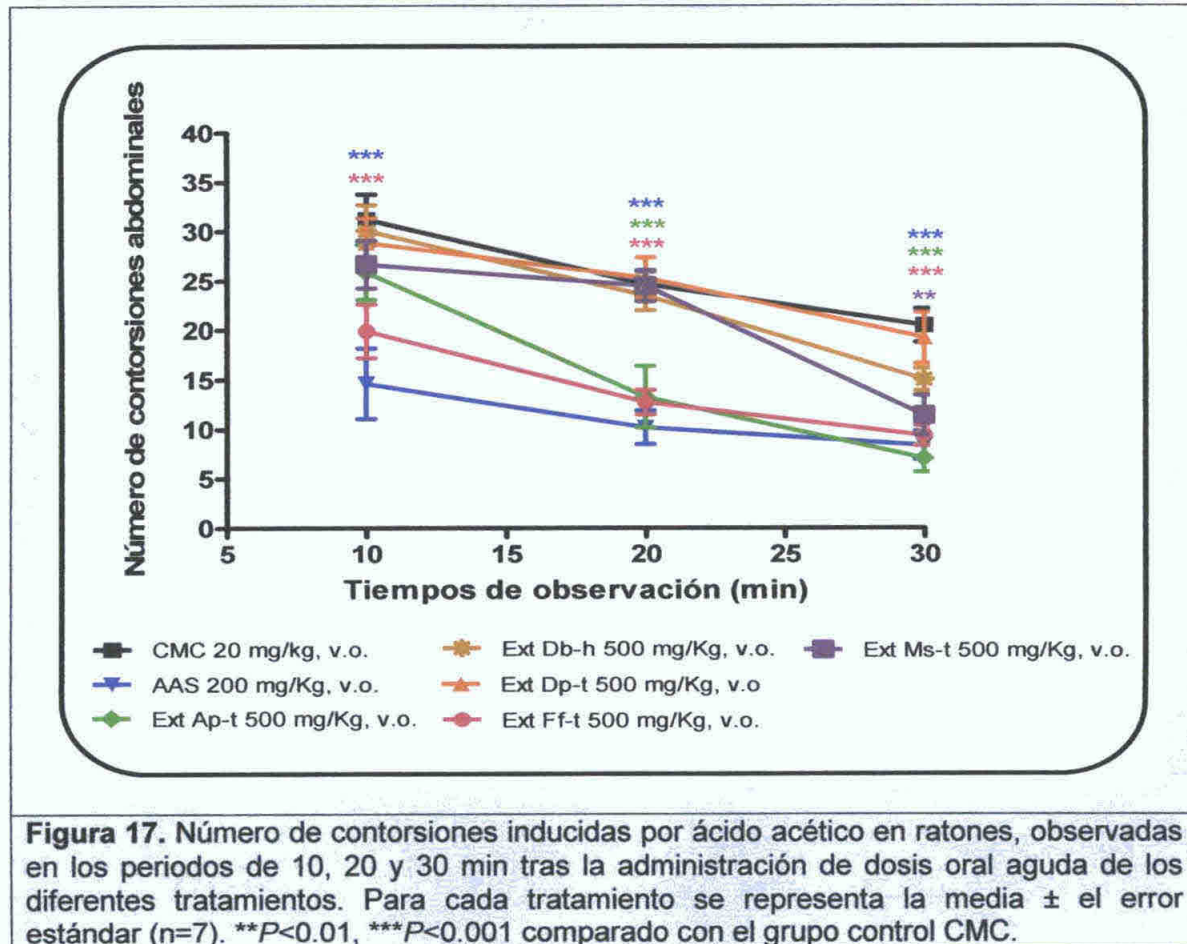
Tratamiento	Dosis (mg/Kg)	Analgesia (%)
CMC	20	0
AAS	200	56.73***
Ext Ap-t	500	39.69***
Ext Db-h	500	10.32
Ext Dp-t	500	4.03
Ext Ff-t	500	45.15***
Ext Ms-t	500	18.19*

Los resultados son expresados como la media \pm el error estándar (n=7). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ estadísticamente significativo comparado con el grupo control (*t* de student).



En la **Figura 17**, se observa el número de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético al 1%, a diferentes tiempos (10, 20 y 30 min) y en los diferentes grupos. En los primeros diez minutos de observación, se hizo evidente el efecto inhibitorio que produjo la administración del ácido acetilsalicílico (12.22 ± 3.20), al compararlo con las contorsiones desarrolladas por los animales del grupo control negativo (31.18 ± 2.53). A este mismo tiempo, un efecto similar al AINE fue desarrollado por Ext Ff-t (19.83 ± 2.70). Para el Ext Ap-t, que también mostró una significativa inhibición de la actividad nociceptiva, los efectos se

empezaron a evidenciar en el segundo periodo de observación, entre los 10 y 20 minutos del ensayo (25.8 ± 2.78 y 13.20 ± 3.10 , respectivamente).



B. Modelo de dolor inducido por formalina

En el modelo de nocicepción por estímulo tónico inducido por la administración de subplantar de formalina, se consideran dos periodos de observación. El primer periodo, que comprende los primeros 5 minutos tras la administración del agente algésico, hace referencia a un dolor tipo visceral mejor abolido por fármacos analgésicos que generen acciones predominantemente

sobre el SNC. Es así como nuestros resultados muestran que para este periodo, de los fármacos empleados como controles positivos, tramadol y ácido acetilsalicílico, sólo en el grupo que recibió el opioide se observó una reducción significativa de los eventos asociados con la nocicepción. Es así como en el **Cuadro V** se puede observar que en esta primera fase el tiempo total de lamidas y/o mordidas fue de 26.94 ± 6.35 segundos para el tramadol, frente al tiempo registrado para ácido acetilsalicílico (50.44 ± 10.81 segundos) y CMC (72.53 ± 7.80 segundos). Para este mismo periodo ninguno de los extractos evaluados mostró una inhibición significativa de la nocicepción.

El segundo periodo de observación, denominado fase tardía, se refiere a un periodo de sensibilización durante el cual se producen los fenómenos inflamatorios. En el **Cuadro V** se observa como los grupos que recibieron los patrones de referencia mostraron una reducción del tiempo total de lamidas y mordidas siendo de 1.09 ± 0.28 segundos para el ácido acetilsalicílico y de 1.64 ± 1.54 segundos para el tramadol, frente al tiempo de respuesta nociceptiva registrada para el grupo que recibió CMC (72.38 ± 5.58 segundos). Teniendo estos valores como referencia, se estimó que el porcentaje de inhibición de la nocicepción fue de 98.49 % y 97.74 %, para el ácido acetilsalicílico y tramadol, respectivamente. Aunque, como ya se mencionó, ninguno de los extractos evaluados mostró efecto inhibitorio en la primera fase (0-5 min), sí se observó que todos generaron un efecto inhibitorio significativo en la segunda fase (15-30 min) de la prueba de algesia inducida por formalina (**Cuadro V**). El porcentaje

máximo de inhibición en esta segunda fase se observó con el Ext Ms-t (91.38 %), siendo similar a los efectos obtenidos con los controles positivos en esta misma fase. También fueron significativos los efectos inhibitorios de la nocicepción generados por la administración de Ext Ap-t y Ext Dp-t, quienes generaron una inhibición del 83.43 y 83.86 %, respectivamente. Aunque significativos, los efectos sobre la modulación de la nocicepción fueron más discretos para el Ext Db-h y Ff-t con un porcentaje de inhibición de 62.04 y 56.45 %, respectivamente. La **Figura 18** demuestra el tiempo de lamidas y/o mordidas (s), cuantificado en ambas fases y para todos los grupos de tratamiento. En esta figura se observa que en el grupo que recibió tramadol, los efectos inhibitorios se observaron en ambas fases, aunque un efecto mayor se observó en la fase tardía. También se observó que en la fase temprana no había diferencias entre los grupos que recibieron los extractos evaluados y el grupo control negativo (CMC 2%).

Cuadro V. Efecto de los Ext Ap-t, Ext Db-h, Ext Dp-t, Ext Ff-t, Ext Ms-t, AAS y tramadol sobre el estímulo nociceptivo inducido por formalina en ratones.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Tiempo total de lamidas y mordidas (s)		Inhibición (%)	
		Fase Temprana 0-5 min	Fase Tardía 15-30 min	Fase Temprana 0-5 min	Fase Tardía 15-30 min
CMC	20	72.53 ± 7.80	72.38 ± 5.58	---	---
AAS	200	50.44 ± 10.81	1.09 ± 0.28	30.45	98.49***
Tramadol Sc	20	26.94 ± 6.35	1.64 ± 1.54	62.85***	97.74***
Ext Ap-t	500	57.70 ± 7.94	12.00 ± 7.43	20.44	83.43***
Ext Db-h	500	58.10 ± 6.10	27.48 ± 6.66	19.89	62.04***
Ext Dp-t	500	66.19 ± 6.19	12.05 ± 2.30	8.74	83.36***
Ext Ff-t	500	62.75 ± 13.36	31.52 ± 24.28	13.48	56.45*
Ext Ms-t	500	53.74 ± 9.80	6.24 ± 1.72	25.90	91.38***

Los resultados son expresados como la media ± el error estándar (n=7). *P<0.05, ***P<0.001 comparado con el grupo control (seguido por t de student).

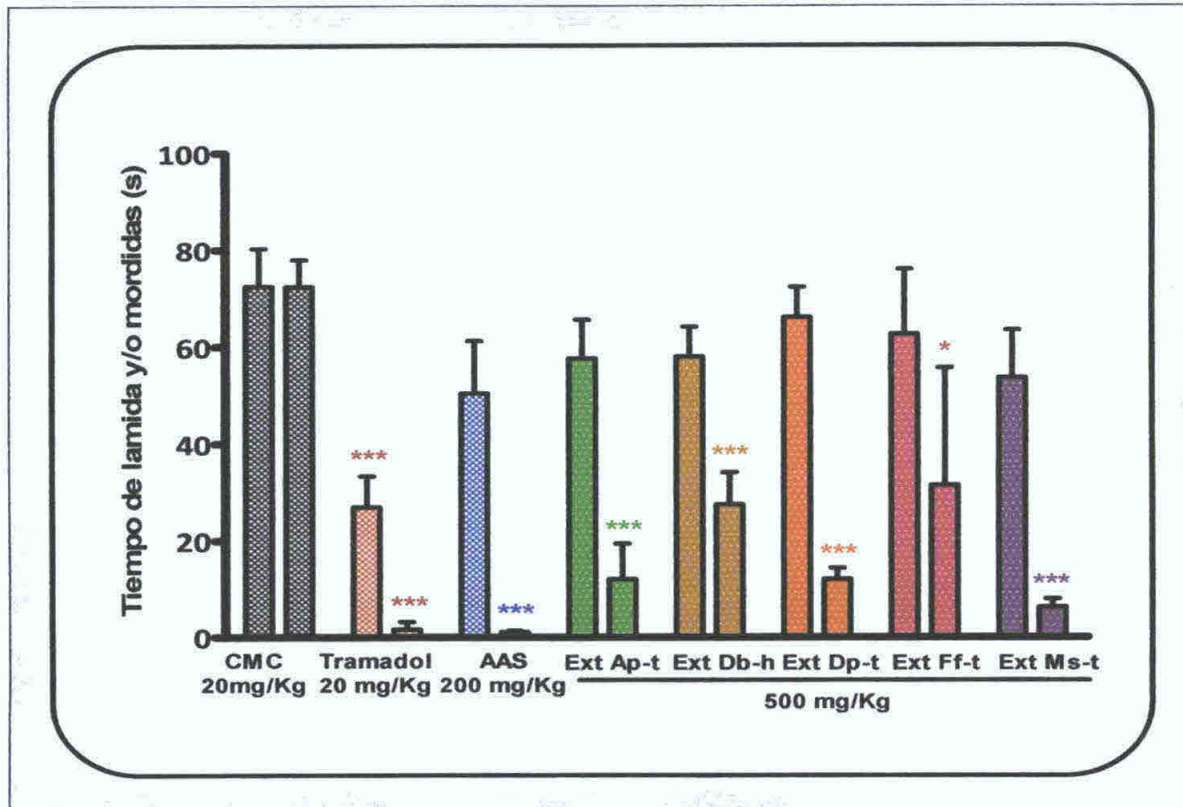


Figura 18. Efecto de los Ext Ap-t, Ext Db-h, Ext Dp-t, Ext Ff-t, Ext Ms-t, AAS y tramadol sobre la nocicepción inducida por formalina en ratones. La primera barra para cada tratamiento representa la fase temprana (0-5 minutos), mientras que la segunda representa la fase tardía (15-30 minutos). Cada barra representa la media \pm el error estándar ($n=7$). * $P<0.05$, *** $P<0.001$ estadísticamente significativo vs grupo control CMC.

C. Modelo de plato caliente

La modulación del dolor empleando un estímulo térmico, fue evaluada mediante el método de plato caliente en ratones. En este modelo, la valoración de la nocicepción, tal como fue detallada en la metodología, fue determinada cada 30 minutos, durante 2 horas (**Cuadro VI**). El tramadol, compuesto patrón positivo para esta prueba, produjo una inhibición de la nocicepción desde la primera determinación al minuto 30 con un porcentaje de EMP de 60.08; efecto que se mantuvo invariable para los periodos subsecuentes. En cuanto a los

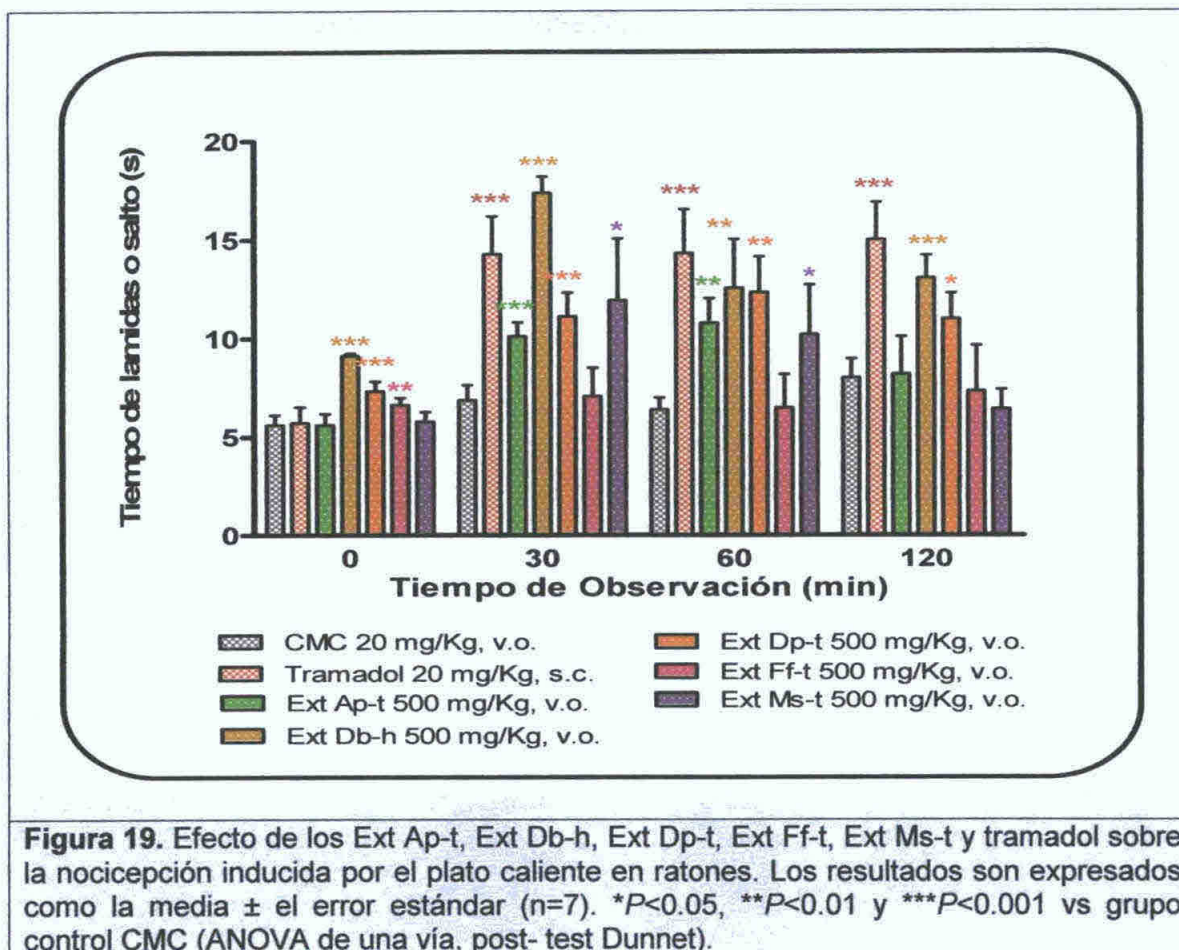
extractos ensayados, resultados concluyentes solo fueron posibles para Ext Ap-t, Ext Ff-t y Ext Ms-t, los cuales a tiempo cero mostraron un tiempo de respuesta similar al grupo control CMC. Para estos extractos cabe señalar que el % EMP que indujeron fue de 31.34, 3.29 y 43.31 para Ext Ap-t, Ext Ff-t y Ext Ms-t, respectivamente, para el mismo periodo de 30 minutos donde el efecto producido por tramadol fue de 60.08. Aunque Ext Ap-t y Ext Ms-t produjeron una inhibición significativa de la nocicepción, la misma no alcanzó a ser ponderablemente similar a la obtenida con el opioide.

En el Cuadro VI y la Figura 19 se observó como los grupos tratados con Ext Db-h y Ext Dp-t, a tiempo cero mostraron un tiempo de respuesta significativamente mayor que el grupo que recibió CMC (9.13 ± 0.16 , 7.33 ± 0.63 y 5.61 ± 0.51 , respectivamente). Estas diferencias hacen difícil un análisis intergrupar confiable, por lo que el efecto inhibitorio determinado para el Ext Db-h a los 30 minutos (76.08) debe ser analizado con mucha precaución. Para este dato cabe considerar un análisis intragrupal, en el cual el tiempo de respuesta se incrementó significativamente a los 30 minutos en comparación con la valoración de la nocicepción a tiempo cero para el mismo grupo, siendo de 9.13 ± 0.16 segundos antes de la administración del extracto y de 17.40 ± 0.96 segundos después del tratamiento.

Cuadro VI. Efecto de los Ext Ap-t, Ext Db-h, Ext Dp-t, Ext Ff-t, Ext Ms-t y tramadol sobre el dolor inducido por plato caliente en ratones.

Grupo	Dosis (mg/kg)	Tiempo de respuesta (s) (% EMP)			
		0	30	60	120
CMC	20	5.61 ± 0.51	6.87 ± 0.76	6.38 ± 0.61	8.01 ± 0.97
Tramadol	20	5.72 ± 0.81	14.3 ± 1.89*** (60.08)	14.35 ± 2.21*** (60.43)	15.03 ± 1.90** (65.21)
Ext Ap-t	500	5.61 ± 0.57	10.12 ± 0.72*** (31.34)	10.80 ± 1.25** (36.07)	13.07 ± 1.38*** (36.27)
Ext Db-h	500	9.13 ± 0.16***	17.40 ± 0.96*** (76.08)	12.56 ± 2.95** (31.54)	13.07 ± 1.38*** (36.27)
Ext Dp-t	500	7.33 ± 0.63***	11.14 ± 1.52*** (30.04)	12.35 ± 2.29** (39.62)	11.01 ± 1.65* (29.06)
Ext Ff-t	500	6.64 ± 0.33	7.08 ± 1.31 (3.29)	6.48 ± 1.56 (-1.20)	7.32 ± 2.13 (5.09)
Ext Ms-t	500	5.80 ± 0.48	11.95 ± 3.13* (43.31)	10.22 ± 2.52* (31.13)	6.42 ± 0.99 (4.37)

Los resultados son expresados como la media ± el error estándar (n=7). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs grupo control CMC (ANOVA de una vía, post-test Dunnet).



II. Evaluación de la actividad antiinflamatoria

A. Modelo preventivo del edema plantar inducido por λ -carragenina

El primero de los modelos en considerarse para valorar el efecto antiinflamatorio de los extractos fue el del edema plantar inducido por λ -carragenina. En el **Cuadro VII**, se observa el perfil de actividad antiinflamatoria logrado con la administración de indometacina, patrón de referencia. La latencia del efecto antiinflamatorio para el AINE fue de 2 horas, periodo en el que también se logró el máximo efecto inhibitorio (46.73). Los efectos

antiinflamatorios producidos por el fármaco prevalecieron hasta la sexta hora de observación, cuando el volumen de desplazamiento fue de 0.66 ± 0.13 mL en comparación con el volumen de desplazamiento registrado para el grupo que recibió CMC, siendo éste de 1.06 ± 0.13 mL.

En cuanto a la valoración del efecto antiinflamatorio para los diferentes extractos ensayados, bien vale una descripción individual de cada uno, considerando parámetros como latencia, efecto máximo y duración de acción, similar a como fuera planteado para el fármaco patrón.

En los animales que recibieron el Ext Ap-t se observó una latencia de 30 minutos y el máximo efecto inhibitorio (52.77 % de inhibición) a los 60 minutos tras la administración de λ -carragenina (**Cuadro VII y Figura 20**). Para este extracto, para el que no se observó actividad antiinflamatoria a la tercera y cuarta hora, se registra una reaparición del efecto a las 6 horas de evaluación en la que el porcentaje de inhibición del edema fue de 49.81 %.

En el **Cuadro VII y Figura 21** se observa como la administración de Ext Db-h en ratas a las que se le indujo edema plantar con λ -carragenina, generó un efecto inhibitorio de 51.90 % a la primera hora después de su administración, coincidiendo latencia y efecto máximo. Al igual que se observa para el Ext Ap-t, con la administración del Ext Db-h el efecto antiinflamatorio deja de ser evidente durante la tercera y cuarta hora y se observa nuevamente a la quinta hora donde el % de inhibición de la inflamación fue de 30.78 %.

La **Figura 22** muestra el volumen de desplazamiento de las ratas que recibieron el Ext Dp-t, en contraste con los grupos tratados con indometacina y

CMC Tal como se puede apreciar, este extracto modificó dicho parámetro de manera significativa a la 0,5 horas (0.07 ± 0.03 mL) en comparación con los valores obtenidos a este mismo tiempo en animales del grupo control negativo (0.27 ± 0.05 mL). A los 30 y 60 minutos se observan los efectos inhibitorios máximos, siendo de 75.13 y 70.70 %, respectivamente. Para este extracto se observa un efecto antiinflamatorio, que aunque decrece a partir de la segunda hora, mantiene diferencia significativa con el grupo CMC hasta la sexta hora de observación, donde los volúmenes de desplazamiento fueron de 0.65 ± 0.06 y 1.06 ± 0.13 mL, respectivamente.

Lo que respecta al Ext Ft-t, cuyos resultados se resumen en el Cuadro VII y Figura 23, sus efectos no inhibieron en el desarrollo del edema plantar y resultó comparable al control negativo y en consecuencia, ineficaz a todos los tiempos. El mayor efecto inhibitorio de la formación del edema después de la administración del Ext Ms-t se observó en las dos primeras determinaciones (Figura 24). Como se registra en el Cuadro VII, a los 30 minutos el efecto fue del 78.84 % de inhibición en tanto que a los 60 minutos el efecto inhibitorio fue de 72.45 %. La actividad antiinflamatoria para este extracto decreció a partir de la segunda hora, y al igual que el que fue registrado para los Ext Ap-t y Ext Db-h, se observa una reaparición de la actividad a las seis horas de observación, que además para el Ext Ms-t fue mayor que el observado en el grupo que recibió indometacina (51.28 vs 37.71 %).

Modelo preventivo de edema plantar inducido por λ -carragenina.

Cuadro VII. Efecto preventivo de los Ext Ap-t, Ext Db-h, Ext Dp-t, Ext Ff-t, Ext Ms-t e indometacina sobre el edema plantar inducido por λ -carragenina en ratas, expresado como el volumen de desplazamiento (mL) y el % de actividad antiinflamatoria.

Grupo	Dosis (mg/kg)	Periodos de observación (h)							
		0.5	1	2	3	4	5	6	24
CMC	20	0.27 ± 0.05	0.33 ± 0.06	0.88 ± 0.15	1.13 ± 0.11	1.26 ± 0.15	1.27 ± 0.11	1.06 ± 0.13	0.44 ± 0.05
Indometacina	10	0.19 ± 0.06 (28.52)	0.24 ± 0.07 (25.61)	0.47 ± 0.13* (46.73)	0.66 ± 0.15* (41.82)	0.71 ± 0.16* (43.26)	0.79 ± 0.17* (37.96)	0.66 ± 0.13* (37.71)	0.35 ± 0.08 (20.68)
Ext Ap-t	500	0.13 ± 0.06* (50.79)	0.15 ± 0.05* (52.77)	0.52 ± 0.06* (40.90)	0.90 ± 0.09 (20.92)	1.01 ± 0.08 (19.97)	0.96 ± 0.12 (24.27)	0.53 ± 0.06** (49.81)	0.34 ± 0.06 (22.08)
Ext Db-h	500	0.16 ± 0.06 (39.68)	0.16 ± 0.05* (51.90)	0.47 ± 0.09* (47.05)	0.84 ± 0.14 (25.58)	0.93 ± 0.11 (25.65)	0.88 ± 0.12* (30.78)	0.71 ± 0.16* (33.57)	0.32 ± 0.03* (26.62)
Ext Dp-t	500	0.07 ± 0.03** (75.13)	0.10 ± 0.04** (70.70)	0.44 ± 0.08* (50.45)	0.86 ± 0.07* (24.07)	0.92 ± 0.10* (26.90)	0.89 ± 0.08** (30.22)	0.65 ± 0.06** (38.67)	0.34 ± 0.03 (22.73)
Ext Ff-t	500	0.38 ± 0.10 (-39.81)	0.39 ± 0.09 (-17.86)	1.12 ± 0.21 (-26.95)	1.16 ± 0.18 (-2.47)	1.18 ± 0.19 (6.50)	1.22 ± 0.10 (4.19)	1.00 ± 0.14 (6.52)	0.30 ± 0.03* (32.95)
Ext Ms-t	500	0.06 ± 0.03** (78.84)	0.09 ± 0.05** (72.45)	0.55 ± 0.11 (37.66)	0.92 ± 0.11 (18.65)	1.03 ± 0.09 (17.70)	0.99 ± 0.13 (22.36)	0.52 ± 0.11** (51.28)	0.40 ± 0.03 (8.77)

Los resultados son expresados como la media ± el error estándar (n=7). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ estadísticamente significativo comparado con el grupo control (ANOVA de una vía, seguido por t de student).

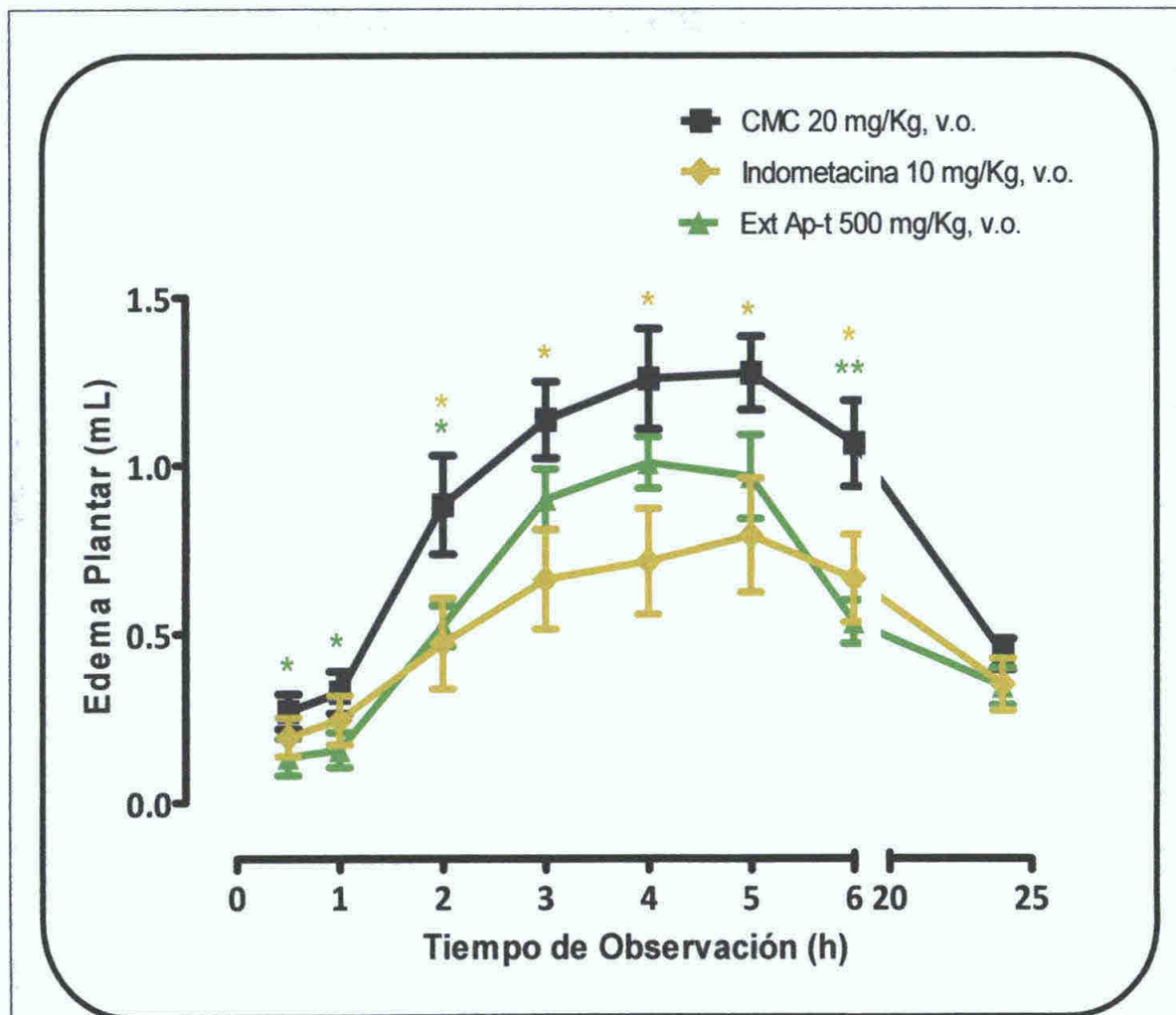


Figura 20. Efecto preventivo del Ext Ap-t e indometacina sobre el edema plantar inducido por λ -carragenina en ratas. Los resultados son expresados como la media \pm el error estándar (n=7). * $P < 0.05$ estadísticamente significativo comparado con el grupo control (ANOVA de una vía, seguido por t de student).

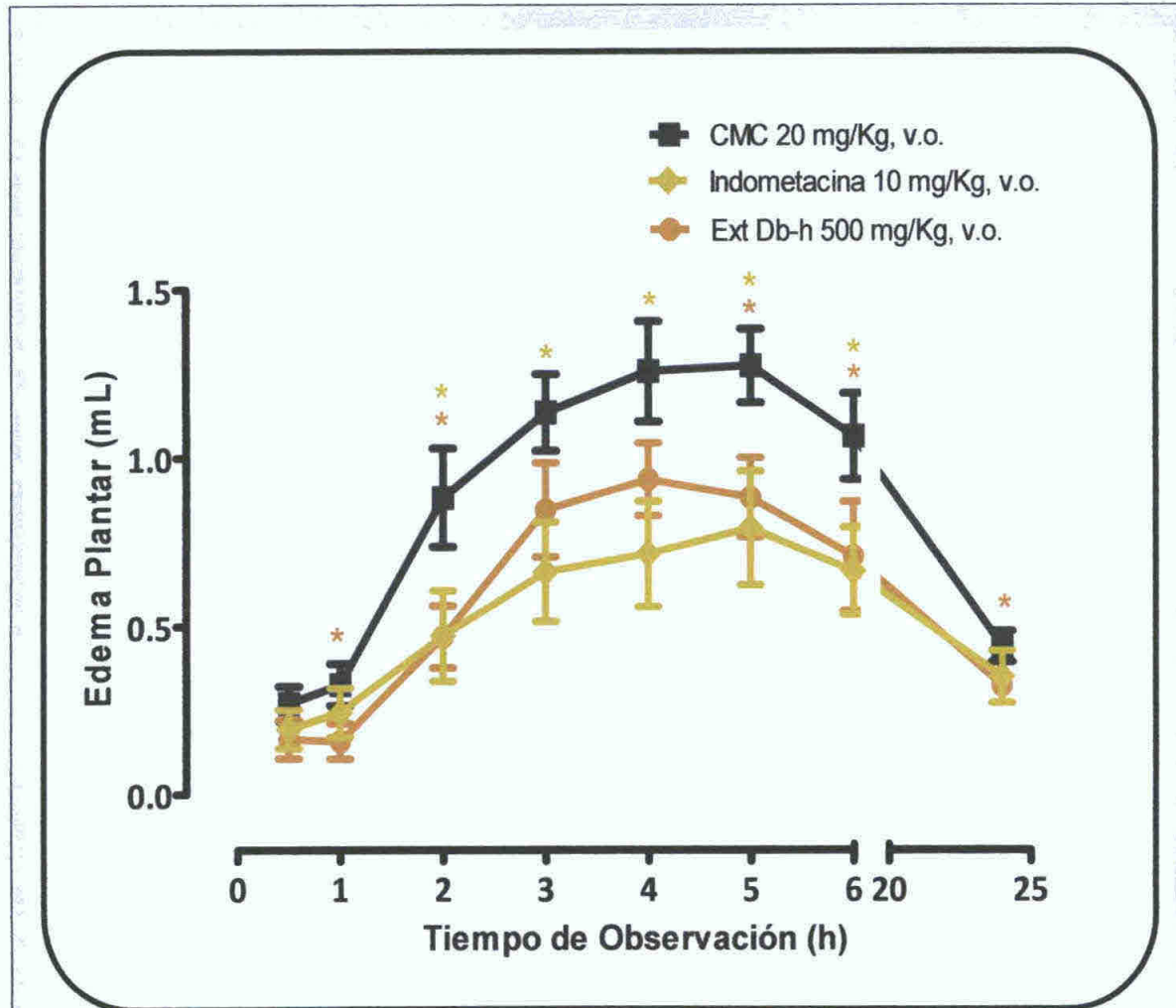
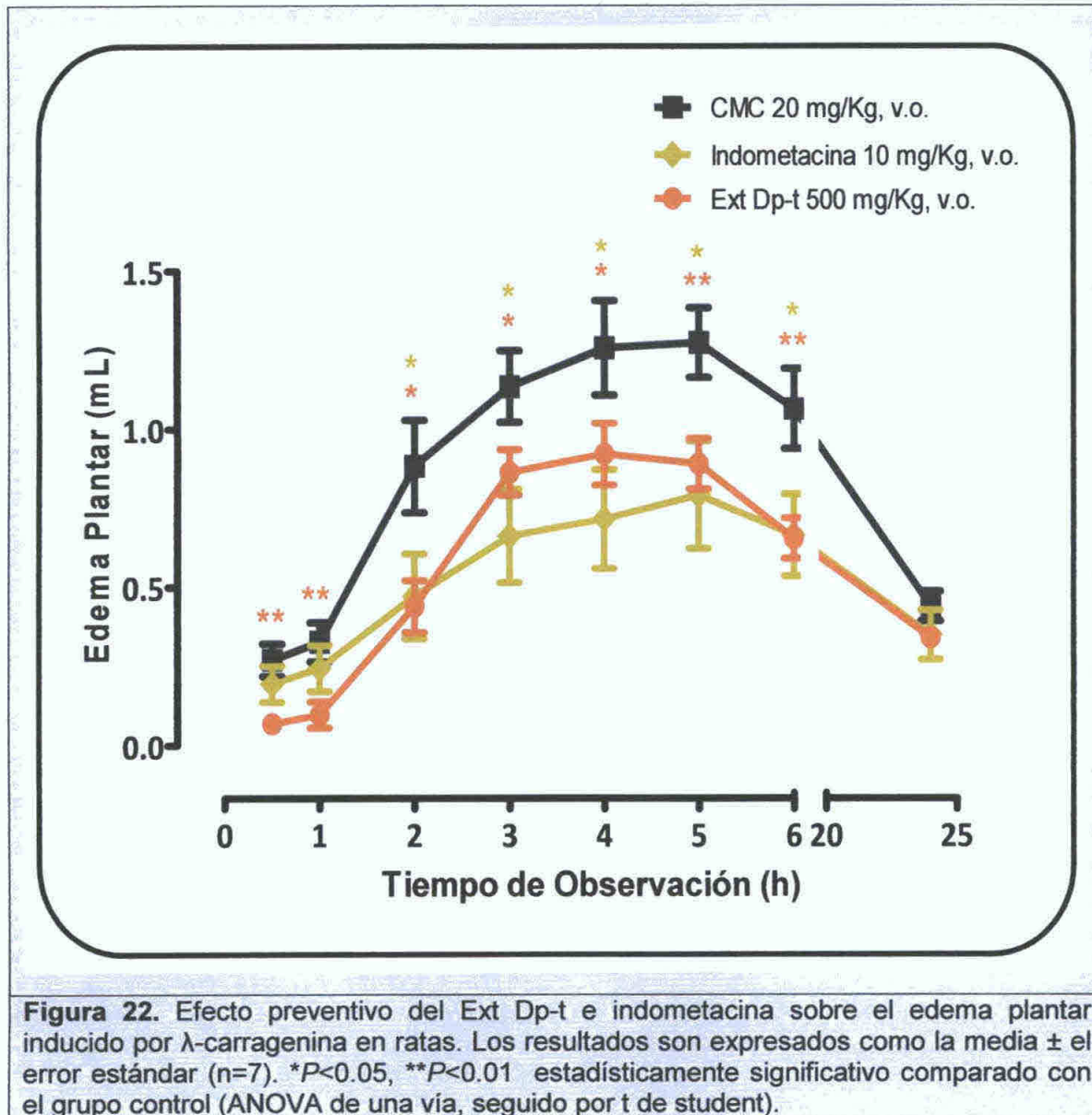
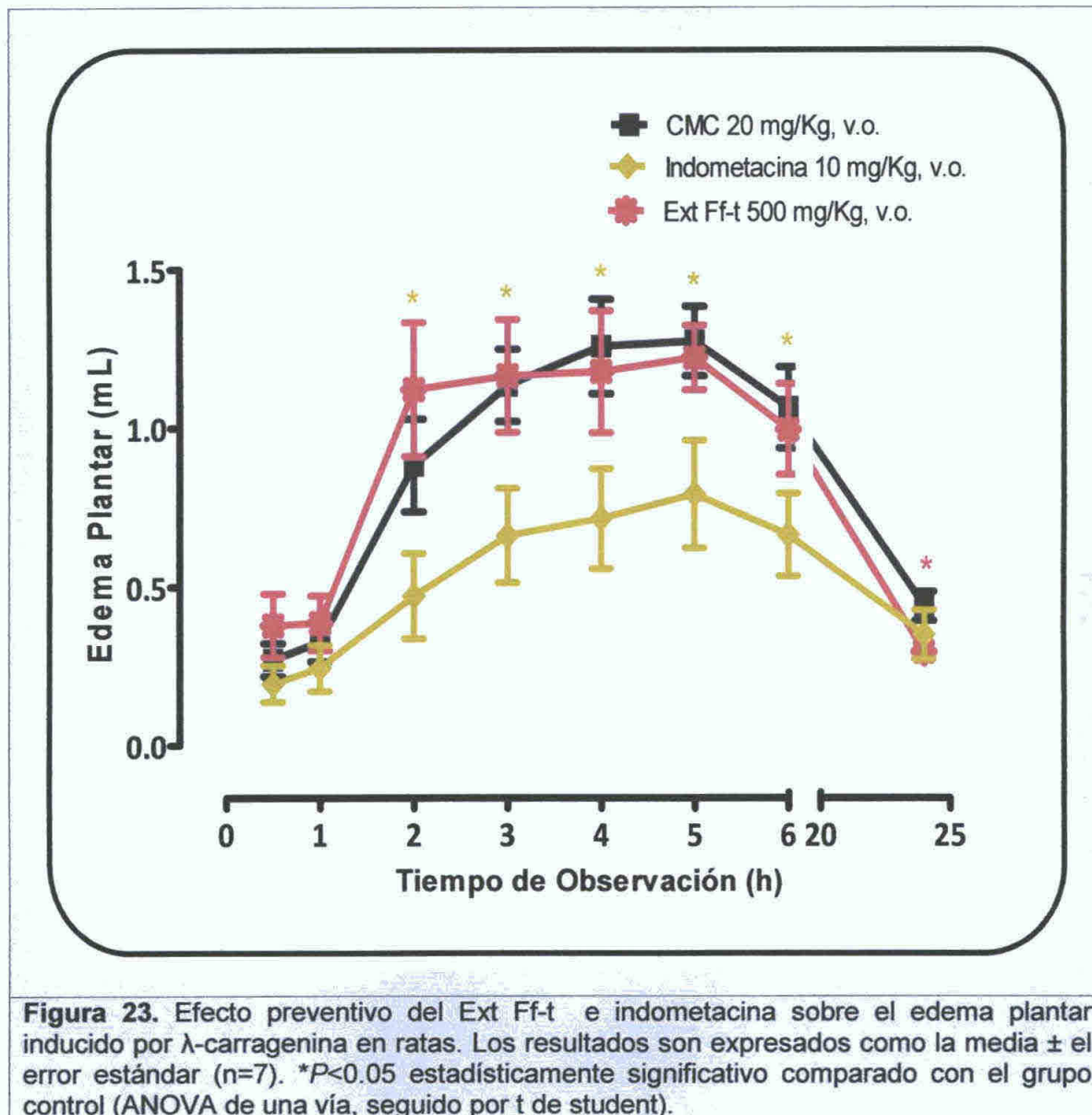
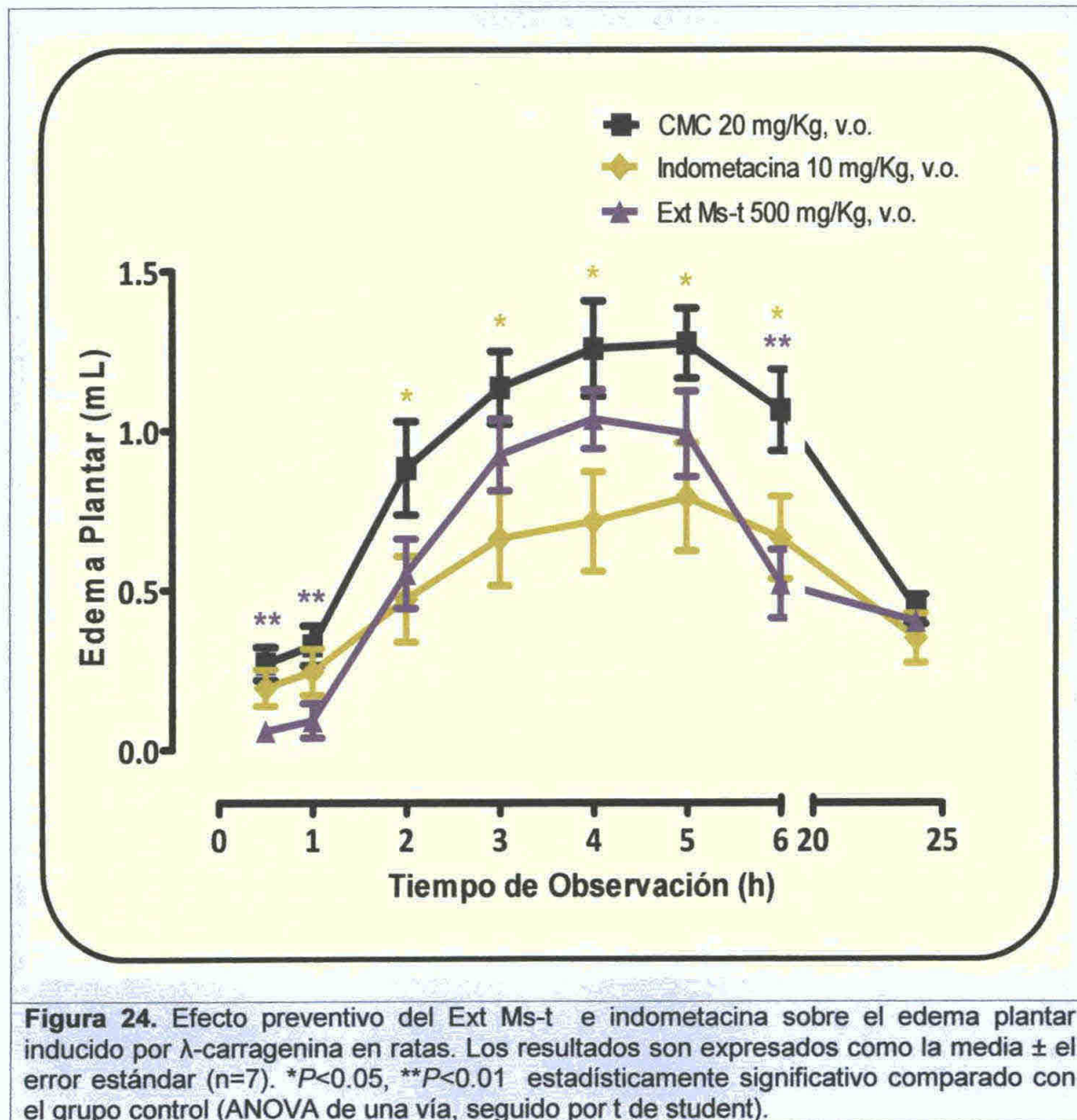


Figura 21. Efecto preventivo del Ext Db-h e indometacina sobre el edema plantar inducido por λ -carragenina en ratas. Los resultados son expresados como la media \pm el error estándar (n=7). * $P < 0.05$ estadísticamente significativo comparado con el grupo control (ANOVA de una vía, seguido por t de student).







B. Modelo curativo del edema plantar inducido por λ -carragenina

Como se describió detallado en el capítulo de metodología, en el modelo curativo del edema plantar inducido por λ -carragenina, el agente proinflamatorio fue administrado una hora antes que los animales recibieran el tratamiento a ensayar, patrón o extracto. En el **Cuadro VIII** se resumen los efectos observados con cada uno de los tratamientos, siendo evidente la capacidad inhibitoria de la inflamación lograda con la administración del fármaco de referencia, que a todos los tiempos logró inhibir el edema en valores mínimos de 32.41% a las 4.5 horas y máximos del 37.48% a las 24 horas.

Para introducir la revisión de los resultados obtenidos con los extractos, cabe señalar que para este modelo sólo se emplearon los que generaron una actividad antiinflamatoria significativa en el modelo preventivo. Siendo estos los extractos Ext Ap-t, Ext Dp-t y Ext Ms-t. Se puede observar en el **Cuadro VIII** y **Figura 25**, que el Ext Ap-t moduló favorablemente el desarrollo del edema plantar inducido por λ -carragenina, logrando efectos inhibitorios desde la primera determinación a la cuarta hora del ensayo (43.29%) y que fueron en incremento hasta las 24 horas donde la actividad antiinflamatoria fue del 83.65%. También para el Ext Dp-t se observó que era capaz de desarrollar un efecto curativo del edema al inhibir su formación en un 23.49% y 59.62%, en los periodos de evaluación de los efectos a las 4 y 24 horas, respectivamente (**Figura 25**). Por último, como se aprecia en el **Cuadro VIII** y **Figura 25**, el Ext Ms-t mostró un perfil inhibitorio superior al 32% en todos los periodos de observación, siendo máximo a las 24 horas donde la actividad fue del 63.85%.

Cuadro VIII. Efecto curativo de los Ext Ap-t, Ext Dp-t, Ext Ms-t e indometacina sobre el edema plantar inducido por λ -carragenina en ratas.

Grupo	Dosis (mg/kg)	Duración del estudio (h)				
		4	4.5	5	6	24
CMC	20	1.75 ± 0.09	1.67 ± 0.09	1.58 ± 0.11	1.53 ± 0.07	0.74 ± 0.08
Indometacina	10	1.16 ± 0.16** (33.42)	1.13 ± 0.16** (32.41)	1.01 ± 0.14** (36.02)	1.03 ± 0.15** (33.01)	0.46 ± 0.07** (37.48)
Ext Ap-t	500	0.99 ± 0.12*** (43.29)	0.91 ± 0.12*** (45.55)	0.83 ± 0.13*** (47.33)	0.71 ± 0.11*** (54.00)	0.12 ± 0.04*** (83.65)
Ext Dp-t	500	1.34 ± 0.06** (23.49)	1.39 ± 0.11* (16.52)	1.28 ± 0.10* (18.91)	1.28 ± 0.11* (16.48)	0.30 ± 0.09** (59.62)
Ext Ms-t	500	1.03 ± 0.06*** (40.75)	1.13 ± 0.06*** (32.11)	1.07 ± 0.05*** (32.22)	0.83 ± 0.05*** (46.00)	0.27 ± 0.03*** (63.85)

Los resultados son expresados como la media ± el error estándar (n=7). ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$, **** $P < 0.001$ estadísticamente significativo comparado con el grupo control (ANOVA de una vía, seguido por t de student).

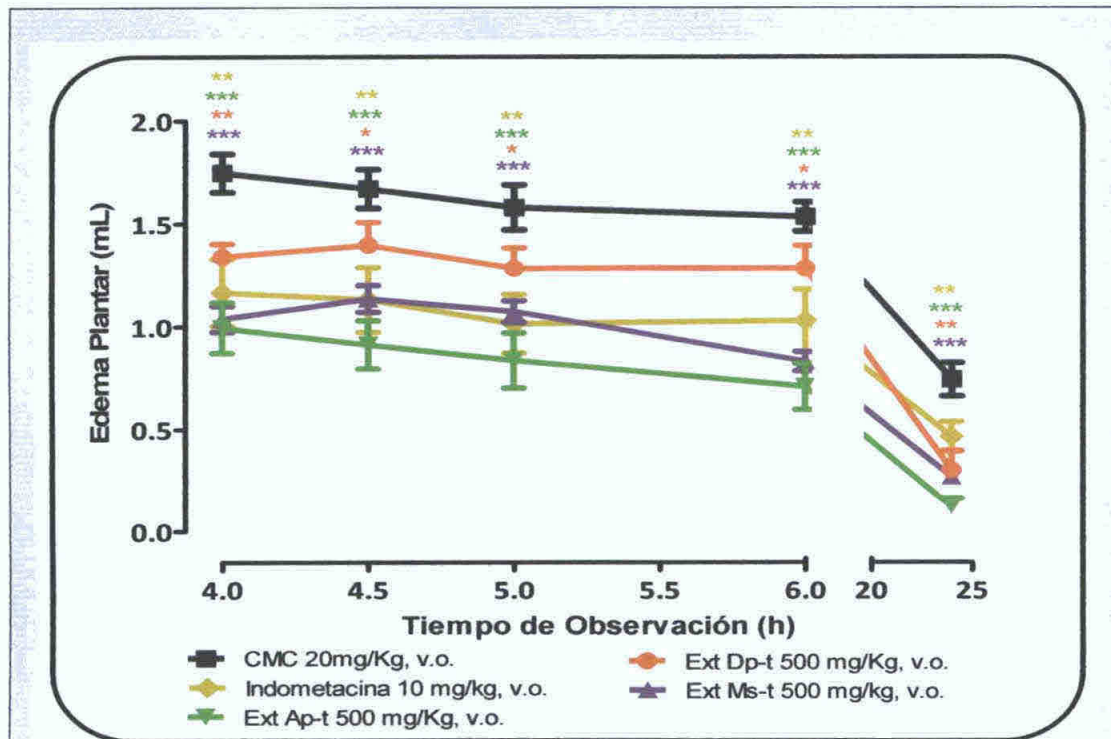


Figura 25. Efecto curativo de los Ext Ap-t, Ext Dp-t, Ext Ms-t e indometacina sobre el edema plantar inducido por λ -carragenina en ratas. Los resultados son expresados como la media ± el error estándar (n=7). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ estadísticamente significativo comparado con el grupo control (ANOVA de una vía, seguido por t de student).

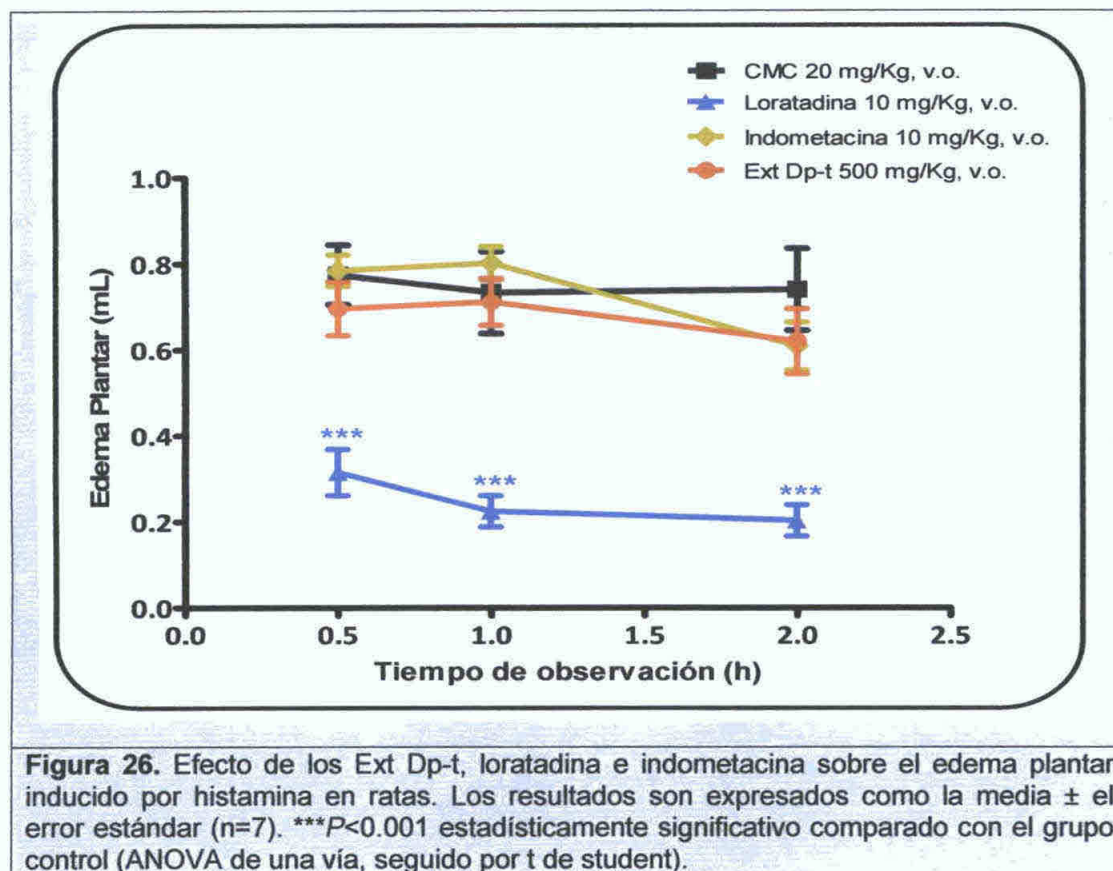
C. Modelo de edema plantar inducido por histamina

Con base en los resultados obtenidos en el modelo preventivo de carragenina donde los extractos de Ap-t, Dp-t y Ms-t mostraron efecto inhibitorio del edema a los tiempos iniciales de medición, debíamos determinar el efecto de estos extractos sobre otros mediadores de inflamación, sin embargo por problemas con la disponibilidad de los extractos, procedimos a evaluar únicamente el Ext Dp-t. El **Cuadro IX y la Figura 26**, muestran el efecto del Ext Dp-t sobre el edema plantar inducido por histamina. El extracto de planta exhibe una reducción no significativa del edema inducido por histamina con una inhibición máxima de 10.33% (0.5 h), en contraposición de Loratadina, usada como fármaco de referencia, quien disminuyó el edema inducido por histamina en 69.59 % (1 h) y 72.78 % (2 h).

Cuadro IX. Efecto del Ext Dp-t, loratadina e indometacina sobre el edema plantar inducido por histamina en ratas

Grupo	Dosis (mg/kg)	Duración del estudio (h)		
		0.5	1	2
CMC	20	0.77 ± 0.07	0.73 ± 0.10	0.74 ± 0.10
Loratadina	10	0.31 ± 0.05 (59.59) ^{***}	0.22 ± 0.04 (69.59) ^{***}	0.20 ± 0.04 (72.78) ^{***}
Indometacina	10	0.78 ± 0.04 (-1.11)	0.80 ± 0.04 (-9.16)	0.61 ± 0.06 (17.95)
Ext Dp-t	500	0.69 ± 0.06 (10.33)	0.71 ± 0.05 (3.12)	0.62 ± 0.08 (16.41)

Los resultados son expresados como la media ± el error estándar (n=7).
^{***}P<0.001 estadísticamente significativo comparado con el grupo control (ANOVA de una vía, seguido por t de student).



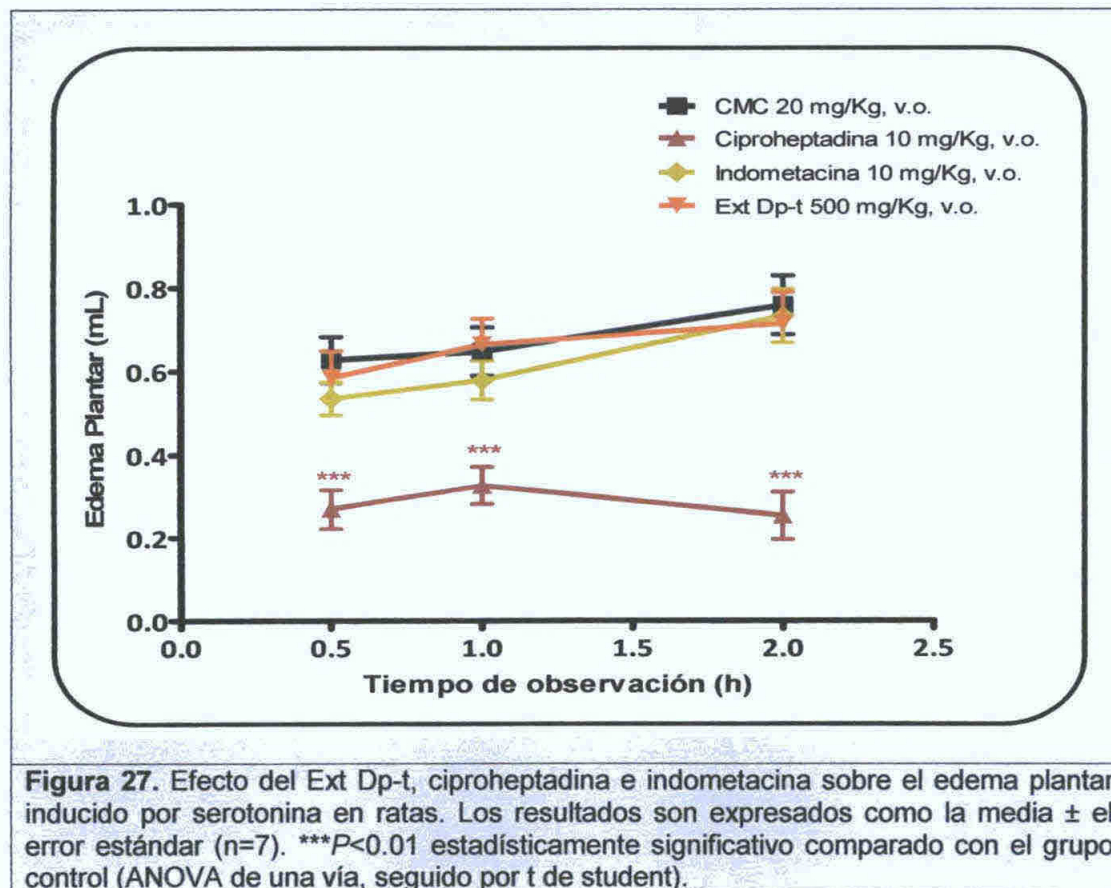
D. Modelo de edema plantar inducido por serotonina

El Cuadro X y la Figura 27, muestran el efecto de los tratamientos sobre el edema plantar inducido por serotonina. En este se puede observar que mientras que la administración del patrón de referencia para este modelo, ciproheptadina disminuyó el edema inducido por serotonina en 57.40, 49.89 y 66.85 % a las 0.5, 1 y 2 horas, respectivamente; mientras que el Ext Dp-t exhibió una reducción no significativa del edema, mostrando un efecto máximo de 7.06% (0.5h).

Cuadro X. Efecto del Ext Dp-t, ciproheptadina e indometacina sobre el edema plantar inducido por serotonina en ratas.

Grupo	Dosis (mg/kg)	Duración del estudio (h)		
		0.5	1	2
CMC	20	0.63 ± 0.06	0.65 ± 0.06	0.76 ± 0.07
Ciproheptadina	10	0.27 ± 0.05 (57.40)***	0.32 ± 0.04 (49.89)***	0.25 ± 0.06 (66.85)***
Indometacina	10	0.53 ± 0.04 (15.03)	0.58 ± 0.05 (10.82)	0.73 ± 0.06 (3.58)
Ext Dp-t	500	0.58 ± 0.06 (7.06)	0.66 ± 0.06 (-2.43)	0.71 ± 0.07 (6.03)

Los resultados son expresados como la media ± el error estándar (n=7). ***P<0.001 estadísticamente significativo comparado con el grupo control (ANOVA de una vía, seguido por t de student).



DISCUSIÓN

La investigación relacionada con las propiedades terapéuticas de las plantas representa, para los países en vía de desarrollo, un valioso aporte científico, sobretodo si van de la mano de los fundamentos que garantizan la conservación, rescate y difusión de conocimientos populares y la preservación de la biodiversidad. El empleo de las plantas con fines curativos se ha practicado desde tiempos remotos y desde el principio de la medicina, estos fueron el principal y único recurso de que disponían para el tratamiento de las enfermedades (Akerle, 1993)

Una de las familias de plantas que brinda innumerables beneficios, desde la perspectiva económica y etnobotánica, es la Fabaceae (Leguminosae). Esta familia de plantas se caracteriza por poseer una distribución cosmopolita, con cerca de 730 géneros y 19 400 especies, situada en el tercer lugar en el mundo con respecto a la riqueza de especies (Morales y Ladio, 2012). Esta gran riqueza de especies se refleja en la amplia diversidad morfológica y química, de la cual se derivan múltiples usos (Judd *et al* , 2002). Es así como, en términos socioeconómicos, su importancia se pone de relieve al ser útil por los recursos de madera, colorantes, resinas, insecticidas, fibras, forraje, así como su valor alimenticio y potencial uso medicinal (Morales y Ladio, 2012). Es este último caso, su potencial uso en el abordaje terapéutico de muchas enfermedades, lo que ha despertado el interés de valorar sus propiedades biológicas. A este respecto, podemos señalar que las plantas leguminosas han mostrado efectos beneficiosos en diversas enfermedades, entre las que cuentan diabetes, obesidad (Venn y Mann, 2004), enfermedades cardiovasculares (Anderson *et al* ,

1999), varios tipos de cáncer (Mathers, 2002) e inflamación (Muqarrabun *et al* , 2013)

Son innumerables las investigaciones que tienen como objeto el estudio de plantas medicinales en el abordaje terapéutico de la inflamación y de uno de sus signos más característicos, el dolor. El interés por añadir nuevas sustancias al arsenal terapéutico en la modulación de la nocicepción y la inflamación se basa fundamentalmente en que en la actualidad se cuenta con fármacos potentes pero que poseen un perfil de toxicidad, marcada por su potencial adictivo y depresor respiratorio, y con otro grupo de fármacos quizás mejor tolerados, pero que resultan poco eficaces en pacientes con dolor moderado y severo.

Es así como nos propusimos valorar la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de extractos obtenidos de cinco plantas pertenecientes a la familia Fabaceae: *Acosmium panamense* (Benth.) Yakovlev, *Dalbergia brownei* (Jacq.) Urb, *Diploptropis purpurea* (Rich.) Amshoff, *Fissicalyx fendleri* Benth y *Machaenum sp*.

***Acosmium panamense* (Benth.) Yakovlev**

Los resultados obtenidos con la administración del Ext Ap-t en los modelos de nocicepción por ácido acético y la fase tardía del test de formalina, en los que desarrolló una reducción significativa de los parámetros vinculados a la percepción del dolor, contorsiones para el primero y lamidas o mordidas para el segundo, dejan evidencia de las propiedades analgésicas que posee *Acosmium*

panamense En este caso particularmente el extracto metanólico del tallo de la planta

Para alcanzar un punto de conclusiones válidas, es necesario recordar que el test de formalina en roedores produce una reacción de comportamiento bifásico. Este comportamiento consiste en una fase inicial, en la que esencialmente media la estimulación directa de los nociceptores, y una segunda fase que hace referencia a un periodo de sensibilización durante el cual se producen los fenómenos inflamatorios (Dallel *et al* , 1995, Taylor *et al* , 1997). Esta segunda fase guarda relación con el modelo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético, ya que en ambos casos la nocicepción es asociada a procesos inflamatorios (Michael-Titus *et al* , 1988).

Por lo expuesto, los resultados obtenidos con Ext Ap-t denotan que sus acciones son predominantemente periféricas y los constituyentes del extracto podrían estar ejerciendo sus efectos a través de la modulación de sustancias que guardan relación, no solo con la percepción del dolor, sino que también están involucradas en el desarrollo de la inflamación. Estos resultados además guardan especial relevancia, ya que las pruebas que utilizan estímulos químicos, sin duda son los modelos experimentales más cercanos en la naturaleza a la clínica del dolor (Le Bars *et al* , 2001) y por tanto, los agentes que abolen la nocicepción serían buenos candidatos a fitofármacos analgésicos.

Esta conclusión es en parte sostenida por los resultados obtenidos con este extracto en la fase temprana del test de formalina y en el modelo de plato caliente. Para el primer caso, el extracto no desarrolló ningún efecto analgésico,

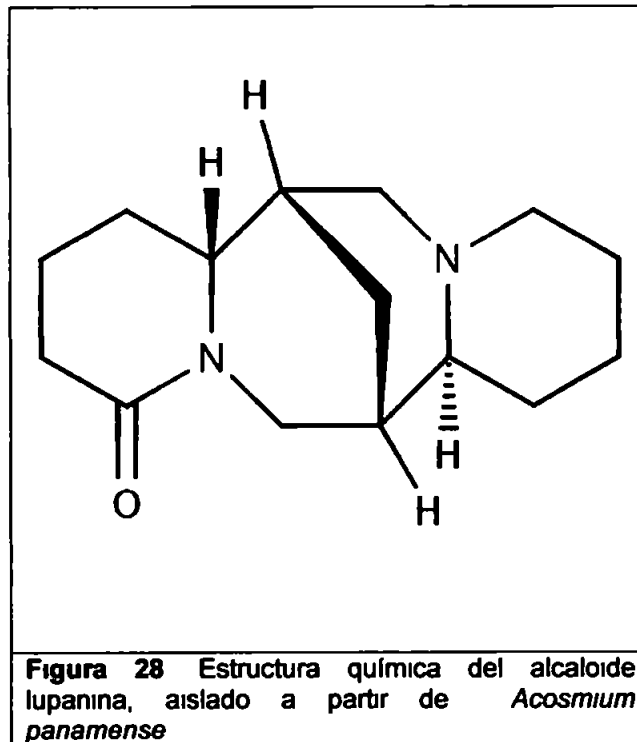
en tanto que para el modelo de nocicepción térmica, los efectos obtenidos fueron discretos y no similares al grupo que recibió el tratamiento con tramadol. Cabe destacar que tanto el modelo de plato caliente, como la fase temprana en formalina, ejercen una nocicepción que es especialmente abolida por fármacos opioides (Le Bars *et al* , 2001)

Para esta planta se ha descrito la presencia de diferentes constituyentes, entre ellos dos alcaloides quinolizidínicos 4 α -hidroxi-13 β -metoxilupanina and 3 β , 4 α -dihidroxi-13 β -metoxylupanina (Veitch *et al* , 1997). Posteriormente, otros alcaloides como acosmina, panacosmina, lupanina, multiflona y 4 α -angeloyloxy-3 β -hidroxi-13 β -metoxilupanina, también fueron aislados a partir de esta especie (Nuzillarda *et al* , 1999)

Es reconocido el papel de diferentes compuestos alcaloidales tanto en terapéutica, así como herramientas farmacológicas. Los alcaloides representan la clase más importante de metabolitos secundarios de las plantas (Lopes Souto *et al* , 2011). Una amplia gama de efectos biológicos han sido reportados para alcaloides emético, anticolinérgico, antitumoral, diurético, antiviral, antihipertensivo, analgésicos, antidepresivos, miorelajante, actividades antimicrobianas y antiinflamatorias, entre otros (Ezell *et al* , 2010, Aiello *et al* , 2011)

En el caso de los alcaloides aislados de *Acosmium panamense* cabe mencionar los estudios que han tenido como objeto valorar las propiedades biológicas de lupanina (Figura 28). Las acciones centrales de este alcaloide fueron evaluadas por Pothier *et al* (1998), evaluando la actividad motora,

depresora del SNC y la actividad analgésica. Los resultados indican que lupanina genera pobre toxicidad sobre el SNC, observándose que su administración solo posee un ligero efecto sedante. En todo caso, este podría ser uno de los constituyentes de *Acosmium panamense* involucrado en el leve efecto analgésico que presentara el extracto en el modelo de plato caliente.



La presencia de lupanina y el resto de los alcaloides descritos para esta planta, también podrían ser los responsables de los efectos antiinflamatorios que mostrara la administración de Ext Ap-t en los modelos curativos y preventivos del edema plantar por λ -carragenina. En estos modelos, el Ext Ap-t desarrolló una actividad antiinflamatoria significativa, que en algunos periodos resultó ser mayor que la obtenida con el fármaco patrón, indometacina. Esta propiedad

antiinflamatoria pudo contribuir a reducir la nocicepción en los modelos que se caracterizan por inducir dolor asociado a un proceso inflamatorio

De esta forma, nuestros resultados que resaltan las acciones analgésicas y antiinflamatorias de *Acosmium panamense*, se suman a las propiedades descritas por otros autores para esta especie, quienes la vinculan principalmente a propiedades hipoglicemiantes y antidiabéticas (Andrade-Cetto *et al* , 2004, 2005, 2008)

***Dalbergia brownei* (Jacq) Urb**

Las plantas del género *Dalbergia* cuentan con múltiples estudios, tanto fitoquímicos como biológicos. Es así como para plantas de este género, como *D odorifera* se ha descrito potencial actividad antibacteriana (Zhao *et al* , 2011). A partir de esta planta se habían aislado diferentes compuestos, entre los que figuran cinamifenoles, isoflavonas, isoflavono y derivado de ácido benzoico, que en un estudio llevado a cabo por Goda *et al* (1992) inhibieron significativamente la biosíntesis de prostaglandinas, así como la agregación plaquetaria inducida por el ácido araquidónico. En el caso de *D paniculata* y *D lanceolata*, se han reportado propiedades analgésicas y antiinflamatorias (Ganga *et al* , 2012, Kale *et al* , 2007). Para *D sissoo* también fue publicado un estudio que describe una actividad antiinflamatoria significativa (en modelos agudos, subagudos y crónicos de inflamación) para el extracto de hojas de esta planta (Hajare *et al* , 2001). Mientras es evidente que existen estudios para diferentes plantas del género *Dalbergia*, en el caso de *D brownei*, especie incluida en nuestro trabajo, no se

han publicado datos de estudios químicos ni farmacológicos. Es así como nuestros resultados, que vinculan a *D. brownei* con propiedades analgésicas y antiinflamatorias, corresponden al primer estudio que tiene como objeto la valoración de las acciones biológicas de esta especie.

El efecto analgésico para el Ext Db-h se observó en el modelo de formalina, en la segunda fase que corresponde al periodo caracterizado por inflamación, lo que le valió su inclusión en el modelo de inflamación por λ -carragenina, donde se observó un efecto antiinflamatorio significativo en los periodos de observación correspondientes a las 2, 5 y 6 horas. Sin embargo, al igual que el efecto analgésico demostrado, su actividad antiinflamatoria fue discreta en comparación con AAS o indometacina, patrones para cada uno de los modelos. Pese a que la actividad mostrada por el Ext Db-h no fuera marcada, es necesario señalar que son las concentraciones de sus constituyentes los que determinan su potencia. Lo que significa que una vez que estos sean identificados y aislados, podrán ser objeto de ensayos más específicos, y no se descartan que posean capacidad para inhibir la biosíntesis de prostaglandinas, tal como fuera descrito por Goda *et al* (1992), para los constituyentes de *D. odorifera*.

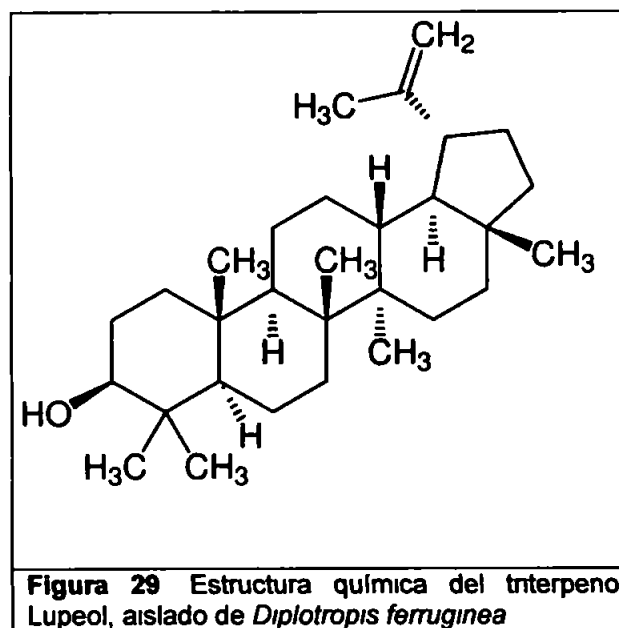
***Diploptropis purpurea* (Rich.) Amshoff**

Los resultados obtenidos con la administración del Ext Dp-t en los modelos de dolor-inflamación del test de formalina y de inflamación inducida por λ -carragenina, en sus dos vertientes, curativa y preventiva, dejan clara evidencia

de la capacidad que posee esta planta, perteneciente a la familia Fabaceae, para controlar los procesos inflamatorios y nociceptivos asociados a estos. Un dato adicional aportado por nuestro estudio, es que las propiedades antiinflamatorias encontradas para esta especie, no parecen estar determinadas por su capacidad para modular las acciones ni de histamina ni de 5-HT. Es importante destacar que para esta especie no se han descrito estudios previos, pero para otra especie del mismo género, *D ferruginea*, se han realizado un número significativo de investigaciones, las cuales incluyen la evaluación de su actividad antimicrobiana (Cerqueira *et al*, 2011) y antiinflamatoria y antioxidante de sus constituyentes (Fernández *et al*, 2001), así como los ensayos destinados a describir sus principales constituyentes. Referente a este último aspecto, uno de los estudios químicos realizados resultó en el aislamiento de un nuevo compuesto, 3-metoxiflavona, 3-metoxi-6-O-prenil-6",6"-dimetilcromina-(7,8, 2",3")-flavona, a partir de *D ferruginea*, y de la cual deriva su nombre, diploflavona (Jackson *et al*, 2005). Además de esta flavona, un compuesto triterpenoide con propiedades farmacológicas bien definidas, el Lupeol (Mohammad, 2009), había sido ya descrito y aislado a partir del extracto hexánico de la corteza de *D ferruginea* Benth (Almeida *et al*, 2003).

La valoración de las acciones del triterpeno Lupeol (Figura 29), merece ser desarrollada en este trabajo, ya que, aunque nuestro estudio no incluyó la descripción fitoquímica para *D purpurea*, podríamos esperar que comparta algunos de los constituyentes descritos para otras especies del género. De tal

forma que cabe la posibilidad de la presencia de Lupeol entre sus constituyentes, igual que fuera descrito para *D ferruginea*



Lupeol ha sido ampliamente estudiado por sus efectos antiinflamatorios, empleando tanto modelos *in vitro*, como animales de experimentación. Un amplio estudio realizado por Fernández *et al* (2001), mostró que la aplicación tópica de lupeol en la oreja de ratones, alivió la inflamación inducida por acetato de tetradecanoil-forbol. Este estudio mostró que la aplicación tópica de lupeol disminuye los niveles de mieloperoxidasa (marcador específico de neutrófilos) causando así la reducción en la infiltración de células en los tejidos inflamados en ratones (Fernández *et al*, 2001). En este mismo estudio se demostró que el potencial antiinflamatorio de lupeol podría estar relacionado con una reducción en la síntesis de prostaglandina E2 (PGE2). Otro estudio realizado por Fernández *et al* (2001), demostró que el extracto rico en lupeol obtenido a partir de *Pimenta racemosa* (especie ampliamente utilizado por los médicos de los

países en la región del Caribe para tratar dolencias inflamatorias), exhibe actividad antiinflamatoria significativa en modelos animales (Fernández *et al* , 2001)

Un estudio interesante fue llevado a cabo por Geetha *et al* (1999), quienes reportaron por primera vez la utilidad de lupeol para tratar o reducir la inflamación en un modelo de artritis en ratones. De igual forma, se han llevado a cabo varios estudios para definir los mecanismos moleculares mediante los cuales lupeol inhibe o abroga los procesos inflamatorios. Es así como para lupeol se han reportado acciones directas e indirectas, sobre varias moléculas que juegan un papel en el proceso inflamatorio. Lupeol ha demostrado inhibir la actividad de lipoxigenasa-1 de la soja (15-SLO) (Gutierrez-Lugo *et al* , 2004). Lupeol también ha sido capaz de disminuir la generación de citoquinas pro-inflamatorias tales como el TNF α y la interleucina β (IL β) en macrófagos (Fernández *et al* , 2001). Un estudio más reciente sugirió que el tratamiento lupeol puede inducir una reducción en la inflamación mediante la disminución de los niveles de citocinas tipo II (IL-4, IL-5 e IL-13) en un modelo de asma bronquial en ratones (Vasconcelos *et al* , 2008). Es de destacar que lupeol en su dosis eficaz terapéutica no presenta toxicidad para las células y tejidos normales.

Los estudios presentados y muchos otros que nos quedan en el tintero, han proporcionado información relevante para comprender las propiedades farmacológicas del lupeol, un compuesto obtenido a partir de fuentes naturales, y

que de estar presente en el extracto metanólico del tallo de *D purpurea*, podría explicar los efectos antiinflamatorios encontrados para esta planta

***Fissicalyx fendleri* Benth.**

En el modelo de contorsiones abdominales desarrollado para valorar la actividad antinociceptiva de los extractos, fue el Ext Ff-t el que generó la mayor capacidad inhibitoria, siendo muy cercana a la obtenida con AAS, patrón de referencia para este ensayo. Lo contrario ocurrió en el modelo de nocicepción química por formalina, donde a pesar que inhibió en un poco más del 50% los eventos relacionados con la percepción del dolor en la fase tardía del ensayo, esta inhibición fue inferior a cualquiera del resto de los extractos evaluados y significativamente menor que para AAS y tramadol. Así como tampoco se observó que aboliera o redujera la nocicepción en los modelos de algesia central, como lo son los ensayos en plato caliente y la fase inicial del test de formalina.

Dada la pobre o nula actividad analgésica mostrada por Ext Ff-t en los modelos de nocicepción, era de esperar que la administración de este extracto no produjera efecto antiinflamatorio en el modelo de edema plantar inducido por λ -carragenina, tal como fuera corroborado en nuestro estudio.

Fissicalyx es un género monotípico de plantas con flores perteneciente a la familia Fabaceae. Su única especie es la *Fissicalyx fendleri*, originaria del Continente Americano, encontrada desde Panamá hasta Brasil (Correa, 2004). Al momento de realizar esta revisión, no habían sido publicados datos de usos

etnobotánicos ni de estudios farmacológicos para esta planta. Así, son los hallazgos descritos en nuestro estudio, los primeros datos de actividad biológica reportados para esta planta.

Machaerium sp.

De los resultados obtenidos en nuestro estudio resalta la capacidad que desarrolló el Ext Ms-t para inhibir la algesia en los modelos de nocicepción química y térmica. En el último de los casos, Ext Ms-t produjo un porcentaje de analgesia significativo frente al grupo CMC, aunque nunca alcanzó valores similares al tramadol. En lo que respecta al dolor inducido por agentes químicos, este extracto no solo redujo significativamente el número de contorsiones provocadas por la administración intraperitoneal de ácido acético en ratones, sino que además fue el que produjo una mayor reducción del tiempo de lamida o mordida en el modelo de nocicepción por formalina, donde sus acciones fueron mayores que para el resto de los extractos evaluados y no diferentes a las obtenidas con tramadol y AAS en la fase tardía de este modelo. Como ya se ha mencionado con anterioridad, para las sustancias que inhiban la nocicepción en el modelo de contorsiones y en la fase final del test de formalina, se espera que generen paralelamente una modulación favorable del proceso inflamatorio. Este principio se cumplió con el Ext Ms-t que redujo significativamente el edema inducido por la administración subplantar de λ -carragenina en modelo murino. Resalta además el hecho de que dicho extracto fuera el que mayor porcentaje de inhibición presentara en el modelo curativo, donde sus efectos tendían a ser

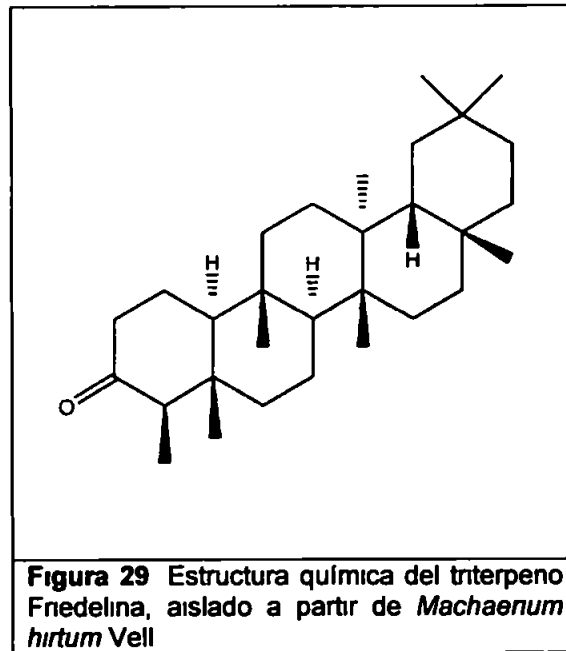
mayores que los presentados por el grupo que recibió indometacina, especialmente en las dos últimas determinaciones, a las 6 y 24 horas

Al momento de llevar a cabo nuestro estudio no se había identificado la especie del Ext Ms-t, sin embargo entre las plantas de la familia Fabaceae, los reportes de identificación de propiedades etnobotánicas o farmacológicas para plantas pertenecientes al género *Machaenum* son escasas. Entre los escasos datos publicados es vinculante para nuestros hallazgos, el estudio fitoquímico y farmacológico de *Machaenum hirtum* Vell, publicado por Ignoato *et al* (2013), quienes aislaron los constituyentes químicos y reportaron actividad analgésica y antiinflamatoria de los compuestos puros. Cabe señalar que estos autores aislaron e identificaron seis compuestos: las flavonas swertisina e isovitexina, el alcaloide 4-hidroxi-N-metilprolina, los triterpenos friedelina y lupeol y los esteroides β -sitosterol y estigmasterol.

Además de las propiedades antes descritas para el lupeol, a continuación describimos los hallazgos farmacológicos encontrados para friedelina (**Figura 30**), otro de los constituyentes de *Machaenum hirtum* Vell, y que de ser un componente fitoquímico del Ext Ms-t, podría guardar relación con los efectos antiinflamatorios encontrados en nuestro estudio.

Los efectos de friedelina sobre la inflamación fueron estudiados empleando diferentes modelos de inflamación experimental, incluyendo el edema plantar inducido por λ -carragenina, edema de la oreja inducido por aceite de crotón y modelo de permeabilidad vascular inducida por ácido acético. Adicionalmente, se evaluó el efecto analgésico usando el ensayo de contorsiones abdominales,

el test de formalina y la prueba del plato caliente El efecto antipirético de friedelina se evaluó mediante la prueba de la hipertermia inducida por la levadura en ratas (Paulrayer *et al* , 2011)



Los autores reportaron que el triterpeno redujo significativamente la inflamación en todos los modelos empleados En este estudio, friedelina también produjo reducción significativa de la actividad analgésica en respuesta a las contorsiones inducidas por ácido acético y la respuesta de lamiendo o mordida en el test de formalina En la prueba de la placa caliente, friedelina no mostró resultados significativos en comparación con el control El tratamiento con friedelina mostró una reducción significativa y dosis dependiente de la dosis en la pirexia en ratas

Son estos datos, los descritos para los triterpenos lupeol y freidelina, identificados como constituyentes químicos de *Machaenum hirtum* Vell , los que nos llevan a proponer su presencia en el extracto de este género y cuya especie no se ha logrado identificar

Podemos finalizar resumiendo que en el presente estudio se evaluaron los efectos farmacológicos de extractos metanólicos de diversas plantas panameñas pertenecientes a la familia Fabaceae, y que fueron en parte seleccionadas por las acciones analgésicas y antiinflamatorias descritas para diferentes especies Leguminosae. La actividad periférica antinociceptiva fue evaluada mediante el modelo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético y la prueba de formalina, en tanto que empleamos el modelo de plato caliente para valorar la posible actividad central de los extractos

Con respecto al modelo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético (modelo de dolor visceral) que conduce a la liberación de histamina, bradicinina, prostaglandinas y serotonina (Adedapo, 2009) se observaron variaciones importantes entre los diferentes extractos. Tanto los extractos que mostraron un mayor efecto protector (Ext Ap-t, Ext Ff-t y Ext Ms-t), como los que no demostraron actividad en este modelo (Ext Db-h y Ext Dp-t), fueron probados en el modelo de dolor inducido por formalina como prueba confirmatoria. Esta confirmación debe ser realizada puesto que, una desventaja del modelo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético es que otra clase de medicamentos, como los antagonistas de los receptores adrenérgicos, antihistamínicos, estimulantes del SNC, inhibidores de la monoamino oxidasa,

antagonistas serotoninérgicos, relajantes musculares y neurolepticos, también pueden inhibir las contorsiones abdominales, conduciendo a posibles resultados falsos positivos (Zhao *et al* , 2012, Borges *et al* , 2013)

La prueba de formalina es considerada el modelo analgésico que mejor se correlaciona con el dolor clínico (Tjolsen *et al* , 1992) Los resultados reflejaron, que todos los extractos ensayados no generaron efecto antinociceptivo en la primera fase (0-5 min) pero sí, un significativo efecto en la segunda fase (15-30 min) La primera fase (neurogénica) la cual es evocada por la estimulación directa de la formalina sobre las fibras sensoriales C, seguidas por la liberación de Sustancia P La segunda fase (inflamatoria), principalmente debida a la subsecuente reacción inflamatoria en el tejido periférico mediante la liberación de mediadores inflamatorios que han sido asociados con el incremento de los niveles de prostaglandina, inducción de ciclooxigenasa y liberación de óxido nítrico (Sulaiman, 2010) En los modelos de nocicepción periférica medicamentos como AAS, inhiben preferencialmente la segunda fase, mientras que los analgésicos narcóticos inhiben ambas fases El modelo de dolor inducido por formalina sugiere que los extractos pueden actuar de manera similar a AAS Para corroborar que los extractos no tenían acción analgésica central, la prueba en el plato caliente fue conducida

El edema plantar inducido por λ - carragenina en modelos animales evalúa el efecto antiedematoso de los productos naturales, durante la primera fase (antes de 1 h) se liberan serotonina e histamina y la segunda fase (después de 1h) es mediada por prostaglandinas, productos de la ciclooxigenasa y la continuidad

entre ambas fases por cininas (Ymele, 2011) Los Ext Ap-t, Ext Db-h, Ext Dp-t y Ext Ms-t mostraron una inhibición significativa del edema plantar a diferentes tiempos en el tratamiento preventivo, corroborando los resultados obtenidos en la segunda fase (inflamatoria) de la prueba de formalina La reducción del edema inducido por λ -carragenina en esta fase sugiere que pueden actuar a través de la vía del metabolismo del ácido araquidónico Esta respuesta antiinflamatoria fue significativa en ratas pretratadas con indometacina

Para determinar el efecto del Ext Dp-t, diferentes agentes mediadores inflamatorios se utilizaron para inducir el edema Tanto la histamina y serotonina se caracterizan por el aumento de la permeabilidad vascular Nuestros resultados demuestran que la loratadina o la ciproheptadina, utilizados como medicamentos de referencia mostraron actividad significativa contra el edema inducido por histamina y serotonina, respectivamente Mientras que el Ext Dp-t, exhibió una reducción no significativa del edema plantar inducida por histamina y serotonina

En la obra de Beg (2011) se describen algunos constituyentes de las plantas incluidas en este estudio Se observa la presencia de terpenoides, alcaloides, glucósidos y flavonoides (Cuadro XI), algunos de los cuales que han sido asociados con actividad antiinflamatoria Como por ejemplo, el Lupeol presente en el Ext Ap-t, Ext-Db-h y Ext Ms-t, ha demostrado actividad antiinflamatoria significativa en diversos modelos (Shewale *et al* , 2012)

La inflamación y el dolor, juntos o por separado, representan un problema de salud muy importante, por ello cada vez son objeto de un mayor número de

estudios. Los experimentos en humanos para valorar las acciones antinociceptivas de nuevas sustancias, son prácticamente un reto, fundamentalmente por la subjetividad de la que serian objeto, y sin duda, los aspectos éticos la autolimitan. Por lo tanto, los modelos animales de nocicepción, con sus innumerables desventajas, aún representan la alternativa más ampliamente utilizada para evaluar sustancias con potencial actividad analgésica y antiinflamatoria.

Cuadro XI. Constituyentes fitoquímicos reportados en las plantas estudiadas

Tratamiento	Características Fitoquímicas
Ext Ap-t	Terpenoides (Lupeol); alcaloides (afilina; 5,6-dihidro- α -isoesparteina; 4-hidroxisparteina, forma 4 α ; α -isoesparteina; panamina, forma (-); esparteina; sweetinine) (Phytochemical Dictionary of the Leguminosae, 1994)
Ext Db-h	Varios fitoconstituyentes han sido aislados de diferentes especies de Dalbergia como isoflavonoides, neoflavonoides, glucósidos, cinamilfenoles, quinonas y furanos (Saha, 2013)
Ext Dp-t	Estudios químicos han reportado el aislamiento de flavonoides (formononetin; 7-hidroxi flavonona, forma (R); isoliquiritigenin; liquiritigenin; maackiain, forma (-)); terpenoides (lupeol) y esteroides (β -sitosterol y estigmaterol) (Filho, 1973)
Ext Ff-t	No se encontraron fuentes con descripción fitoquímica del genero o de la especie evaluada
Ext Ms-t	Flavonas: swertisina e isovitexina, el alcaloide 4-hidroxi-N-metilprolina, triterpenos: friedelina y lupeol y esteroides: sitosterol y estigmaterol, han sido aislados de <i>Machaerium hirtum</i> Vell. (Ignoato <i>et al.</i> , 2013)

CONCLUSION

La actividad antinociceptiva de las plantas de *Acosmium panamense*, *Dalbergia brownei*, *Diploptropis purpurea*, *Machaenum sp* y *Fissicalyx fendlen*, ensayada empleando el método de nocicepción química inducida por ácido acético reflejo que mientras *Machaenum sp* produjo una discreta acción analgésica, *Acosmium panamense* y *Fissicalyx fendlen*, poseen una notable acción periférica. En contra posición, con los *Dalbergia brownei* y *Diploptropis purpurea* que no produjeron cambios significativos en la percepción del dolor.

En el modelo de nocicepción por estímulo tónico inducido por formalina utilizado como ensayo confirmatorio del método de nocicepción química, ninguna de las plantas de *Acosmium panamense*, *Dalbergia brownei*, *Diploptropis purpurea*, *Machaenum sp* y *Fissicalyx fendlen*, mostro una inhibición significativa de la nocicepción en la fase temprana pero sí, en la fase tardía que evidencia la acción analgésica periférica.

La determinación de la actividad analgésica mediante estímulos nociceptivos térmicos fue evaluada para las plantas de *Acosmium panamense*, *Dalbergia brownei*, *Diploptropis purpurea*, *Machaenum sp* y *Fissicalyx fendlen*, donde los *Acosmium panamense*, y *Machaenum sp* mostraron una discreta acción central y el *Fissicalyx fendlen* no demostró actividad central. Para *Dalbergia brownei* y *Diploptropis purpurea* se obtuvieron resultados no concluyentes.

La capacidad para prevenir la inflamación inducida por λ -carragenina en ratas de los cinco extractos de plantas panameñas, *Acosmium panamense*, *Dalbergia brownei*, *Diplotropis purpurea*, *Machaenum sp* y *Fissicalyx fendlen* fue evaluada, encontrándose que los *Acosmium panamense*, *Dalbergia brownei*, *Diplotropis purpurea*, *Machaenum sp* poseen actividad antiinflamatoria en contraposición al *Fissicalyx fendlen* que fue ineficaz en la inhibición del desarrollo del edema plantar

Se corrobora que los extractos ensayados, *Acosmium panamense*, *Diplotropis purpurea* y *Machaenum sp* los cuales demostraron una evidente actividad antiinflamatoria en el modelo preventivo también poseen una capacidad curativa ante la inflamación inducida por λ -carragenina en ratas

Al trabajar en los modelos de edema plantar inducido por histamina y serotonina, se enfrentaron dificultades en la disponibilidad de los extractos de las plantas de *Acosmium panamense*, *Diplotropis purpurea* y *Machaenum sp* que impidió la realización de los ensayos como se había previsto. No obstante, el extracto ensayado, *Diplotropis purpurea* exhibió una reducción no significativa del edema inducido por los mediadores histamina y serotonina

BIBLIOGRAFIA

- 1 ADAMS, D 1976 The granulomatous inflammatory response A review American Journal Pathology 84 (1) 164-192
- 2 ADEDAPO, A , SOFIDIYA, M y AFOLAYAN, A 2009 Anti-inflammatory and analgesic activities of the aqueous extracts of *Margantana discoidea* (Euphorbiaceae) stem bark in expermental animal Models Review Biology Tropical 57(4) 1193-1200
- 3 AIELLO, A, FATTORUSSO, E , IMPERATORE, C , IRACE, C , LUCIANO, P , MENNA, M , SANTAMARIA, R Y VITALONE, R 2011 Zorimidazolone, a bioactive alkaloid from the non-indigenous Mediterranean stolidobranch *Polyandrocarpa zorntensis* Drugs 9 1157-1165
- 4 AJAIYEOBA, E, OGBOLE, O , ABIODUN, O , ASHIDI, J , HOUGHTON, P , Y WRIGHT, C 2013 Cajachalcone An antimalarial Compound from *Cajanus cajan* Leaf Extract Journal of Parasitology Research ID703781
- 5 AKELERE, O 1993 Las plantas medicinales un Tesoro que no debemos desperdiciar Foro Mundial de la Salud 14 390-395
- 6 AL MUQARRABUN, L , AHMAT, N , RUZAINA, S , ISMAIL, N , Y SAHIDIN, I 2013 Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of *Pongamia pinnata* (L) Pierre a review Journal Ethnopharmacology 150(2) 395-420
- 7 ALMEIDA, J , CUNHA, E , SILVA, M , Y BARBOSA, F 2003 Outros constituintes químicos de *Diplotropis ferruginea* Benth (Fabaceae) Revista Brasileira de Farmacognosia 13 (2)
- 8 AMANN, R SCHULIGOI, R , LANZ, I , Y DONNERER, J 1995 Histamine induced edema in the rat paw-effect of capsaicin denervation and a cgrp receptor antagonist European Journal of Pharmacology 279 227-31
- 9 ANDERSON J, SMITH B Y WASHNOCK, C 1999 Cardiovascular and renal benefits of dry beans and soybean intake The American Journal of Clinical Nutrition 70 464S-474S
- 10 ANDRADE-CETTO A, BECERRA-JIMÉNEZ J Y CÁRDENAS-VÁZQUEZ R 2008 Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes Journal Ethnopharmacology 116 27-32
- 11 ANDRADE-CETTO A Y WIEDENFELD H 2004 Hypoglycemic effect of *Acosmium panamense* bark on streptozotocin diabetic rats Journal of Ethnopharmacology 90 217-220
- 12 ANDRADE-CETTO, A Y HEINRICH, M 2005 Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes Journal Ethnopharmacology 14(99) 325-348
- 13 ANTONISAMY, P , DURAIPANDIYAN, V e IGNACIMUTHU, S 2011 Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of friedelin isolated from *Azima tetraacantha* Lam in mouse and rat models Journal of Pharmacy and Pharmacology 63 (8) 1070–1077
- 14 ANUJA, G , LATHA, P , SHINE, V , SUJA, S Y SHIKHA, P 2014 Antioedematous and analgesic properties of fertile fronds of *Drynana quercifolia* International Scholarly Research Notices Inflammation ID302089

- 15 BAKER, D , CHU, M , OZA, U Y RAJGARHIA, V 2007 The value of natural products to future pharmaceutical discovery *Natural Product Reports* 24 1225-1244
- 16 BALUNAS, M Y KINGHORN, D 2005 Drug discovery from medicinal plants *Life Sciences* 78 431-441
- 17 BARROT, M 2012 Test and Models of Nociception and Pain in rodents *Neuroscience* 211 39-50
- 18 BERTOLINI, A, OTTANI, A y SANDRINI, M 2001 Dual acting anti-inflammatory drugs A reappraisal *Pharmacological Research* 44(6) 437-449
- 19 BORGES, R , MARIANO, M , VALLADAO, A , CAMPOS, M , REALINO, J , COSTA, E Y DA CUNHA, L 2013 Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanolic extract from *Synadenium umbellatum* Pax (Euphorbiaceae) leaves and its fractions *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* ID715650
- 20 BREIVIK, H , COLLETT, B , VENTAFRIDDA, V , COHEN, R Y GALLACHER, D 2006 Survey of chronic pain in Europe Prevalence, impact on daily life, and treatment *European Journal of Pain* 10 287-333
- 21 BUTLER, M 2008 Natural products to drugs natural product-derived compounds in clinical trials *Natural Product Reports* 25 475-516
- 22 CASTAÑEDA, M 2008 Farmacodinamia de opiáceos Facultad de Ciencias de la Salud Universidad del Cauca 10 43-60
- 23 CATERINA, M , SHUMACHER, M , TOMINAGA, M , ROSEN, T , LEVINE, J Y JULIUS, D 1997 The capsaicin receptor a heat-activated ion channel in the pain pathway *Nature* 389 (6653) 816-824
- 24 CERQUEIRA, G , ROCHA, N , ALMEIDA, J , DE FREITAS, A , LIMA, E , FILHO, J , DE FREITAS, R Y MELO, D 2011 Antimicrobial activity of the extract of stem bark of *Diploptropis ferruginea* Benth *Pharmacognosy* 3 284-286
- 25 CORDELL, G 2000 Biodiversity and drug discovery-A symbiotic relationship *Phytochemistry* 55 463-480
- 26 CORDELL, G 2003 Biodiversity, Traditional Medicine and Drug Discovery-A Symbiotic Relationship *Traditional Medicine and Materna Medica Research Center*
- 27 CORREA, M , GALDAMES, C Y DE STAPF, M 2004 Catálogo de las plantas vasculares de Panamá Editorial Novo Art, S A Primera Edición Colombia 600 páginas
- 28 COURTEIX, C , ESCHALIER, A Y LAVARENNE, J 1993 Streptozocin-induced diabetic rats behavioural evidence for a model of chronic pain *Pain* 53 81-88
- 29 CRAGG, G , y NEWMAN, D 2010 Nature as source of medicines, novel drugs from Nature, screening for antitumor activity En *Comprehensive Natural Products II Chemistry and Biology* Mander L, Lui HW, Eds, Elsevier Oxford, 3 135-175
- 30 CRAVATT, B , DEMAREST, K , PATRICELLI, M , BRACEY, M , GIANG, D , MARTIN, B , Y LICHTMAN, A 2001 Supersensitivity to anandamide and enhanced endogenous cannabinoid signaling in mice lacking fatty acid amide hydrolase *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 98 (16) 9371-9376

- 31 CROSSLEY, R, COLOMA, A, RIOS, C Y GONZALEZ, C 2010 Determinación de proteína C-reactiva en hembras caninas con tumores mamarios benignos y malignos Archivos de Medicina Veterinaria 42 101-105 (2010)
- 32 CRUNKHON, P y MEACOCK, S 1971 Mediators of the inflammation induced in the rat paw by carrageenan British Journal of Pharmacology 42 392-402
- 33 D' AMOUR, F y SMITH, D 1941 A Method for determining loss of pain sensation Journal of Pharmacology and Experimental Therapy 72 74-79
- 34 DA ROCHA, F, DUARTE, M, DE ALMEIDA, D Y SANTOS, A 2012 Anti-inflammatory effects of purine nucleosides, adenosine and inosine, in a mouse model of pleurisy evidence for the role of adenosine A2 receptors Puncture signaling 8 693-704
- 35 DALLEL, R, RABOISSON, P, CLAVELOU, P, SAADE, M, Y WODA, A. 1995 Evidence for a peripheral origin of the tonic nociceptive response to subcutaneous formalin Pain 61 11-16
- 36 DAVIS, L, POLLOCK, L Y STONE, T 1932 Visceral pain Surgical Gynecology and Obstetrics 55 (4) 418-426
- 37 DE BARUTELL, C 2009 Unidades de dolor en España Encuesta SED Día del Dolor 2007 16 (8) 421-428
- 38 ELSOHLY, M, DEWIT, H, WACHTEL, S, FENG, S, Y MURPHY, T 2001 Delta 9- tetrahydrocannabinol as a marker for the ingestion of marijuana versus Marnol results of a clinical study Journal of Analytical Toxicology 25 (7) 565-571
- 39 EZELL, S, LI, H, XU, H, ZHANG, X, GURPINAR, E, ZHANG, X, RAYBURN, E, SOMMERS, C, YANG, X, VELU, S, WANG, W y ZHANG, R 2010 Preclinical pharmacology of BA-TPQ, a novel synthetic iminoquinone anticancer agent Drugs 8 2129-2141
- 40 FELDER, C, BRILEY, E, AXELROD, J, SIMPSON, J, MACKIE, K, Y DEVANE, W 1993 Anandamide, an endogenous cannabinoid eicosanoid, binds to the cloned human cannabinoid receptor and stimulates receptor-mediated signal transduction Proceedings of the National Academy of Sciences USA 90 (16) 7656-7660
- 41 FERNÁNDEZ M, DE LAS HERAS, B, GARCIA, M, SÁENZ, M, Y VILLAR, A 2010 New insights into the mechanism of action of the anti-inflammatory terpenes lupeol Journal of Pharmacy and Pharmacology 53 1533-1539
- 42 FERNÁNDEZ, A, ALVAREZ, M, GARCÍA, M Y SÁENZ, M 2001 Anti-inflammatory effect of *Pimenta racemosa* var *ozua* and isolation of the terpenes lupeol Farmaco 56 335-338
- 43 FLÓREZ, J 2004 Fármacos y dolor Editorial Ergon Madrid 134 páginas
- 44 FERREIRA, E, SOUSA, B, SOBRAL, C, DE ALENCAR, J, LIMA, A, GOMES, F, FERREIRA, L, VIEIRA, F, NEVES, F, VIANA, A, BOLIGON, A, DE AQUINO, R, ATHAYDE, M, TEIXEIRA, J, ALENCAR, I, MELO, H, Y MARTINS, J, 2013 Biological Activities and Chemical Characterization of *Cordia verbenacea* DC As Tool to Validate the Ethnobiological Usage Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine ID 164215
- 45 GANGA, R, MADHU, K Y VIJAYA, R 2012 Investigation of antioxidant and anti-inflammatory activity of leaves of *Dalbergia paniculata* (Roxb)

- Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 6 455-458
- 46 GARBER, J 2011 Guide for the care and use of laboratory animals Octava edición National Academy of Sciences Estados Unidos 220 páginas
 - 47 GARCÍA, P 2008 Inflamación Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales 102 (1) 91-159
 - 48 GARCIA-MARTINEZ, C HUMET, M , PLANELLS-CASES, R , GOMIS, A , CAPRINI, M , VIANA, F , DE LA PEÑA, E , SANCHEZ-BAEZA, F , CARBONELL, T , DE FELIPE, C , PÉREZ-PAYÁ, E , BELMONTE, C , MESSEGUER, A , Y FERRER-MONTIEL, A 2002 Attenuation of thermal nociception and hyperalgesia by VR1 blockers Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 99 (4) 2374-2379
 - 49 GEETHA T , VARALAKSHMI P 1999 Anticomplement activity of triterpenes from *Crataeva nurvala* stem bark in adjuvant arthritis in rats General Pharmacology 32 495-497
 - 50 GERARD, C , MOLLEREAU, C , VASSART, G y PARMENTIER, M 1990 Nucleotide sequence of a human cannabinoid receptor cDNA Nucleic Acids Research 18(23) 7142
 - 51 GIANG, D y CRAVATT, B 1997 Molecular characterization of human and mouse fatty acid amide hydrolases Proceedings of the National Academy of Sciences USA 94 (6) 2238-2242
 - 52 GIGLIUTO, C , DE GREGORI, M , MALAFOGLIA, V , RAFFAELI, W , COMPAGNONE, C , VISAI, L , PETRINI, P , AVANZINI, M , MUSCOLI, C , VIGANÓ, J , CALABRESE, F , DOMINIONI, T , ALLEGRI, M , Y COBIANCHI, L 2014 Pain assessment in animal models do we need further studies Journal of Pain Research 7 227-236
 - 53 GODA, Y , KIUCHI, F , SHIBUYA, M , Y SANKAWA, U 1992 Inhibitors of prostaglandin biosynthesis from *Dalbergia odorifera* Chemical and Pharmaceutical Bulletin 40 (9) 2452-7
 - 54 GÓMEZ, R 2006 Aislamiento de la morfina 200 años de un descubrimiento fundamental para la química moderna Anales de la Real Sociedad Española de Química 102 (2) 45-53
 - 55 GROTENHERMEN, F 2004 Pharmacology of Cannabinoids Neuro Endocrinology Letters 25 (1-2) 14-23
 - 56 GUPTA, M 2004 Investigaciones farmacognósticas sobre la flora panameña Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia 70 839-883
 - 57 GUTIERREZ-LUGO, M , DESCHAMPS, J , HOLMAN, T , Y SUAREZ, B 2004 Lipoxygenase inhibition by anadanthoflavone, a new flavonoid from the aerial parts of *Anadenanthera colubrina* Planta Medica 70 263-265
 - 58 HAJARE, S , CHANDRA, S , SHARMA, J , TANDAN, S , LAL, J y TELANG, A 2001 Anti-inflammatory activity of *Dalbergia sissoo* leaves Fitoterapia Fitoterapia 72(2) 131-9
 - 59 Ho, K y SIAU, S 2009 Chronic Pain Management Therapy, drug and Needles Annals Academy of Medicine 38 (11) 929-930
 - 60 IGNOATO, M , FABRÃO, R , CHUQUEL, I, BOTELHO, M, BANNWART, G , POMINI, A, ARRUDA, L , BERSANI-AMADO, C Y SANTIN, S 2013 Chemical constituents of *Machaenum hirtum* Vell (Fabaceae) leaves and branches and its anti-inflammatory activity evaluation Natural Product Research 27 (17)

- 61 JACKSON, G , BARBOSA-FILHO, J , CABRAL, A , DE FÁTIMA, M , DA CUNHA, E , DA SILVA, M , DO NASCIMENTO, S Y BRAZ-FILHO, R 2005 Diploflavone, a new flavonoid from *Diploptropis ferruginea* Benth (Fabaceae) *Journal of Brazilian Chemical Society* 16 (6)
- 62 JUDD, W , CAMPBELL, C , STEVENS, P , KELLOGG, E y DONOGHU, M 2009 *Sistemática de Plantas un enfoque filogenético* Tercera edición Artmed 632 páginas
- 63 KALE, M , MISAR, A , Y DAVE, V 2007 Anti-inflammatory activity of *Dalbergia lanceolana* bark ethanol extract in mice and rats *Journal Ethnopharmacology* 112 300-304
- 64 KARAI, L , BROWN, D , MANNES, A , CONNELLY, S , BROWN, J , GANDAL, M , WELLISCH, O , NEUBERT, J , OLAH, Z , Y LADAROLA, M 2004 Deletion of vanilloid receptor 1-expressing primary afferent neurons for pain control *The Journal of Clinical Investigation* 113 (9) 1344-1352
- 65 KIM, D , NA, H , OH, T , KIM, W , Y SURH, Y 2004 Eupatilin, a pharmacologically active flavones derived from *Artemisia* plants, induces cell cycle arrest in ras-transformed human mammary epithelial cells" *Biochemical Pharmacology* 68 1081-1087
- 66 KINGBHORN, A , PAN, L , FLETCHER, J , Y CHAI, H 2011 The Relevance of Higher Plants in Lead Compound Discovery Programs *Journal of Natural Products* 74(6) 1539-1555
- 67 KINGSTON, D 2011 Modern Natural Products Drug Discovery and its Relevance to Biodiversity Conservation *Journal of Natural Products* 74(3) 496-511
- 68 KOSTER, R , ANDERSON, M y BEER, E 1959 Acetic acid for analgesic screening *Federation Proceeds* 18 412-416
- 69 KRIVOY, S , TABASCA, M , ADELAIDE, W Y DÍAZ, M 2010 El dolor en la historia Volumen X *Ateproca Venezuela* 163-224
- 70 KRUGER, L y LIGHT, A 2010 Translational Pain Research From Mouse to man *Frontiers in Neuroscience*
- 71 KUNSKAAR, S y HOLE, K 1987 The formalin test in mice dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain *Pain* 30 (1) 103-114
- 72 Lanhers, M , FLEURENTIN, J , DORFMAN, P , MORTIER, F Y PELT, J-M 1991 Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory properties of *Euphorbia hirta* *Planta Medica* 57(2) 225-231
- 73 LAZA, D , RODRÍGUEZ, I y SARDIÑA, G 2003 Descubrimiento y desarrollo de agentes cancerígenos derivados de plantas medicinales *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 8 (3)
- 74 LE BARS, D , GOZARIU, M y CADDEN, SW Animal models of nociception 2001 *Pharmacological Reviews* 53 597-652
- 75 LESUIS, N , RAGNAR, B , NYBERG, F y VAN VOLLENHOVEN, R 2012 Gender and the treatment of immune-mediated chronic inflammatory diseases rheumatoid arthritis, inflammatory bowel disease and psoriasis an observational study *Biomedical* 10 82
- 76 LOESER, J Y TREEDE, R The Kyoto protocol of IASP basic pain terminology *Pain* 137 473-477
- 77 LON, H , LIU, D Y JUSKO, W 2012 Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Modeling in Inflammation *Critical Reviews in Biomedical Engineering* 40(4) 295-312
- 78 LOPES SOUTO, A , FECHINE, T , SOBRAL, M , FORMIGA, M , DE

- ATHAYDE-FILHO, P, Y BARBOSA, J Anti-Inflammatory Activity of Alkaloids An Update from 2000 to 2010 2011 *Molecules* 16 8515-8534
- 79 MASOKO, P, GOLOLO, S, MOKGOTHO, M, ELOFF, J HOWARD, R, Y MAMPURU, L 2010 Evaluation of the antioxidant, antibacterial, and antiproliferative activities of the acetone extract of the roots of *Senna italica* (fabaceae) *African Journal of traditional, complementary, and Alternative Medicines* Vol 7 (2) 138-148
- 80 MATHERS, J 2002 Pulses and carcinogenesis potential for the prevention of colon breast and other cancers *British Journal of Nutrition* 88 273S-279S
- 81 MC CURDY, Ch y SCULLY, S 2005 Analgesic substances derived from natural products (natureceuticals) *Life Sciences* 78 (476-484)
- 82 McCHESNEY, J, VENKATARAMAN, S y HENRI, J 2007 *Phytochemistry* 68 2015-2022 PubMed 17574638
- 83 MICHAEL-TITUS A, COSTENTIN J 1988 Multiplicity and limits of nociceptive tests performed for the screening of analgesic agents *Actual Chimica Therapeutica* 15 311-323
- 84 MILLAN, M 2002 Descending control of pain *Progress in Neurobiology* 66 355-474
- 85 MISHRA, B y TIWARI, V 2011 Natural products An evolving role in future drug discovery *European Journal of Medicinal Chemistry* 46 4769-4807
- 86 MOGIL, J, DAVIS, K y DERBYSHIRE, S 2010 The necessity of animal models in pain research *Pain* 151 12-17
- 87 MOHAMMAD S 2009 Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary terpenene *Cancer Letters* 285 109-115
- 88 MOHD, M, ZAKARIA, Z, BALAN, T, THE, L Y SALLEH, M 2012 Antinociceptive activity of methanol extract to *Muntingia calabura* leaves and the mechanism of action involved *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* ID890361
- 89 MOKGOTHO, M, GOLOLO, S, MASOKO, P, MBAZIMA, V, SHAI, L, BAGLA, V, ELOFF, J, Y MAMPURU, L 2013 Isolation and chemical structural characterization of a compound with antioxidant activity from the roots of *Senna italica* *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* ID519174
- 90 MOLARES S, Y LADIO A 2012 The Usefulness of Edible and Medicinal Fabaceae in Argentine and Chilean Patagonia *Environmental Availability and Other Sources of Supply* *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* ID901918
- 91 National Institute on Drug Abuse (NIDA) 2012 U S Department of Health and Human Services National Institutes of Health
- 92 NEGUS, S, VANDERAH, M, BRANDT, M, BILSKY, E, BECERRA, L Y BORSOOK, D 2006 Preclinical assessment of candidate analgesic drugs recent advances and future challenges *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 319 507-514
- 93 NEWMAN, D y CRAGG, G 2007 Natural products as sources of new drugs over the last 25 years *Journal of Natural Products* 70 461-477
- 94 NUZILLARDA, J, CONNOLLY, J, DELAUDE, C, RICHARD, B, ZECHES-HANROT, M, Y LE MEN-OLIVIER, L 1999 Computer-assisted structural elucidation Alkaloids with a novel diaza-adamantane skeleton

- from the seeds of *Acosmium panamense* (Fabaceae) Elsevier 55 (38) 11511–11518
- 95 O'CALLAGHAN, J y HOLTZMAN, S 1975 Quantification of the analgesic activity of narcotic antagonists by a modified hot-plate procedure Journal of Pharmacology and Experimental Therapy 192 497-505
 - 96 PAN, X 2010 "Old drugs" for the treatment of rheumatoid arthritis will the cholinergic anti-inflammatory pathway and anti-nociceptive pathway work? Journal Inflammation Research 12 1005-7
 - 97 PATEL, M MURUGANANTHAN y GOWDA, S 2012 In vivo Animal models in Preclinical Evaluation of Anti-Inflammatory Activity- A Review International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences 1(2) 01-05
 - 98 PEREIRA, S 2006 Antimicrobial activity of *Indigofera suffruticosa* Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 3 (2) 261-265
 - 99 PÉREZ-CAJARAVILLE, J 2005 El dolor y su tratamiento a través de la historia Revista de la Sociedad Española del Dolor 12 373-884
 - 100 POLL, E 2007 Plantas medicinales de Guatemala Reseña Histórica Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 6 (2) 27
 - 101 POTHIER J, CHEAV, S, GALAND, N Y DORMEAU, C 1998 A comparative study of the effects of sparteine, lupanine and lupin extract on the central nervous system of the mouse Journal of Pharmacy and Pharmacology 50(8) 949-54
 - 102 PUEBLA DÍAZ, F 2005 Tipos de dolor y escala terapéutica de la O M S Dolor Iatrogénico Oncología 28 (3) 139-143
 - 103 RANDALL, L Y SELLITO, J A 1957 Method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue Archives Internationles de Pharmacodynamie et de Thérapie 111(4) 409-419
 - 104 RODRIGUES, F, OLIVEIRA, L, SARAIVA, M, ALMEIDA, S, CABRAL, M, CAMPOS, A, Y COSTA, J 2012 Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of essential oil from *Cordia verbenacea* DC leaves Pharmacognosy Research 4(3) 161-165
 - 105 ROTH, B Y YAN, F Salvinorin A a potent naturally occurring nonnitrogenous kappa opioid selective agonist 2002 Proceedings of the Natural Academy of Science USA 99 (18) 11934-11939
 - 106 RYAN, G Y MAJNO, G 1977 Acute Inflammation American Journal of Pathology 86 (1) 183-276
 - 107 SANTOS-NOGUEIRA, E, REDONDO, E, MANCUSO, R, Y NAVARRO, X 2012 Randall-Selitto Test A New Approach for the Detection of Neuropathic Pain after Spinal Cord Injury Journal of Neurotrauma 29 898-904
 - 108 SHEWALE, V, DESHMUKH, PATIL, L Y PATIL, V 2012 Anti-Inflammatory Activity of *Delonix regia* (Boj Ex Hook) Advances in Pharmacological Sciences ID789713
 - 109 SIEBERT, D *Salvia divinorum* and salvinorin A new pharmacologic findings Journal of Ethnopharmacology 43 (1) 53-56
 - 110 SINGH, S, MAJUMDAR, D y REHAN, H 1996 Evaluation of anti-inflammatory potential of fixed oil of *Ocimum sanctum* (Holybasil) and its possible mechanism of action Journal of Ethnopharmacology 54 (1) 19-26

- 111 SOPORI, M 2002 Effect of cigarette smoke on the immune System
Nature Reviews Immunology 2 372-377
- 112 SPANDE, T, GARRAFFO, H, EDWARDS, M, YEH, J PANNELL, L y
DALY, J Epibatidine-A novel (chloropyridyl) azabicycloheptane with
potent analgesic activity from an Ecuadorian poison frog Journal of the
American Chemical Society 114 (9) 3475-3478
- 113 SZALLASI, A., BLUMBERG, P, ANNICELLI, L, KRAUSE, J Y
CORTRIGHT, D 1999 The cloned rat vanilloid receptor VR1 mediates
both R-type binding and C-type calcium response in dorsal root ganglion
neurons Molecular Pharmacology 56 (3) 581-587
- 114 TAYLOR B, PETERSON M, BASBAUM A 1997 Early nociceptive events
influence the temporal profile, but not the magnitude, of the tonic response
to subcutaneous formalin effects with remifentanyl Journal of
Pharmacology and Experimental Therapeutics 280 876-883
- 115 TJOLSEN, A., BERGE, O, HUNSKAAR, S, ROSLAND, J Y HOLE, K
1992 The formalin test an evaluation of the method Pain 51 5-17
- 116 VALDES III, L DÍAZ, J y PAUL, A 1983 Ethnopharmacology of Ska Maria
Pastora (*Salvia divinorum* Epling and Jativa-M) Journal of
Ethnopharmacology 7 (3), 287-312
- 117 VANE, J 1971 Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of
action for aspirin-like drugs Nature New Biology 231 (25) 232-235
- 118 Vasconcelos J, TEIXEIRA, M, BARBOSA-FILHO, LÚCIO, A, ALMEIDA,
J, DE QUIROZ, L, RIBEIRO-DOS SANTOS, R Y SOARES, M 2008
The triterpenoid lupeol attenuates allergic airway inflammation in a murine
model International Immunopharmacology 8 1216-1221
- 119 VEITCH, N, GOODWIN, B, KITE, G, Y SIMMONDS, M 1997
Methoxylated quinolizidine alkaloids from *Acosmium panamense*
Phytochemistry 45(4) 847-850
- 120 Venn B, Mann J 2004 Cereal grains, legumes and diabetes European
Journal of Clinical Nutrition 58 1443-1461
- 121 WANG, Y, CHENGTAO, H, CHENGUANG, Z, DONGMEI, X, Y HAI-
BIN, Q 2011 Screening antitumor compounds Psoralen and Isopsoralen
from *Psoralea corylifolia* L Seeds Evidence-Based Complementary and
Alternative Medicine ID363052
- 122 WHAYNE, T 2006 Riesgo cardiovascular en mujeres Revista
Costarricense de Cardiología 8 (2) 3-4
- 123 WINTER, C, RISLEY, E y NUSS, G 1962 Carrageenan-induced edema
in hind paws of the rats as an assay for anti-inflammatory drugs
Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 3 544-
547
- 124 WOOLFE, G y McDONALD, A 1944 The evaluation of the analgesic
action of pethidine hydrochloride (Demerol) Journal of Pharmacology and
Experimental Therapy 80 300-307
- 125 YAHYA, F, MAMAT, S, KAMAROLZAMAN, M, SEYEDAN, A,
JAKIUS, K, MAHMOOD, N, SHAHRIL, M, SUHAILI, Z, MOHTARRUDIN,
N, SUSANTI, D, SOMCHIT, M, TEH, L, SALLEH, M, Y ZAKARIA, Z
2013 Hepatoprotective activity of methanolic extract of *Bauhinia purpurea*
Leaves against Paracetamol-induced hepatic damage in rats Evidence-
Based Complementary and Alternative Medicine ID636580

- 126 YAKSH, T y RUDY, T Narcotic analgestics CNS sites and mechanisms of action as revealed by intracerebral injection techniques *Pain* 4 299-359
- 127 YMELE, E , DONGMO, A y DIMO, T 2011 Analgesic and anti-inflammatory effect of aqueous extract of the stem bark of *Allanblackia gabonensis* (Guttiferae) *Inflammopharmacology* 21(1) 21-30
- 128 ZHANG, P1, QIN L y ZHANG, G 2010 The potential application of nicotinic acetylcholine receptor agonists for the treatment of rheumatoid arthritis *Journal of Inflammation Research* 59(6) 415-7
- 129 ZHAO, J , FANG, F , YU, L , WANG, G , Y YANG, L 2012 Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Croton crassifolius* ethanol extract *Journal of Ethnopharmacology* 142 367-373
- 130 ZHAO, X , MEI, W , GONG, M , ZUO, W, BAI, H Y DAI, H 2011 Antibacterial activity of the flavonoids from *Dalbergia odorifera* on *Ralstonia solanacearum* *Molecular Diversity Preservation International* 16 9775-82

ANEXOS

***Acosmium panamense* (Benth.) Yakovlev****Clasificación taxonómica**

Reino	Plantae
División	Angiospermophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Leguminosae
Subfamilia	Papilionoideae
Género	<i>Acosmium</i>
Especie	<i>Acosmium panamense</i>

Figura 31. Autor: Carmen Galdames. Imágenes en el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI).

Tomado del Sistema información sobre biodiversidad de Colombia.

Nombres comunes: Malvecino (Panamá), chichipate (El Salvador), bálsamo (México).

Sinónimo: *Sweetia panamensis* Benth, *Leptolobium panamense* (Benth.) Sch. Rodr. & A.M.G. Azevedo, *Dalbergia laevigata* Standl.

Descripción: es descrita como un árbol de hasta 1000 m de altura. Hojas alternadas, imparipinnadas; raquis, delgadas, puberulentas, 6-12 cm de largo; hojas 7-13, subopuestas, ovales a elípticas, de 3-8 cm de largo y 2-3 cm de ancho, ápice emarginado, base obtusa, haz glabra o casi glabra, lustrosa, envés más pálido, subcoriáceos, reticulados; peciolo ca. 3 mm de largo; estípulas lineares, caducas. Inflorescencias paniculadas, ramificadas, axilares en las hojas terminales, puberulentas, el raquis principal 8-14 cm de largo, los secundarios 2-5 cm de largo; brácteas y bractéolas lineares, 1-3 mm de

largo, caducas Flores numerosas, ca 6 mm de largo, cáliz 5-dentado, turbinado-campanulado, 3–4 mm de largo, puberulento, los dientes ca 2 mm de largo, agudos, persistente, pétalos 5, libres, blancos o cremas, subiguales, libres, espatulados, ca 4 mm de largo y 2–3 mm de ancho, largamente unguiculados, estambres 10, filamentos iguales a los pétalos, ovario glabro, 2- ó 3 ovulado, estipitado Frutos oblongos o elípticos, 5–9 cm de largo y 2–2.5 cm de ancho, coriáceos, glabros, reticulados, indehiscentes, semillas 1–4, subovadas, ca 8 mm de largo y 6 mm de ancho, lustrosas y color café-rojizas

Distribución Se distribuye ampliamente en Belice, Colombia, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Nicaragua, Honduras, México y Venezuela En Panamá se encuentra en las provincias de Darién, Panamá y el Área del Canal

Usos industria maderable, la corteza es utilizada como antimalárico en El Salvador, mientras que en México, la misma parte de la planta es utilizada para aliviar dolores de estómago, antimalárico, antihemorrágico, anticonceptivo y para el tratamiento de la sarna y mordedura de serpientes (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana)

***Dalbergia brownie* (Jacq.) Urb.****Clasificación taxonómica**

Reino	Plantae
División	Angiospermophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Leguminosae
Subfamilia	Papilionoideae
Género	<i>Dalbergia</i>
Especie	<i>Dalbergia brownie</i>

Figura 32. Autor: Steven Paton. Imágenes en el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI).

Tomado del Sistema información sobre biodiversidad de Colombia.

Nombres comunes: Bejuco frijolillo y sisa guidup en Panamá.

Sinónimos: *Amerimmon brownie* Jacq., *Dalbergia amerimnum* Benth.

Descripción: *Dalbergia brownie* es un arbusto o árbol que alcanza hasta 1000 m de altura, a menudo densamente ramificado. Hojas 1-folioladas, ovales de hasta 9.5 cm de largo y 5 cm de ancho, obtusas o afiladas gradualmente, acumen vago o evidente, variable en la base, coriáceas, lustrosas, puberulenta; pecíolos ovales de hasta 0.2 cm de largo. Inflorescencia cimosa-paniculada, más cortos que las hojas; pedicelos 1.5 mm de largo, puberulentos; brácteas ovales o reniformes ovales hasta 1.5 mm de largo; brácteolas ovales a oblongas lanceoladas, 0.6-1 mm de largo; flores con hipanto cerca de 4 mm de largo; estandarte estrechamente oblonga a rectangular hasta 9 mm de largo; pétalos de ala estrechamente

oblongas hasta 9.5 mm de largo, obtusa, estambres monadelfos, filamentos y vaina casi de igual longitud, ovario pedunculado de 2-4 mm de largo, glabo a minuciosamente puberulenta, estilo cerca de 1.5 mm de largo. Frutos pedunculados cerca de 0.3 cm de largo, oblongo, 1.2-3.5 cm de largo hasta 2.5 cm de ancho, obtusas en el ápice, liso, brillante, semillas planas, oblonga o rectangular oblonga de hasta 1.5 cm de largo.

Distribución Se distribuye ampliamente por Belice, Trinidad y Tobago, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Honduras, México, Florida y Venezuela. En Panamá se encuentra en las provincias de Bocas del Toro, Darién, Panamá, Veraguas, Colón, Los Santos, San Blas y el Área del Canal.

Usos: industria maderable.

***Diploptropis purpurea* (Rich.) Amshoff****Clasificación taxonómica**

Reino	Plantae
División	Angiospermophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Leguminosae
Subfamilia	Papilionoideae
Género	<i>Diploptropis</i>
Especie	<i>Diploptropis purpurea</i>

Figura 33. Autor: Rolando Pérez. Imágenes en el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI).

Tomado del Sistema información sobre biodiversidad de Colombia.

Nombres comunes: Peonia (Venezuela), Sucupira (Brasil)

Sinónimos: *Tachigali purpurea* Rich., *Diploptropis guianensis* Benth., *Dibrachion guianense* Tul., *Bowdichia guianensis* (Tul) Ducke, *Bowdichia brasiliensis* (Tul) Ducke

Descripción: árbol de hasta 1000 m de altura. El tronco generalmente es recto, cilíndrico y con un diámetro de hasta 40 pulgadas.

Distribución: Se distribuye ampliamente en Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Guyanas Francesas, Guyanas, Suriname y Venezuela.

Usos: industria maderable. No posee uso medicinal.

***Fissicalyx fendleri* Benth.****Clasificación taxonómica**

Reino	Plantae
División	Angiospermophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Leguminosae
Subfamilia	Papilionoideae
Género	<i>Fissicalyx</i>
Especie	<i>Fissicalyx fendleri</i>

Figura 34. Autor: Steven Paton. Imágenes en el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI).

Tomado del Sistema información sobre biodiversidad de Colombia.

Nombres comunes: palo de conejo

Sinónimos: *Monopteryx jahnii* Pittier

Descripción: esta especie es un árbol de hasta 1000 m de altura. Las hojas emergen aparentemente después de las flores de 4-14, por lo general 9 y opuestas, ovals (pares basales) a elíptico- lanceoladas (pares distales), aproximadamente 8 cm. de largo y 3 cm de ancho, membranosa, reticulada; pecíolos 2-10 cm de largo; raquis cerca de 15 cm. de largo, pubescentes; estípulas lanceoladas, a menudo acuminados, el acumen hasta 1.5 cm de largo. Panículas terminales, ramas delgadas, racemosa, pedicelos cerca de 6 mm de largo, hirsuto; bractéolas proximal al cáliz. Flores con hipanto fusiforme en el brote, después tubular, elíptica extremidad, espatáceas, cerca de 10 mm de largo, hirsuto; estandarte orbicular, cerca de 12 mm de largo, brevemente unguiculado, algo aracnoideo- velloso cerca de las puntas;

estambres con vaina cerca de 9 mm de largo, filamentos cerca de 2 mm de largo, anteras oblongas cerca de 1 a 1.3 mm de largo, dehiscente por pares, los poros terminales se extienden hasta las ranuras laterales, ovario estipitado cerca de 2 mm, estrechamente oblongo, aproximadamente 4 mm de largo, densamente pubescente, estilo de 10 mm de largo. Frutas planas, 5-6 cm de largo y 4-5 cm de ancho, estrechándose gradualmente y finalmente se truncan en la punta, las alas ligeramente pubescentes, semillas cerca de 1.7 cm de largo, color marrón rojizo.

Distribución Se distribuye ampliamente en Brasil, Guyana y Venezuela. En Panamá se encuentra en el Área del Canal. Es un árbol con flores de color amarillo-anaranjado, florece a finales de la estación seca en Panamá (marzo).

Usos. industria maderable

***Machaerium* sp**

Figura 35. Autor: Annette Aiello.
Imágenes en el Instituto Smithsonian de
Investigaciones Tropicales (STRI).

Clasificación taxonómica

Reino	Plantae
División	Angiospermophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Leguminosae
Subfamilia	Papilionoideae
Género	<i>Machaerium</i>
Especie	<i>sp</i>

*Tomado del Sistema información
sobre biodiversidad de Colombia.*

Descripción:

Arbustos, árboles o lianas leñosas de alta escalada, la savia es de color naranja o rojo. Hojas imparipinnadas, pocas a numerosas, alternas; estípeles ausentes; estípulas a menudo espinescentes. Racimos axilares o terminales, a menudo numerosas; brácteas generalmente pequeñas; bractéolas generalmente persistentes. Flores pequeñas, a menudo densas, hipanto truncado, dientes muy cortos, por lo general truncados u obtusos; estandarte amplio, por lo general emarginado; ala y pétalos coherente distalmente a lo largo del margen inferior; estambres 10, monadelfos o diadelfos y a menudo con 2 fascículos de 5 estambres, anteras pequeñas, por lo general basifijas, longitudinalmente dehiscente; estípite del ovario rodeado por un collar

glandular, estilo esbelta, estigma escasamente diferenciado. Frutas estipitadas, plana, ala atenuada, reticulada, semillas de forma variable.

Distribución: Se distribuye ampliamente en Argentina, Bolivia, Brasil, Trinidad y Tobago, Colombia, Costa Rica, Guyana Francesa, Guyana, Honduras, México, Suriname, Venezuela y Panamá.