



Universidad Michoacana de **S**an Nicolás de **H**idalgo

Facultad de Químico Farmacobiología

# Estudio Preliminar de Analgesia del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano de *Caesalpinia platyloba*

Tesis que presenta:  
Odessa Magallón Chávez

Para obtener el título de:  
Química Farmacobióloga

Directoras  
Doctora en Ciencias Químicas:  
Rosa Elva Norma del Río Torres

Doctora en Ciencias en Neurobiología:  
María Isabel Martínez García

Morelia, Michoacán.

Febrero, 2016.



## ÍNDICE

SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	i
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv

### **1.** INTRODUCCIÓN   1

1.1 Dolor	2
1.1.1 El dolor agudo	2
1.1.2 El dolor crónico	2
1.2 La Nocicepción	2
1.2.1 Los Nociceptores	4
1.2.1.1 Fibras A $\delta$	4
1.2.1.2 Fibras C	4
1.3 Los receptores TRPV en la generación de respuestas nociceptivas	4
1.3.1 El receptor TRPV1	5
1.4 Mecanismo molecular del dolor	6
1.5 Ciclo estral y dolor	7
1.6 Analgesia	7
1.7 Analgésicos	7
1.7.1 Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINE)	7
1.7.1.1 Meloxicam	8
1.7.2 Analgésicos opioides	8
1.8 Modelos animales	8
1.8.1 Prueba de retirada de cola	9
1.9 Uso de plantas para combatir enfermedades	9
1.9.1 Uso de plantas medicinales en México	10
1.10 Familia Fabaceae	10
1.10.1 Género <i>Caesalpinia</i>	11

### **2.** ANTECEDENTES   12

2.1 Estudios previos del género <i>Caesalpinia</i> en el tratamiento del dolor	12
2.2 Diterpenos	15
2.3 Cassanos	16
2.4 <i>Caesalpinia platyloba</i>	17

### **3.** JUSTIFICACIÓN   19

<b>4. HIPÓTESIS</b>	<b>21</b>
<b>5. OBJETIVO GENERAL</b>	<b>21</b>
5.1 Objetivos particulares	21
<b>6. METODOLOGÍA</b>	<b>22</b>
6.1 Obtención del extracto	22
6.2 Obtención del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano	22
6.3 Animales	23
6.4 Preparación del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano	23
6.5 Prueba de retirada de cola	24
6.6 Citología vaginal	25
6.7 Realización de autopsias	26
6.8 Análisis estadístico de resultados	26
<b>7. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL</b>	<b>27</b>
7.1 Obtención y tratamiento del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano	27
7.2 Pruebas biológicas	28
<b>8. RESULTADOS</b>	<b>29</b>
8.1 Identificación de los compuestos por RMN	29
8.2 Prueba de analgesia	31
8.3 Citología vaginal	34
8.4 Autopsias	35
<b>9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>36</b>
<b>10. CONCLUSIÓN</b>	<b>38</b>
<b>11. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>39</b>

## SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AINE	Antiinflamatorio no esteroideo
ANOVA	Análisis de varianza
C	Carbono
°C	Grados centígrados
CDCl <sub>3</sub>	Cloroformo deuterado
cm	Centímetros
cols.	Colaboradores
COX	Ciclooxigenasa
DMSO	Dimetil sulfóxido
F	Probabilidad de Fisher
g	Gramos
GABA	Ácido gamma amino butírico
GGPP	Geranil geranil pirofosfato
h	Horas
Hz	Hertz
IMSS	Instituto mexicano del seguro social
IP	Intraperitoneal
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
Kg	Kilogramo
m	Metro
mg	Miligramo
mm	Milimetro
msnm	Metros sobre el nivel del mar
n	Número de datos
OMS	Organización mundial de la salud
P	Probabilidad
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia magnética nuclear
s	Segundos

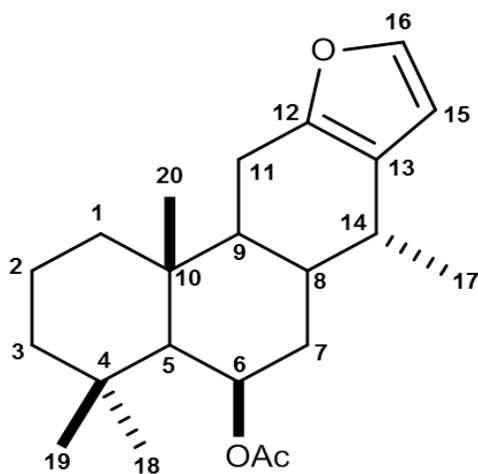
SNC	Sistema nervioso central
sp.	Sin especie determinada
SSI	Solución salina isotónica
TRPA	Receptor de potencial transitorio de ANKTM
TRPC	Receptor de potencial transitorio clasico
TRPM	Receptor de potencial transitorio melastatina
TRPML	Receptor de potencial transitorio mucolipina
TRPP	Receptor de potencial transitorio policistina
TRPV	Receptor de potencial transitorio vainilloides
Tween	Polisorbato

## RESUMEN

Las especies del género *Caesalpinia* resultan de gran interés científico ya que son una fuente importante de cassanos, compuestos que presentan amplio potencial farmacológico.

En el presente trabajo se evaluó el posible efecto analgésico del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**), diterpenfurano aislado del extracto de diclorometano de *Caesalpinia platyloba*, en un modelo térmico de dolor agudo (prueba de retirada de cola). Los sujetos experimentales fueron ratas hembra de la cepa Wistar con un peso promedio de 200 g que fueron administradas con dosis de 150 y 200 mg/kg, por vía intraperitoneal. En la comparación de los distintos grupos analizados se observó una respuesta analgésica por parte del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**), tal efecto se evidencia en la dosis de 200 mg/kg.

Para descartar la influencia que pueda tener el ciclo estral sobre los procesos nociceptivos, se realizó una citología vaginal en 2 tiempos distintos (60 minutos y 4 horas) durante la realización de la prueba.



**18**

**Palabras clave:** *Caesalpinia*, nocicepción, diterpenfurano, ratas, dolor.

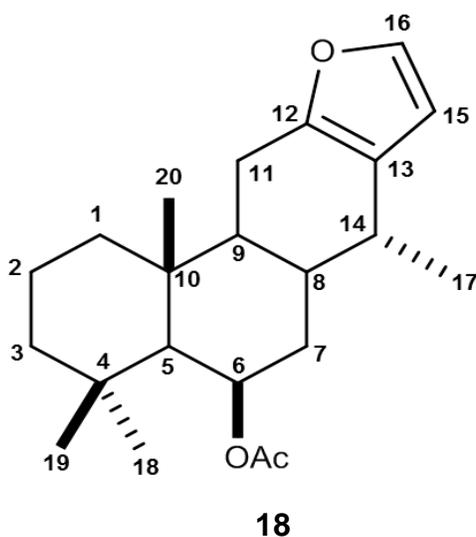
## ABSTRACT

*Caesalpinia* species of the genus are important source of cassane; compounds which have broad pharmacological potential.

In this work was evaluated the possible analgesic effect of 6 $\beta$ -acetoxyvouacapane (**18**), furanoditerpene isolated from the dichloromethane extract of *Caesalpinia platyloba* in a thermal model of acute pain (Tail flick). The experimental subjects were female Wistar rats with an average weight of 200 g, which were administered at doses of 150 and 200 mg/kg, intraperitoneally.

In the comparison of different groups analyzed it was observed an analgesic response from 6 $\beta$ -acetoxyvouacapane (**18**), this effect is evident in the dose 200 mg/Kg.

To rule out the influence of the estrous cycle on nociceptive processes, we perform a vaginal cytology in two times (60 minutes and 1 hour) during the test.



**Keywords:** *Caesalpinia*, nociception, furanoditerpene, rats, pain.

## 1. INTRODUCCIÓN

Una de las principales preocupaciones del hombre ha sido la conservación de la salud y el restablecimiento de ella cuando se ha quebrantado por alguna causa (Álvarez, 1922). El dolor es uno de los procesos más importantes implicados en la defensa de un organismo; en circunstancias fisiológicas tiene una función protectora pero existen patologías en que el dolor se convierte en un síntoma de importancia capital que llega a ser el centro de la enfermedad.

La utilización de plantas se ha llevado a cabo en las diferentes culturas tanto las ya extintas como las existentes en la actualidad, sin excepción alguna. Las arcillas de Babilonia, los papiros de Egipto y los grabados americanos dan prueba de la utilización de éstas en el remedio de diversos padecimientos (Monge, 2003).

El conocimiento de la acción terapéutica de los remedios naturales usados en la medicina tradicional ha permitido realizar investigaciones encaminadas a descubrir el principio activo de ellos. Los productos naturales constituyen una de las fuentes más ricas en compuestos orgánicos y favorecen de manera significativa al desarrollo de nuevos medicamentos.

En la actualidad ha sido posible validar experimentalmente los beneficios curativos de muchas plantas mediante protocolos de investigación; estos estudios se realizan no sólo en busca de nuevos principios activos procedentes del reino vegetal, sino con la intención de obtener a partir de los ya conocidos, productos que representen un principio activo perfeccionado con una eficacia mayor a los presentes en el mercado (Villarreal y cols., 2014).

La investigación básica y clínica ha avanzado mucho en los últimos años en su intención de conocer a fondo los mecanismos de la nocicepción. Esto ha sido posible gracias a modelos animales de dolor. Los modelos de dolor agudo y crónico son útiles para el estudio y desarrollo de nuevos tratamientos farmacológicos (Ortega y cols., 2002). Estos modelos miden el tiempo de latencia y/o el umbral de las respuestas de escape para evaluar el efecto de fármacos con probable actividad analgésica (Danneman, 1997).

## 1.1 Dolor

El dolor es una percepción sensorial desagradable proveniente de la activación del sistema nociceptivo por medio de un estímulo. La I.A.S.P. (international Association for the Study of Pain) define al dolor como una “experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a una lesión tisular real o potencial, o bien descrita en términos de dicha lesión”.

El dolor puede clasificarse como agudo o crónico. La diferencia entre ambos no es únicamente una cuestión de temporalidad:

**1.1.1 El dolor agudo** es la consecuencia inmediata de la activación de los sistemas nociceptivos por un estímulo. Tiene la función de protección y los síntomas psicológicos son escasos y limitados a una ansiedad leve. Es un dolor de naturaleza nociceptiva y aparece por la estimulación química, mecánica o térmica de nociceptores específicos. La principal misión del dolor agudo es, por tanto, informar al organismo de tales ataques.

**1.1.2 El dolor crónico** no posee una función protectora, y más que un síntoma se considera una enfermedad. Es un dolor persistente que puede reproducirse por un tiempo prolongado después de una lesión, e incluso, en ausencia de ella. Suele ser resistente a los tratamientos y se asocia a importantes síntomas psicológicos (Ferrandiz, 2008).

## 1.2 La Nocicepción

Son muy variadas las estructuras nerviosas que participan en la percepción de la experiencia dolorosa. Entre el sitio activo del tejido dañado y la percepción de dicho daño se produce una serie de eventos neurofisiológicos, que colectivamente reciben el nombre de nocicepción.

En este proceso se lleva a cabo la transducción, conducción y procesamiento nervioso central de las señales generadas a partir de un estímulo; éste estímulo puede ser térmico, químico o mecánico de alta intensidad el cual es detectado por

fibras nerviosas sensoriales llamadas nociceptores. El sistema nociceptivo es uno de los responsables de la homeostasis en el organismo.

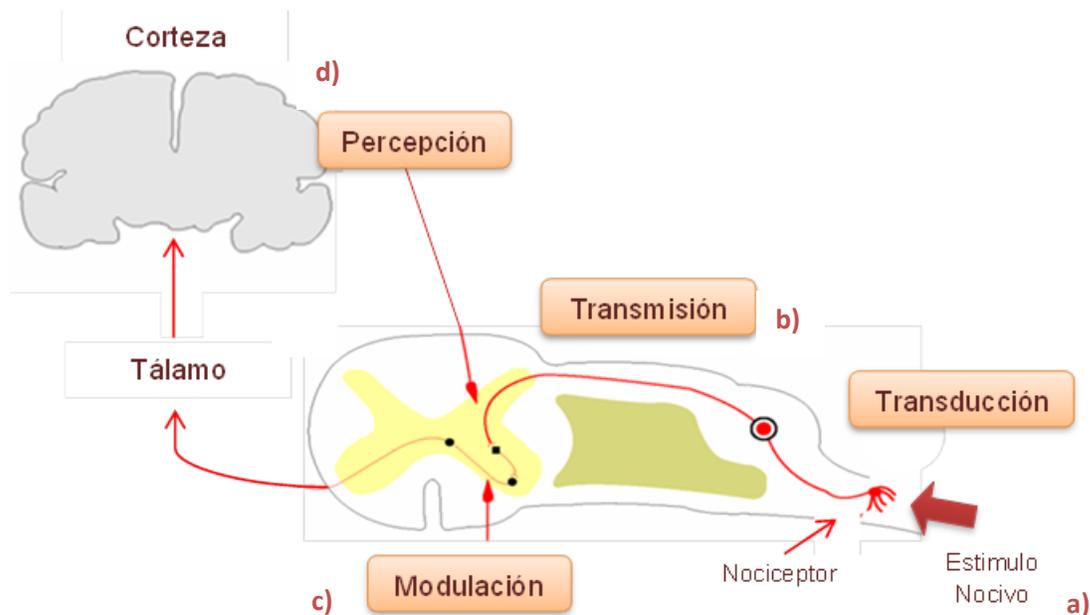
El proceso de nocicepción comprende cuatro fases fisiológicas (Figura 1), que van desde el origen de la lesión hasta la percepción del dolor:

**Transducción:** Es el proceso por el cual un estímulo nocivo periférico se transforma en un estímulo eléctrico, generando de esta manera un potencial de acción a nivel de los receptores.

**Transmisión:** Consiste en la propagación del potencial de acción de manera ascendente desde los nociceptores hasta la médula espinal por medio de vías de conducción.

**Modulación:** Es la modificación de la transmisión del impulso nervioso que permite continuar, disminuir o amplificar la respuesta nociceptiva.

**Percepción:** Proceso final en el que la transducción, la transmisión y la modulación interactúan con la psicología del paciente para crear la experiencia subjetiva y emocional que se percibe como dolor (Arbaiza, 2005).



**Figura 1.** Esquema del proceso de nocicepción a) un estímulo nocivo externo (térmico, químico o mecánico) activa al nociceptor generando un potencial de acción b) que se transmite desde el nociceptor hasta la médula espinal c) esta información transmitida se modula para finalmente d) crear la percepción de dolor (Modificado de Torregrosa, 1994).

### 1.2.1 Los nociceptores

Son terminaciones neuronales libres que se activan por estímulos que causan daño al tejido. La función del nociceptor es convertir un estímulo potencialmente dañino en señales eléctricas por un proceso denominado transducción. Los nociceptores se distribuyen por todo el cuerpo (piel, músculos, articulaciones y vísceras). Se clasifican dependiendo del espesor de su vaina de mielina, parámetro crucial que determina la velocidad de conducción de las señales eléctricas. Se dividen en:

#### 1.2.1.1 Fibras A $\delta$

Son fibras rápidas (1.5-26 m/s) que conducen la sensación de dolor que provoca un estímulo agudo. Éstas a su vez se dividen en tipo I y II (Wang y cols., 2009, Koga y cols., 2005). El 20% de los impulsos son transmitidos por estas fibras miélicas, estas producen un dolor agudo, concreto e inmediato (Perena, 2000).

#### 1.2.1.2 Fibras C

Tienen una velocidad de conducción lenta (menos de 2 m/s). El 80% de los impulsos es vehiculizado por fibras C amiélicas, que son las responsables del dolor difuso y desagradable.

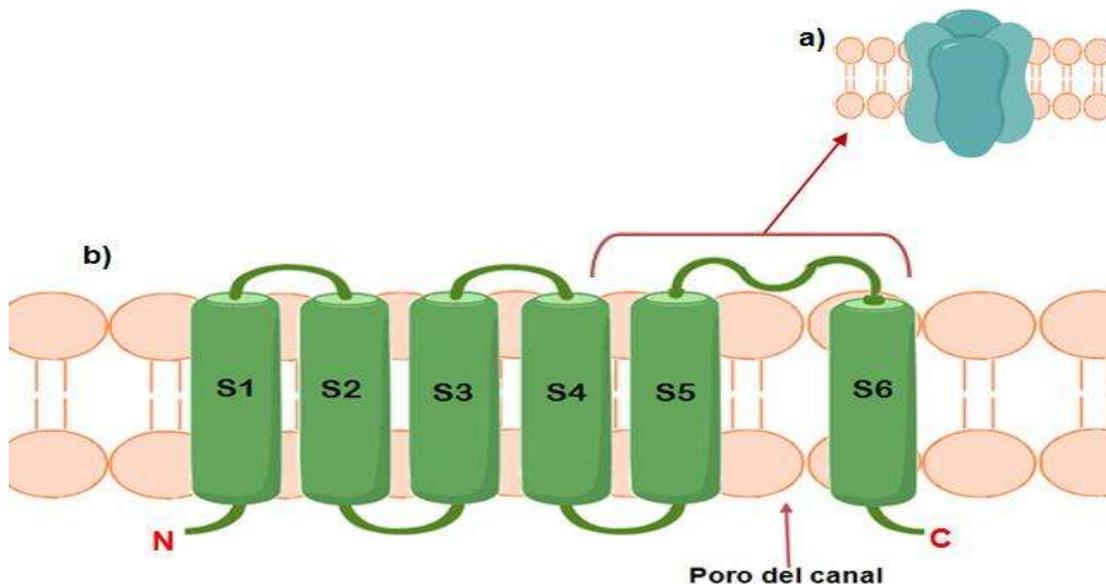
### 1.3 Los receptores TRPV en la generación de respuestas nociceptivas

A nivel molecular, los nociceptores poseen en sus terminales un conjunto de receptores proteicos preparados para reconocer y transducir los estímulos nocivos de tipo físicos y químicos (Ferrer, 2009), estos receptores TRP (receptores de potencial transitorio) juegan un papel fundamental en la transducción de las distintas modalidades somato sensoriales en mamíferos incluyendo la nocicepción y el dolor y constituyen una extensa familia subdividida en receptores TRPC, TRPM, TRPV, TRPA, TRPP y TRPML (Salazar y cols., 2009).

### 1.3.1 El receptor TRPV1

El receptor TRPV1 a su vez se dividen en 6 miembros (TRPV1-TRPV6) estos receptores se han constituido como una diana crucial en la transducción de señales dolorosas. Su extensa distribución tisular y celular, junto a la potenciación de su canal iónico por mediadores pro-inflamatorios liberados durante un daño tisular, han situado a este receptor como un mediador crítico de la sensibilización inflamatoria de los nociceptores que resulta en la manifestación de hipersensibilidad de la zona dañada (Venkatachalan, 2007). Este canal es activado por altas temperaturas nocivas ( $\sim 42^{\circ}\text{C}$ ), el voltaje, la acidificación extracelular, el pH intracelular alcalino, la anandamida y por la capsaicina (compuesto nitrogenado presente en los chiles picantes).

El canal funcional es un homotetrámero (Figura 2), cuyas subunidades tienen seis segmentos transmembranales y regiones amino (N-) y carboxilo (C-) terminales intracelulares. Los segmentos transmembranales cinco (5S) y seis (6S) de cada subunidad, junto con el asa que los conecta, dan lugar al poro o vía de conducción iónica (Salazar y cols., 2009).

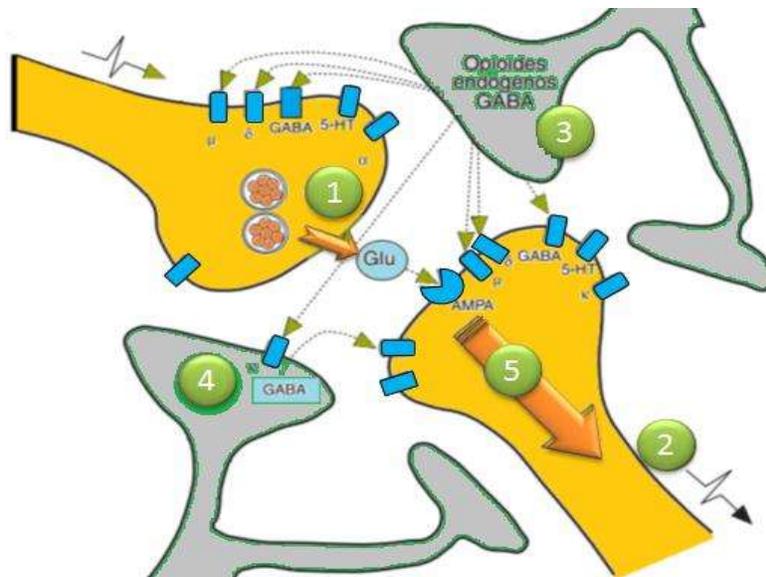


**Figura 2.** a) El canal funcional forma un homotetrámero. b) Esquema de una subunidad del canal TRPV1, cada subunidad se compone de seis segmentos transmembranales (S1-S6) (Modificado de Salazar y cols., 2009).

## 1.4 Mecanismo molecular del dolor

Los estímulos sensoriales ya sean térmicos, químicos o mecánicos activan un receptor periférico específico que permite el flujo de iones al interior del nociceptor y produce su despolarización. Los estímulos térmicos activan los receptores de potencial transitorio vanilloides (TRPV1). Si el estímulo es lo suficientemente potente se genera un potencial de receptor para activar canales de sodio sensibles a voltaje, esto inducirá un potencial de acción que propagará el estímulo nervioso desde el nociceptor hasta el asta dorsal de la médula donde se promueve la liberación de glutamato (Figura 3).

El glutamato, un aminoácido excitador que se unirá a receptores AMPA localizados en la neurona postsináptica que transmitirá la información hacia los centros superiores del SNC, llegando al tálamo y a la corteza cerebral, desde estos núcleos superiores se activan vías descendentes que llegarán de nuevo al asta dorsal de la médula espinal y liberarán sustancias endógenas inhibitoras (fundamentalmente opioides y GABA) (Goicoechea y Martin, 2006). Estas sustancias inhibitoras actúan modulando la transmisión del estímulo, por un lado disminuyendo la liberación de glutamato y por otra hiperpolarizando la membrana de la neurona postsináptica (Griffin y Woolf, 2008).



**Figura 3.** 1: liberación de glutamato; 2: transmisión a los centros superiores; 3: liberación de sustancias inhibitoras desde las vías ascendentes; 4: liberación de sustancias inhibitoras desde las interneuronas; 5: transmisión de la señal modulada al sistema nervioso central (Modificado de Griffin y Woolf, 2008).

## **1.5 Ciclo estral y dolor**

El sexo es un factor importante en la modulación de la experiencia dolorosa. Existen muchas evidencias de que la experiencia dolorosa es diferente en los machos y en las hembras, como también la respuesta a algunas clases de analgésicos. Innumerables experimentos de laboratorio nos sugieren que las mujeres poseen un umbral doloroso menor que el de los hombres, en cuanto al dolor provocado por estímulos nociceptivos como el calor, el frío, la presión y el estímulo eléctrico. Sin embargo, existe controversia respecto a que si el ciclo estral influye en la percepción de los estímulos dolorosos (Carneiro de Araújo y cols., 2011).

## **1.6 Analgesia**

La analgesia se define como la ausencia de dolor, sin embargo, en la terapéutica es aceptada como la disminución de la intensidad del dolor percibido y puede inducirse mediante la interrupción u obstrucción de la nocicepción. La analgesia tiene como objetivo eliminar la sensación de dolor mediante el bloqueo artificial de las vías de transmisión del mismo.

## **1.7 Analgésicos**

Son fármacos capaces de aliviar el dolor sin alterar significativamente el estado de conciencia. Los Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINES) y los analgésicos opioides constituyen los planes básicos del tratamiento farmacológico del dolor.

### **1.7.1 Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINE)**

Los AINES son fármacos antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos, que constituyen uno de los grupos de medicamentos más prescritos. Tienen como efecto primario inhibir la síntesis de prostaglandinas, a través de la inhibición de las isoformas de la enzima ciclooxigenasa: COX-1 y COX-2. Las estructuras de los miembros de este grupo son diferentes, sin embargo, comparten acciones farmacológicas y efectos indeseables semejantes. La potencia antiinflamatoria,

analgésica y antipirética de cada uno es variable. Los no selectivos son eficaces como analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios, pero provocan reacciones adversas gastrointestinales, renales y sobre la coagulación al bloquear la isoforma COX-1. Los selectivos a la COX-2, no afectan la COX-1 y provocan menos reacciones adversas (Leza y Lizasoain, 2005).

#### 1.7.1.1 Meloxicam

El Meloxicam es un fármaco que pertenece al grupo de los AINES, derivado del ácido enólico y considerado preferentemente selectivo de la isoforma COX-2. Es utilizado para tratar el dolor y la inflamación, al evitar que la enzima ciclooxigenasa induzca la síntesis de prostaglandinas evitando así, el proceso de la inflamación y dolor.

#### 1.7.2 Analgésicos opioides

Grupo de sustancias narcóticas que producen analgesia al unirse a receptores de membrana específicos llamados receptores opioides ( $\mu$ , kappa y gamma); estos receptores se ubican de manera principal en regiones del cerebro y médula espinal, implicadas en la transmisión y modulación del dolor. El dolor contiene tanto componentes sensoriales como afectivos (emocionales). Los opioides pueden modificar ambos aspectos de la experiencia de dolor. En la mayor parte de los casos tienen un efecto más marcado sobre el componente afectivo por lo que puede llegar a generar dependencia (Bonilla, 2009).

### 1.8 Modelos animales

Las estructuras anatómicas y los mecanismos neurofisiológicos que conducen a la percepción del dolor son muy similares en animales y humanos, es por esto que resulta razonable admitir que cualquier estímulo que resulte doloroso para los humanos, perjudicial para los tejidos, y que provoque la huida o una respuesta conductual en el animal, debe considerarse doloroso para éste.

Los modelos de dolor agudo y crónico son útiles para el estudio y desarrollo de nuevos tratamientos farmacológicos; estos modelos utilizan un estímulo físico o

químico que tiene como objetivo determinar una latencia de respuesta por parte del animal ante dicho estímulo. Los modelos animales para estudios de analgesia miden el tiempo de latencia y/o el umbral de las respuestas de escape para evaluar el posible efecto de un fármaco en el proceso nociceptivo. Entre los modelos de dolor más utilizados se encuentra la prueba de retirada de cola, el cual usa como base un estímulo térmico (Ortega y Mico, 2002).

#### **1.8.1 Prueba de retirada de cola**

Esta prueba es la más utilizada y consiste en la aplicación de radiación térmica sobre la cola del animal, hasta alcanzar un nivel que le produzca dolor, para evitar el estímulo el animal retira la cola haciendo un movimiento riguroso. El tiempo de reacción de este movimiento se registra y un retardo en el tiempo de reacción se interpreta como acción analgésica.

#### **1.9 Uso de plantas para combatir enfermedades**

Las especies vegetales han constituido, además de alimento, el remedio primero a los problemas de salud inherentes a la condición humana. El hombre antiguo, utilizando su propio instinto, observando a los animales y a través del conocimiento empírico que se sustenta en el registro de aciertos y errores, aprendió a distinguir las especies vegetales dañinas de las que podían serle de utilidad. La utilización de los productos de origen vegetal, con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, para atenuar o para curar un estado patológico, es tan antigua como el hombre.

De acuerdo con estadísticas de la OMS (Organización Mundial de la Salud), las plantas son utilizadas por 80% de la población mundial para satisfacer o complementar sus necesidades médicas (Ocegueda y cols., 2005). Se calcula que de las 260,000 especies de plantas que se conocen en la actualidad el 10% se pueden considerar medicinales, es decir, se encuentran agrupadas dentro de tratados médicos de fitoterapia modernos y antiguos por presentar algún uso.

### 1.9.1 Uso de plantas medicinales en México

Los antiguos pobladores del territorio mexicano desarrollaron una de las herbolarias más complejas del mundo, debido a la riqueza cultural y étnica que alcanzaron. Estos conocimientos se han transmitido de generación en generación.

Se han identificado hasta 5,000 especies que tienen aplicaciones curativas (González-Stuart y Rivera., 2009). Es importante mencionar que muchas de las especies de plantas que han sido utilizadas para el tratamiento de enfermedades en la medicina tradicional crecen de manera silvestre.

México cuenta con una gran biodiversidad y se estima que posee 30,000 especies de las cuales en 1997 el Instituto Nacional Indigenista documentó 3,000 con usos medicinales y el IMSS cuenta con un herbario de 14,000 ejemplares de plantas medicinales. A pesar de que los medicamentos herbolarios se han empleado durante muchos siglos, como los referidos en el Códice Badiano escrito en Náhuatl por el médico indígena Martín de la Cruz en el siglo XVI, sólo una cantidad relativamente pequeña de plantas mexicanas se han estudiado para su posible aplicación médica y es menor aún el número de plantas medicinales sobre las que se han realizado estudios de eficacia y seguridad de sus principios activos y del tipo de extractos que los contienen (Encarnación, 2010).

### 1.10 Familia Fabaceae

La familia Fabaceae (Leguminosae) es uno de los mayores grupos de plantas con flores (Angiospermas) en el mundo. Reúne árboles, arbustos y hierbas perennes o anuales, fácilmente reconocibles por su fruto tipo legumbre y sus hojas compuestas y estipuladas. Es una familia de distribución cosmopolita con más de 700 géneros y unas 19,400 especies, distribuidas en todo el mundo, aunque son más frecuentes en las regiones tropicales y subtropicales. Todas las especies son fijadoras de nitrógeno atmosférico gracias a unas bacterias (*Rhizobium* sp.) que viven en los nódulos de las raíces, lo que hace que los suelos donde habitan sean más fértiles. Muchas de ellas han sido cultivadas como ornamentales, otras como plantas forrajeras y otras por sus semillas o legumbres comestibles o porque de

ellas se extraen aceites, tinturas o principios activos medicinales (Castroviejo, 2007).

### 1.10.1 Género *Caesalpinia*

México es un país con una de las biodiversidades más variadas de la tierra. Se ha calculado que sobre el territorio mexicano viven entre 25,000 y 30,000 especies solamente de plantas vasculares (Sarukhán y cols., 2009). Michoacán ocupa el cuarto lugar en riqueza florística en el país, resultando la familia Fabaceae como la segunda más abundante (Villaseñor y Espinosa-García, 2011), dentro de esta familia encontramos el género *Caesalpinia*, el cual consiste en una fuente inagotable de metabolitos bioactivos.

Este género comprende alrededor de 500 especies (Figura 4) a partir de las cuales se han aislado diversos compuestos químicos como flavonoides, diterpenos y esteroides (Wu y cols., 2011). La mayoría de los miembros de *Caesalpinia* son plantas medicinales y agrícolamente importantes. Especies de este género presentan actividad analgésica, antibacteriana, antifúngica, antiinflamatoria, antipirética, antioxidante, antiulcerosa, antiviral, inmunomoduladora, entre otras (Baldim y cols., 2012).



**Figura 4.** Especies del género *Caesalpinia*.

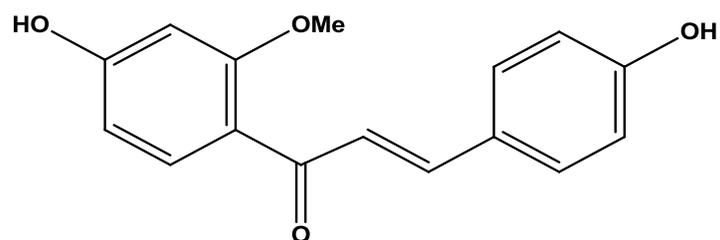
Una gran diversidad de estas especies son endémicas y su distribución en México se describe principalmente en los estados de Michoacán, Jalisco, Nayarit, Sinaloa y Oaxaca.

## 2. ANTECEDENTES

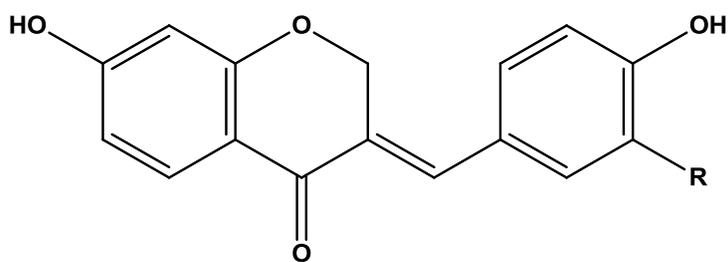
### 2.1 Estudios previos del género *Caesalpinia* en el tratamiento del dolor

El género *Caesalpinia* farmacológicamente ha sido poco estudiado; sin embargo, se conoce su extenso uso en la medicina tradicional, y se han hecho investigaciones encaminadas a comprobar estas atribuciones farmacológicas.

En un ensayo de contorsión abdominal inducido con ácido acético en ratones, el extracto etanólico de *Caesalpinia sappan* inhibió significativamente el número de contorsiones, usando dosis de 200 y 400 mg/kg inhibiendo la hiperalgesia en un 70 % y 73 %, respectivamente (Baldim y cols., 2012).



1



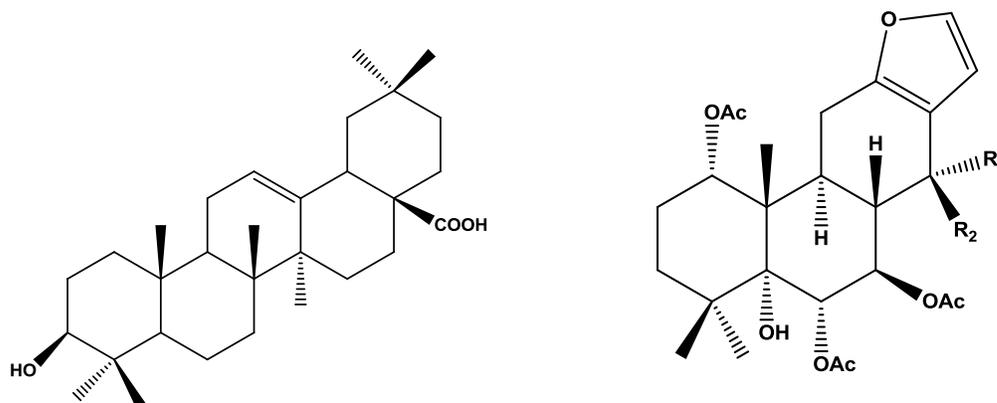
2: R=H

3: R=OH

**Figura 5.** Compuestos aislados del extracto de *Caesalpinia sappan*.

Este mismo modelo farmacológico se aplicó al extracto etanólico de *Caesalpinia ferrea*, el cual produjo una reducción en el número de contorsiones del

51% y el 88% en dosis de 10 y 20 mg/kg, respectivamente (Sandrine y cols., 2012).

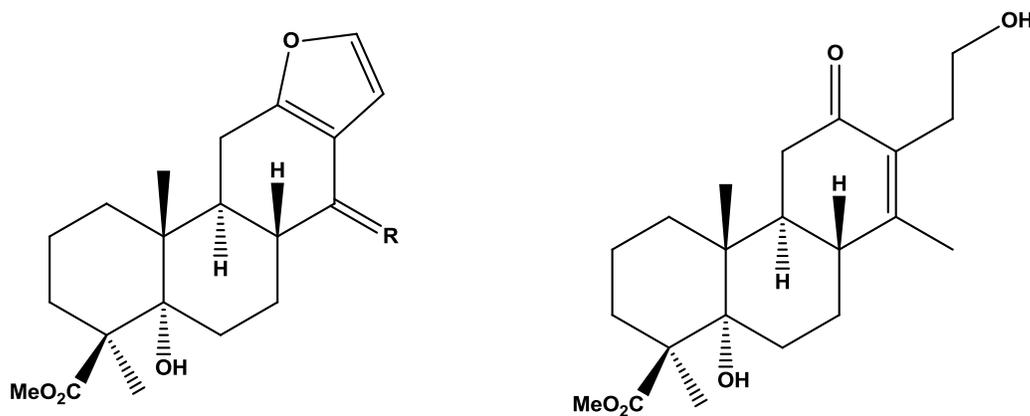


**4 5:**  $R_1=CH_3$ ,  $R_2=OCH_3$

**6:**  $R_1=CH_3$ ,  $R_2=OH$

**Figura 6.** Compuestos aislados del extracto de *Caesalpinia ferrea* con propiedades farmacológicas (Baldim y cols., 2012).

Mientras que el aceite de las semillas de *Caesalpinia bonducella* (400 mg/kg) mostró una inhibición del 48.6% (Devi y cols., 2008).



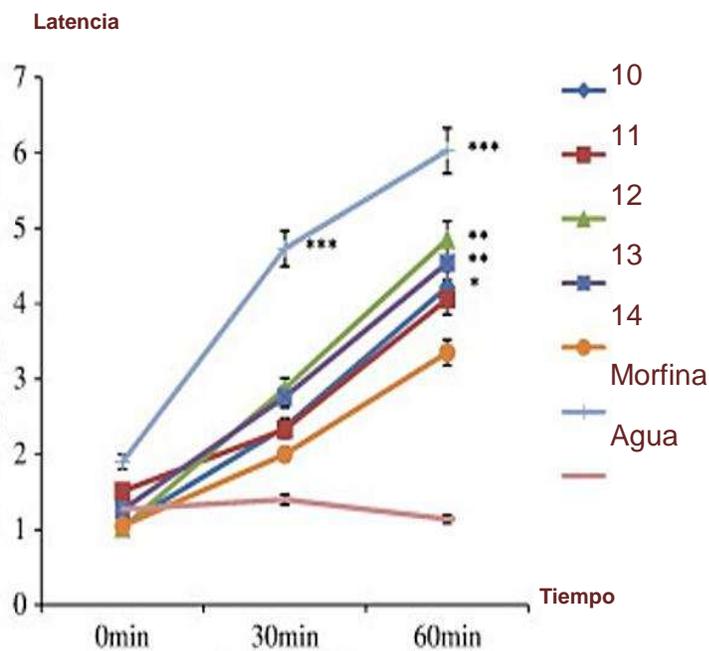
**7:**  $R=H$ ,  $\alpha-CH_3$

**8:**  $R=CH_2$

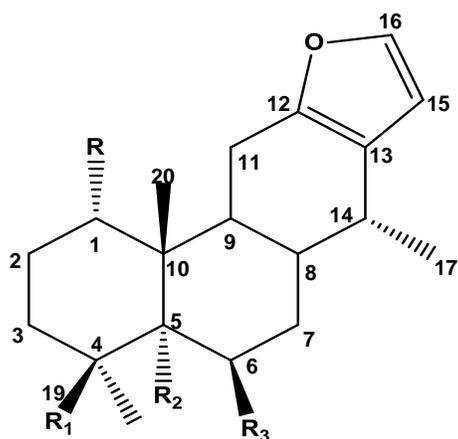
**9**

**Figura 7.** Cassanos diterpenos aislados de *Caesalpinia bonducella* (Peter y cols., 1998).

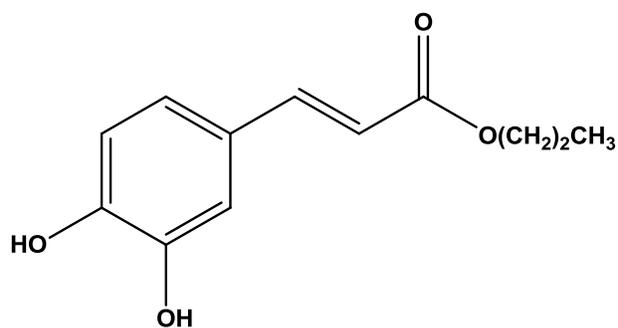
En estudios previos fue evaluada la actividad antinociceptiva de compuestos aislados del extracto de acetato de etilo de *Caesalpinia volkensii* (Figura 8) en la prueba de plato caliente, donde se observó que tres de los cinco compuestos administrados en dosis de 100 mg/kg tuvieron efecto significativo a los 60 minutos posteriores a la administración; con lo que se propuso que el extracto y los principios activos (diterpenofuranos, principalmente) representan posibles opciones terapéuticas para el tratamiento del dolor (Charles y cols., 2012).



**Figura 8.** Efecto antinociceptivo de compuestos aislados de *Caesalpinia volkensii*.



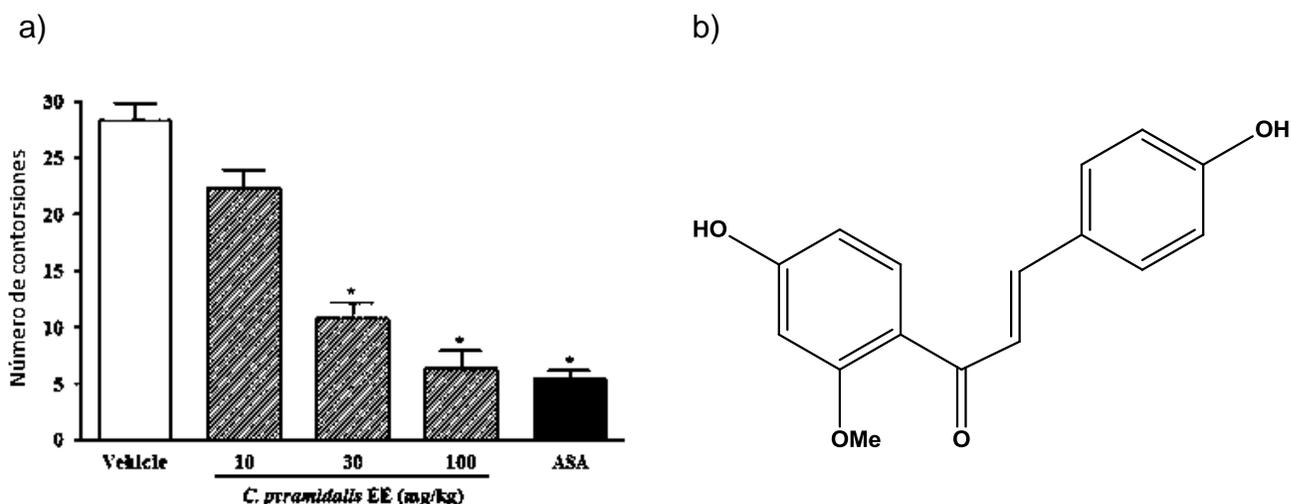
- 10:** R=R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=H, R<sub>1</sub>=Me  
**11:** R=R<sub>3</sub>=H, R<sub>2</sub>=OH, R<sub>1</sub>=Me  
**12:** R=R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=H, R<sub>1</sub>=COOMe  
**13:** R=R<sub>3</sub>=H, R<sub>2</sub>=OH, R<sub>1</sub>=COOMe



**14**

**Figura 9.** Estructuras de compuestos aislados de *Caesalpinia volkensii* con propiedades antinociceptivas.

El extracto etanólico de *Caesalpinia pyramidalis* también fue evaluado farmacológicamente para probar su efecto antinociceptivo (Figura 10). En éste estudio se determinó que las contorsiones provocadas por la inyección de ácido acético en la cavidad abdominal se vieron notablemente reducidas en relación con las dosis usadas 30 y 100 mg/kg y la reducción fue de 62 y 78 %, respectivamente (Cliomar y cols., 2013).



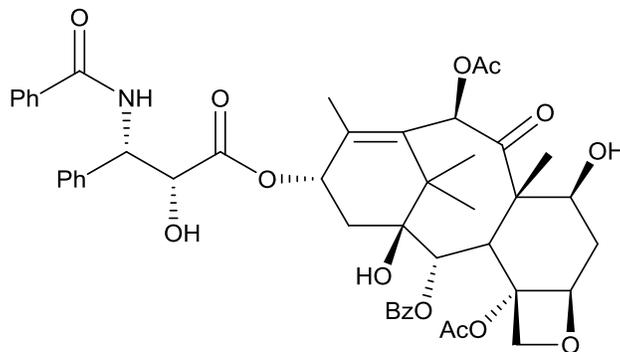
15

**Figura 10.** a) Reducción del número de contorsiones del extracto etanólico de *Caesalpinia pyramidalis*. b) Compuesto obtenido del extracto etanólico de *Caesalpinia pyramidalis*.

## 2.2 Diterpenos

Los diterpenos son compuestos con veinte unidades de carbono y se encuentran en algunos insectos, diversos organismos marinos, pero sobre todo están repartidos en especies vegetales. Los diterpenos se originan a partir del geranil geranil pirofosfato (GGPP). La mayoría son compuestos cíclicos.

En éste grupo se presentan compuestos con interesantes propiedades farmacológicas, como el taxol (Figura 11) empleado en el tratamiento de cáncer como antitumoral, las podofilotoxinas con propiedades citotóxicas, antimicóticas y antivirales.



16

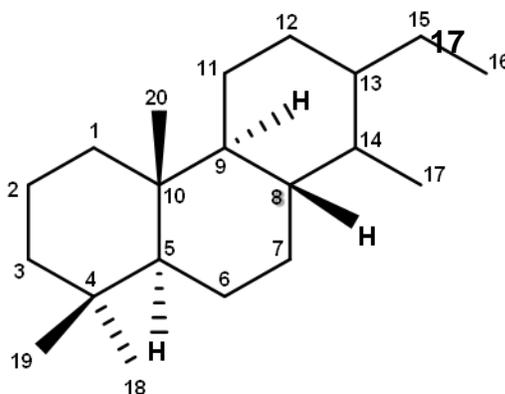
**Figura 11.** Estructura del Taxol diterpenfurano usado como antitumoral.

### 2.3 Cassanos

Los cassanos de origen natural constituyen un grupo de diversas sustancia diterpenoides que son bien conocidos por su actividad biológica.

El nombre cassano deriva del nombre nativo "Cassa" para *Erythrophleu guineense*, la primera fuente de un alcaloide diterpeno cristalino, *Cassaine*.

El esqueleto básico de los cassanos se caracteriza estructuralmente por ser un diterpeno tricíclico (Figura 12) con una sustitución del grupo etilo en C-13 y un grupo metilo en C-14. Los diterpenos cassanos son, por tanto, de interés en el contexto de la diversidad estructural y por su amplio espectro de actividades biológicas.



17

**Figura 12.** Esqueleto base de los cassanos.

## 2.4 *Caesalpinia platyloba*

Es un árbol de 5 a 15 m de altura, tiene flores amarillas que van de 7 a 9 mm de largo, contiene frutos tipo legumbres aplanadas (Figura 13). Su crecimiento se presenta en época de lluvias; es considerada una especie de rápido desarrollo y se conoce comercialmente como frijolillo o palo colorado. Es usado como cercas vivas en algunos cultivos para protegerlos de las termitas, sus vainas y hojas se usan para alimento del ganado en época de sequía. Debido a su plasticidad en ambientes contrastantes de luz es usada como sombra en cultivos de café (Díaz, 2011).



Figura 13. Árbol de *Caesalpinia platyloba*.

En un estudio químico de *Caesalpinia platyloba* se aislaron 3 diterpenos (**18**, **19** y **20**) a partir del extracto con diclorometano de las hojas.

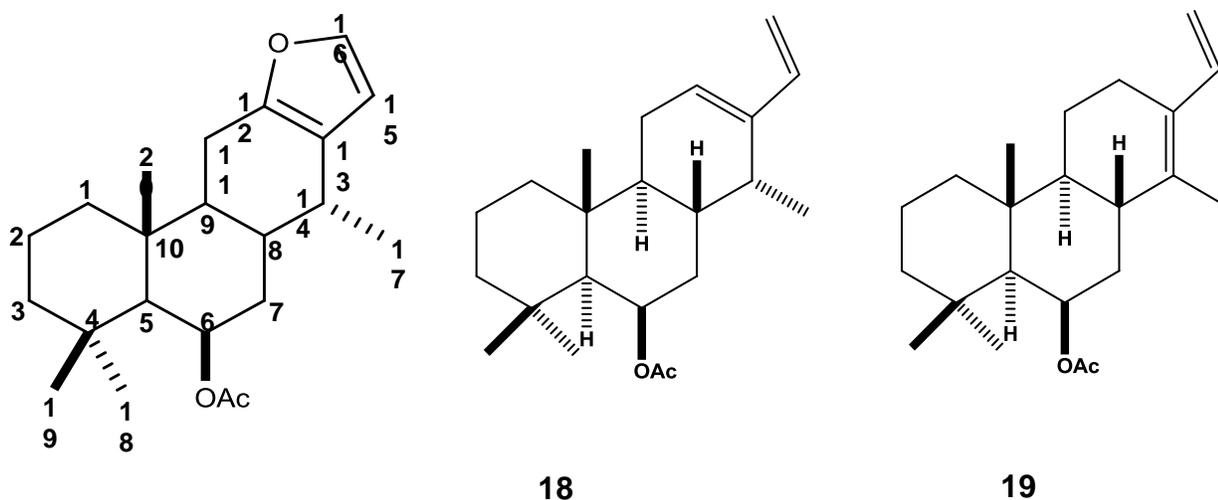
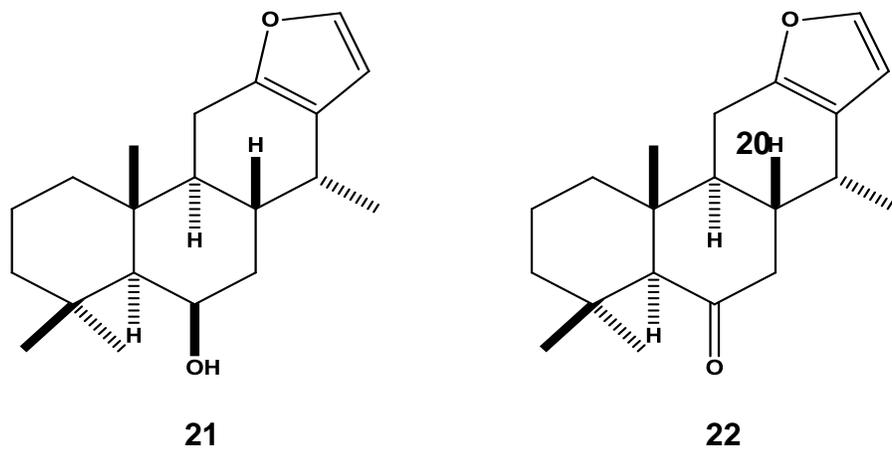


Figura 14. Estructuras de diterpenos aislados de *Caesalpinia platyloba*.

En éste mismo estudio obtuvieron dos diterpenos (**21** y **22**) preparados a partir del compuesto **18**.



**Figura 15.** 6β-hidroxivouacapano (**21**), 6-oxouvouacapano (**22**).

Estos compuestos presentan un potencial farmacológico importante debido a sus características moleculares (Gómez-Hurtado y cols., 2013).

### 3. Justificación

El dolor es considerado uno de los malestares más comunes en todo el mundo; agentes analgésicos convencionales han jugado un papel importante en el tratamiento del dolor, pero causan múltiples efectos adversos. Por lo tanto, la búsqueda de nuevos y mejores analgésicos continúa.

El uso de terapias naturales constituye un enfoque importante para el tratamiento de trastornos del dolor. Se ha descrito que diferentes productos de origen natural poseen actividad antinociceptiva significativa. Los fármacos obtenidos de fuentes naturales desempeñan un papel importante en la medicina moderna; las plantas medicinales nos proporcionan muchos fármacos sumamente útiles, así como también compuestos básicos que pueden modificarse en su estructura química para obtener otros más eficaces y menos tóxicos.

Las plantas medicinales son fuentes potenciales de moléculas bioactivas, poseen estructuras novedosas y el desarrollo de medicamentos a base de estas proporciona un producto de menor costo; estas características innovadoras han motivado a la industria farmacéutica para dirigir la investigación hacia el desarrollo de medicamentos a base de plantas.

En México alrededor de 4,000 especies de plantas con flores (aproximadamente 15% de la flora total) tienen atributos medicinales, es decir que una de cada siete especies aproximadamente poseen alguna propiedad curativa. Sin embargo, se estima que la evaluación química y farmacológica de los principios activos que contienen se ha llevado a cabo solo en el 5% de estas especies (Ocegueda y cols., 2005).

El género *Caesalpinia* perteneciente a la familia Fabaceae la segunda con más especies nativas en Michoacán incluye más de 500 especies de las cuales menos de 30 han sido estudiadas respecto a sus propiedades fitoquímicas y farmacológicas; sin embargo, se conoce su extenso uso en la medicina tradicional.

Existen reportes donde se ha evaluado la actividad analgésica en varias especies del género *Caesalpinia* dando como respuesta una inhibición en la nocicepción.

*Caesalpinia platyloba* es una especie endémica en Michoacán y su compuesto mayoritario el 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) resulta interesante ya que en su estructura presenta un diterpenfurano, fracción que reporta actividad biológica importante.

Debido a esto, el presente estudio fue diseñado para investigar el potencial efecto antinociceptivo del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) de *Caesalpinia platyloba*.

#### 4. Hipótesis

El 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) compuesto aislado del extracto de hojas de *Caesalpinia platyloba* posee actividad analgésica.

#### 5. Objetivo general

Evaluar la probable actividad analgésica del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) de *Caesalpinia platyloba* en un modelo térmico de dolor agudo en rata.

##### 5.1 Objetivos particulares

Aislar el 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) a partir del extracto de diclorometano de las hojas de *Caesalpinia platyloba*.

Evaluar el efecto analgésico del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) en la prueba de retirada de cola.

## 6. Metodología

### 6.1 Obtención del extracto

Las hojas del árbol identificado como *Caesalpinia platyloba* se colectaron en la localidad de Los Charcos, municipio de Buenavista Tomatlán, Michoacán con las siguientes coordenadas N 19°13'07.5'', W 102°35'23.4'' y altitud de 220 msnm. Las hojas se dejaron secar a la sombra y se pusieron a macerar a temperatura ambiente usando hexano como disolvente durante 3 días. La maceración se filtró y concentró en rotavapor.



**Figura 16.** Extracto de *Caesalpinia platyloba*.

Posteriormente, se llevó a cabo el mismo proceso con diclorometano, repitiendo el proceso en 3 ocasiones, para obtener el extracto respectivo el cual presentaba una coloración verde oscuro (Figura 16).

### 6.2 Obtención del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano

El extracto de hoja de *Caesalpinia platyloba* obtenido se sometió a cromatografía en columna de 5 cm de diámetro utilizando gel de sílice de 70-230 mallas, el extracto se disolvió en diclorometano, se impregnó con gel de sílice y se llevó a sequedad. Como fase móvil se usaron mezclas hexano:acetato de etilo, con una polaridad de 9:1, colectando fracciones de 40 mL obteniendo en las fracciones de la 6-11 el 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) producto mayoritario de esta planta, como cristales incoloros (Figura 17) con un punto de fusión de 114-116 °C.



**Figura 17.** 6 $\beta$ -acetoxivouacapano.

### 6.3 Animales

Ratas hembra de la cepa Wistar fueron empleadas con una peso promedio de 200 g provenientes del bioterio Claude Bernard de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP).

Los animales fueron alojados en el vivario del laboratorio de Neuroquímica (BUAP) en cajas de acrílico individuales (Figura 18a) con acceso a agua y alimento *ad libitum*, ciclo luz/oscuridad de 12/12 horas, temperatura de  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  y  $50 \pm 10\%$  de humedad.

Durante la estancia de las ratas en el vivario se les realizó un *Handling* de 3 minutos y fueron sometidas a 10 minutos de socialización hasta el día de la prueba (Figura 18b).



**Figura 18.** a) Vivario del laboratorio de Neuroquímica.  
b) Socialización de las ratas.

Todos los procedimientos fueron realizados bajo los criterios de la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) que establece las “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio” (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación; 2001).

### 6.4 Preparación del $6\beta$ -acetoxivouacapano

El  $6\beta$ -acetoxivouacapano(18) de *Caesalpinia platyloba* se pulverizó y fue disuelto en aceite de sésamo (Mitsuki ®) grado alimenticio como vehículo para su

administración en una proporción de 850 mg/8.5 mL, la disolución se llevó a cabo con ayuda de agitación a temperatura ambiente durante 12 h continuas (Figura 19).



**Figura 19.** Pulverización y disolución del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (18).

### 6.5 Prueba de retirada de cola.

Los grupos experimentales fueron los siguientes:

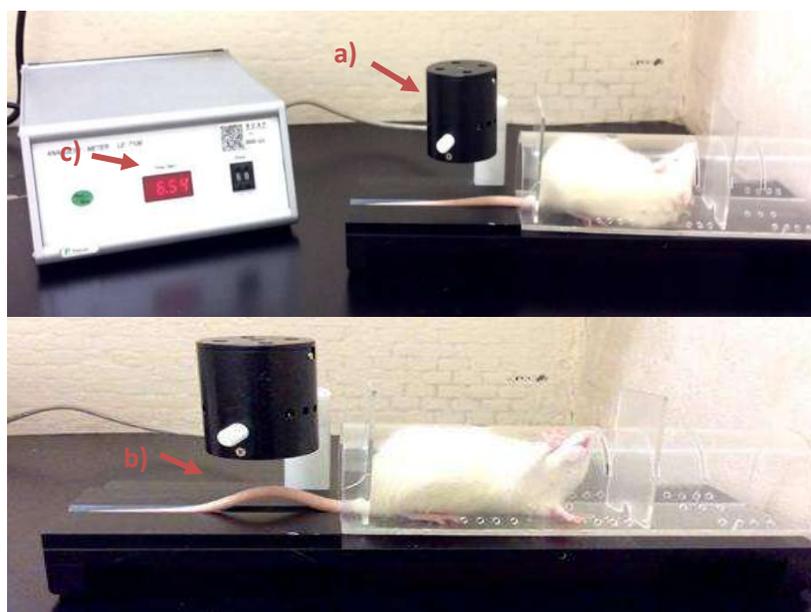
Tratamiento	n	Dosis
Solución Salina Isotónica	6	0.10 mL
Aceite de sésamo (Vehículo)	6	0.40 mL
Meloxicam	6	6 mg/Kg
6 $\beta$ -acetoxivouacapano	7	150 mg/Kg
6 $\beta$ -acetoxivouacapano	7	200 mg/Kg

n= número de sujetos de experimentación usados.

Cuatro días previos al experimento los animales fueron habituados a la caja de restricción usada durante el experimento, para disminuir el movimiento de la cola y el estrés.

La prueba se realizó en el equipo PANLAM LE 7106 que consta de una unidad de estimulación que posee una lámpara térmica y una unidad de control electrónica. Los animales fueron inmovilizados con ayuda de la caja de restricción fija y colocada en la unidad de estimulación. La lámpara térmica se ajustó a 50°C, y la radiación se aplicó a 3 cm del inicio de la cola (Figura 20a). Cuando el animal mueve la cola (Figura 20b), una celda fotoeléctrica situada en la parte inferior

suspende la emisión de la radiación, se detiene el contador de tiempo (Figura 20c) y se registra el tiempo de latencia en segundos el cual corresponde al tiempo que tarda la rata en percibir el estímulo doloroso.



**Figura 20.** Mecanismo de la prueba de retirada de cola: a) Una lámpara térmica aplica radiación a la cola del animal; b) cuando este siente dolor mueve la cola; c) el cronometro detiene el tiempo.

Antes de la administración de los diferentes tratamientos (Tabla 1) se realizaron 3 mediciones basales, dejando un tiempo de 10 minutos entre cada medición.

Las sustancias fueron administradas y durante los primeros 60 minutos después de la administración se realizaron mediciones cada 15 minutos, posteriormente se continuó con las mediciones cada hora durante 10 h de evaluación.

## 6.6 Citología vaginal

Para corroborar si el ciclo estral tiene alguna influencia en la percepción de dolor y por consiguiente en los tiempos de latencia, se realizaron frotis vaginales a

las ratas; a los 60 minutos y a las 4 horas después de la administración. El frote se realizó con ayuda de un asa bacteriológica, haciendo un raspado en el canal vaginal y se depositó en un portaobjetos con una gota de solución salina isotónica. Las muestras se fijaron con calor y se tiñeron empleando la técnica de hematoxilina-eosina (Ross-Pawlina, 2007).

### 6.7 Realización de autopsias

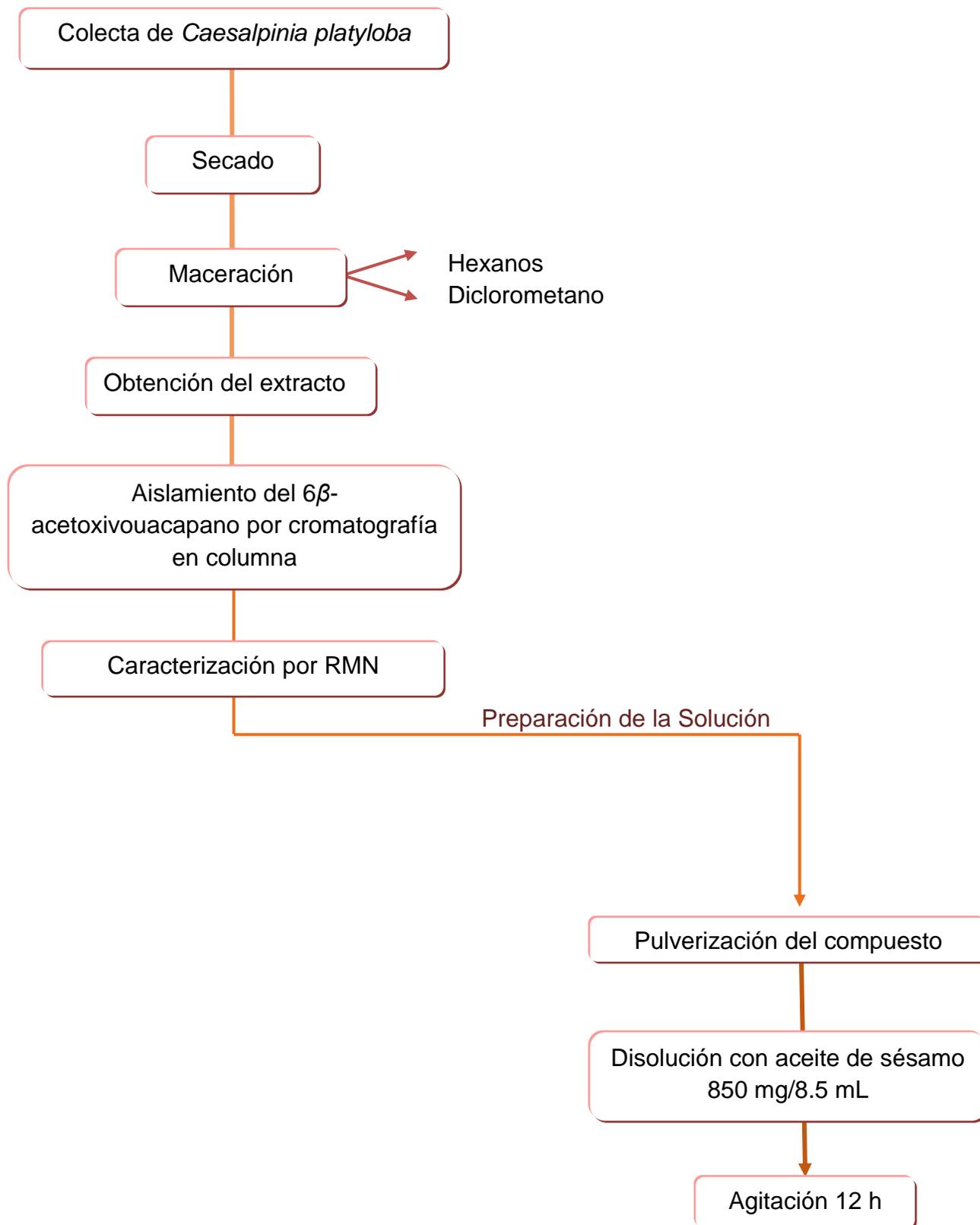
Las autopsias se realizaron en 4 animales elegidos al azar 8 días posteriores a la prueba de analgesia para determinar si la administración del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) o la del vehículo causaban algún daño. Los animales fueron sacrificados con una sobredosis (55 mg/kg) de pentobarbital sódico y posteriormente fueron examinados macroscópicamente para determinar el estado de los órganos internos.

### 6.8 Análisis estadístico de los resultados

Para el análisis estadístico de los resultados se empleó la prueba ANOVA de una vía para muestras independientes, para evaluar los tiempos de latencia en la prueba de retirada de cola. Así mismo, se empleó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey para saber entre que pares de grupos existe diferencia estadística significativa.

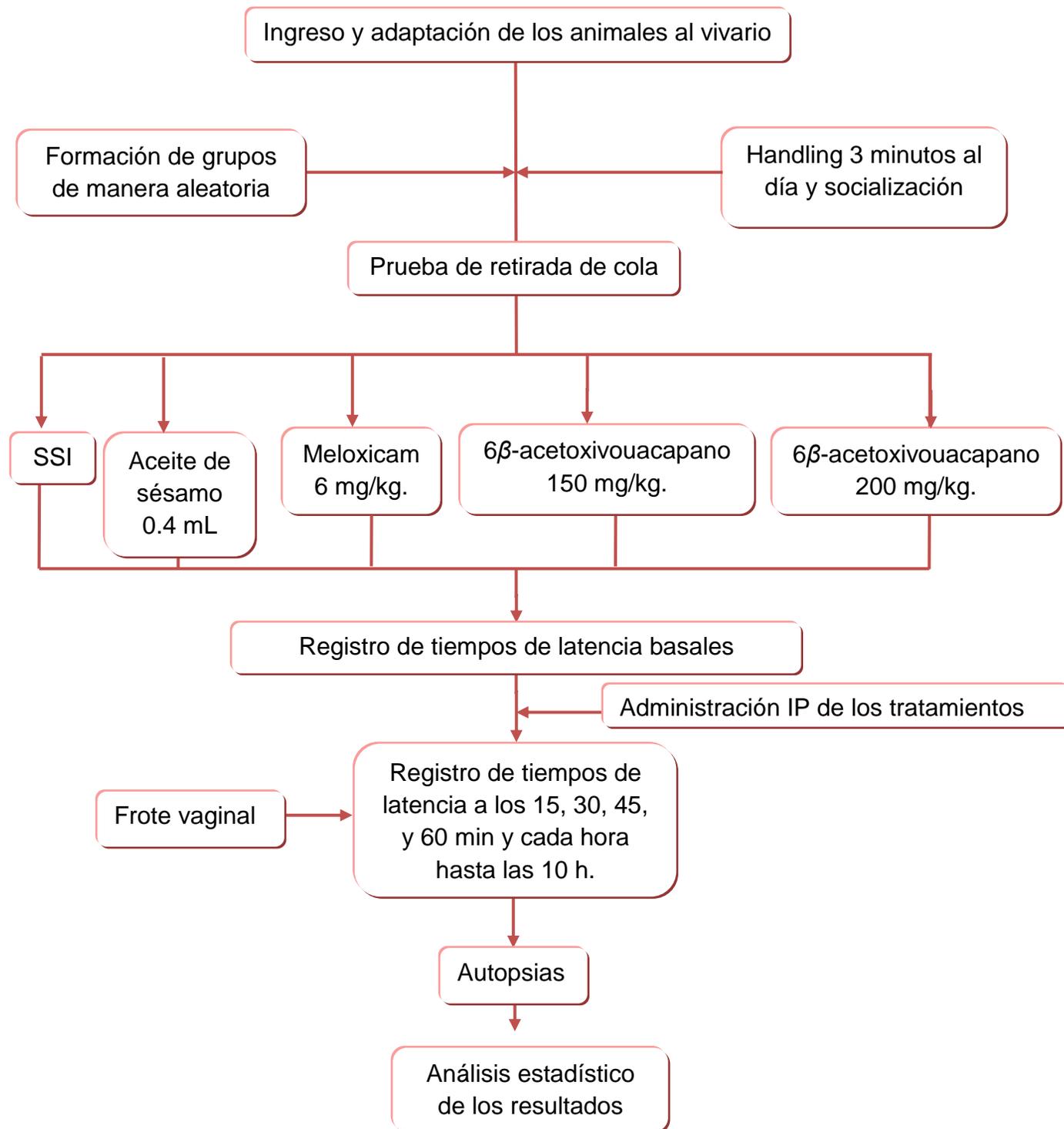
## 7. Procedimiento experimental

### 7.1 Aislamiento y tratamiento del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano



## 7.2 Pruebas biológicas

Realizadas en el laboratorio de Neuroquímica de la Facultad de Ciencias Químicas, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.



## 8. RESULTADOS

### 8.1 Identificación de los compuestos por RMN

El extracto de hoja de *Caesalpinia platyloba* en cloruro de metileno se sometió a cromatografías sucesivas con el fin de aislar el 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**), el cual fue analizado por espectroscopia de RMN.

En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (Figura 21) se observan dos señales dobles con una  $J = 1.9$  Hz en 7.23 y 6.19 ppm correspondiente a los hidrógenos aromáticos del furano H-15 y H-16. En 5.51 ppm se observa una señal simple ancha correspondiente a un hidrógeno base de éster, en 2.60 ppm se observa una señal simple que integra para 3 hidrógenos característica de grupos metilo de acetilo, en 1.20, 1.02 y 0.99 ppm se observaron tres señales simples correspondientes a los metilos terciarios CH<sub>3</sub>-20, CH<sub>3</sub>-19 y CH<sub>3</sub>-18, respectivamente. En 0.96 ppm se observa una señal doble con  $J = 7.0$  Hz correspondiente al metilos secundario CH<sub>3</sub>-17.

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 22) se observa en 170.6 ppm una señal correspondiente al carbonilo de acetato. En 149.6, 140.4, 121.8 y 109.4 ppm se encuentran las señales que corresponden a los carbonos C-12, C-16, C-13 y C-15 respectivamente del anillo del furano. Las señales de los carbonos metilénicos C-1, C-2, C-3, C-7 y C-11 se observan en 42.2, 18.7 43.9, 36.3 y 21.8 ppm, respectivamente. Mientras que las señales de los metilos terciarios C-18, C-19 y C-20 se observaron en 33.7, 23.5 y 17.2 ppm, respectivamente.

La asignación de los espectros de hidrógeno y carbono-13 fue confirmada con experimentos de dos dimensiones. Estos datos espectroscópicos coincidieron con los descritos en la literatura (Álvarez-Esquivel, 2012).

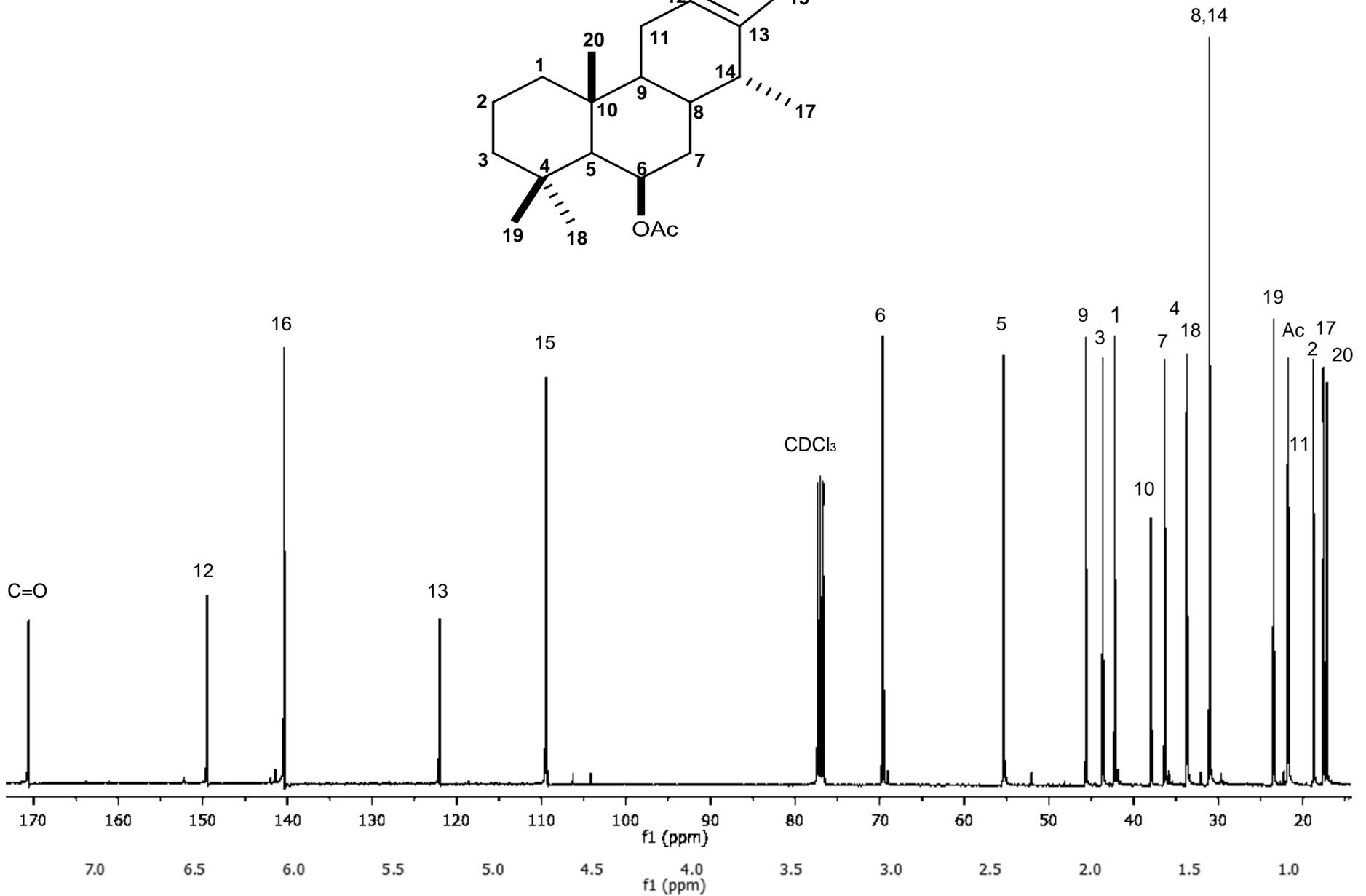
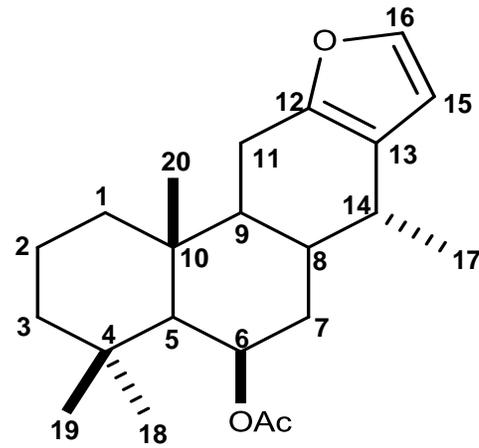


Figura 22. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 400 MHz del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) en  $\text{CDCl}_3$ .

## 8.2 Prueba de analgesia

Una vez aislado y caracterizado el  $6\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) se realizaron las pruebas de solubilidad en diferentes vehículos (DMSO, Tween 20, aceite de aguacate y aceite de sésamo), obteniéndose los mejores resultados con el aceite de sésamo (Mitsuki ®). Se disolvieron 850 mg del compuesto **18** en 8.5 mL de aceite de sésamo. Se dividieron las ratas en 5 grupos independientes quedando de la siguiente manera:

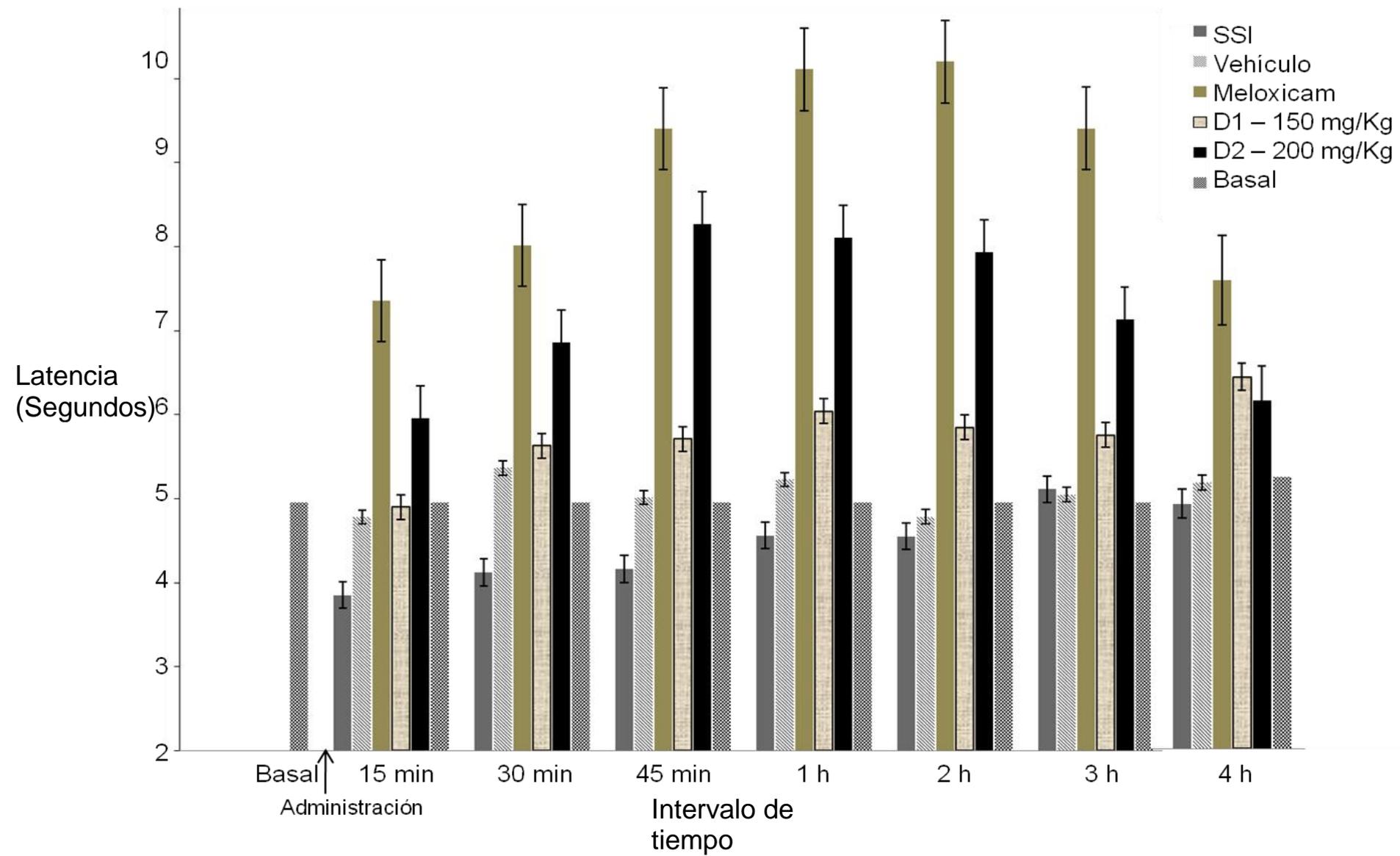
Tratamiento	n
Solución Salina Isotónica (SSI)	6
Vehículo	6
Meloxicam	6
D <sub>1</sub> -150 mg/kg	7
D <sub>2</sub> -200 mg/kg	7
TOTAL	32

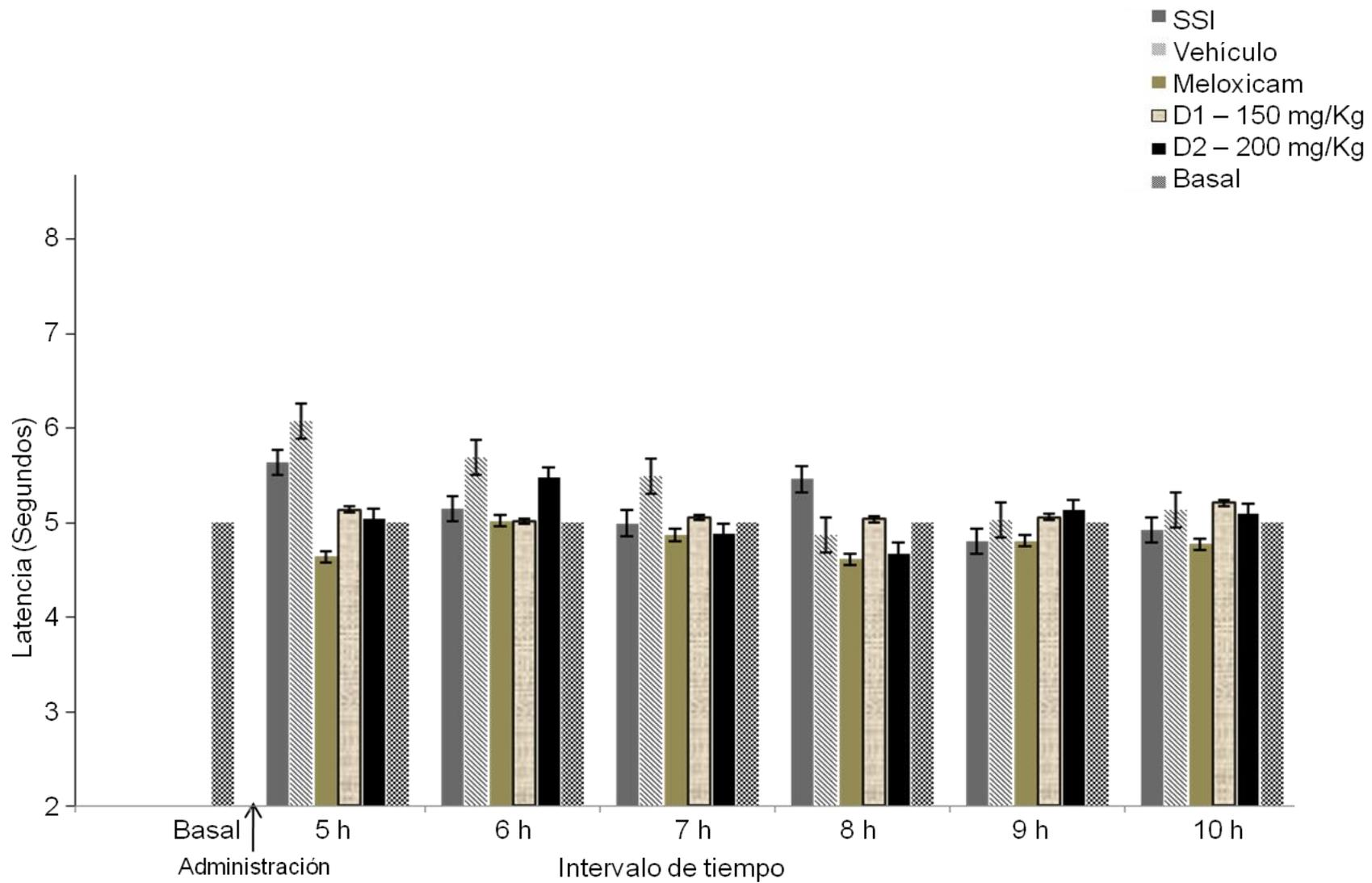
Una vez administrados los diferentes tratamientos se procedió a evaluar el efecto analgésico del  $6\beta$ -acetoxivouacapano de *Caesalpinia platyloba* en la prueba de retirada de cola. La prueba se realizó durante 10 h, tomando en la primera hora los tiempos de latencia cada 15 minutos.

El análisis de varianza reveló que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ( $F= 6.7984$ ,  $P<5.2E-10$ ). La prueba de comparaciones múltiples de Tukey reveló que no hay diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de latencia del  $6\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) 150 mg/kg\* y los grupos administrados con SSI\* y vehículo\*. Sin embargo, cuando fueron comparados con los grupos meloxicam\* y el  $6\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) a dosis de 200 mg/kg\* se observó diferencia estadísticamente significativa.

Por otra parte, la prueba estadística Tukey muestra que existe diferencia significativa entre el promedio del tiempo de latencia del grupo administrado con el  $6\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) 200 mg/kg\* comparado con el resto de los grupos.

\* Grupos en los cuales existe diferencia.



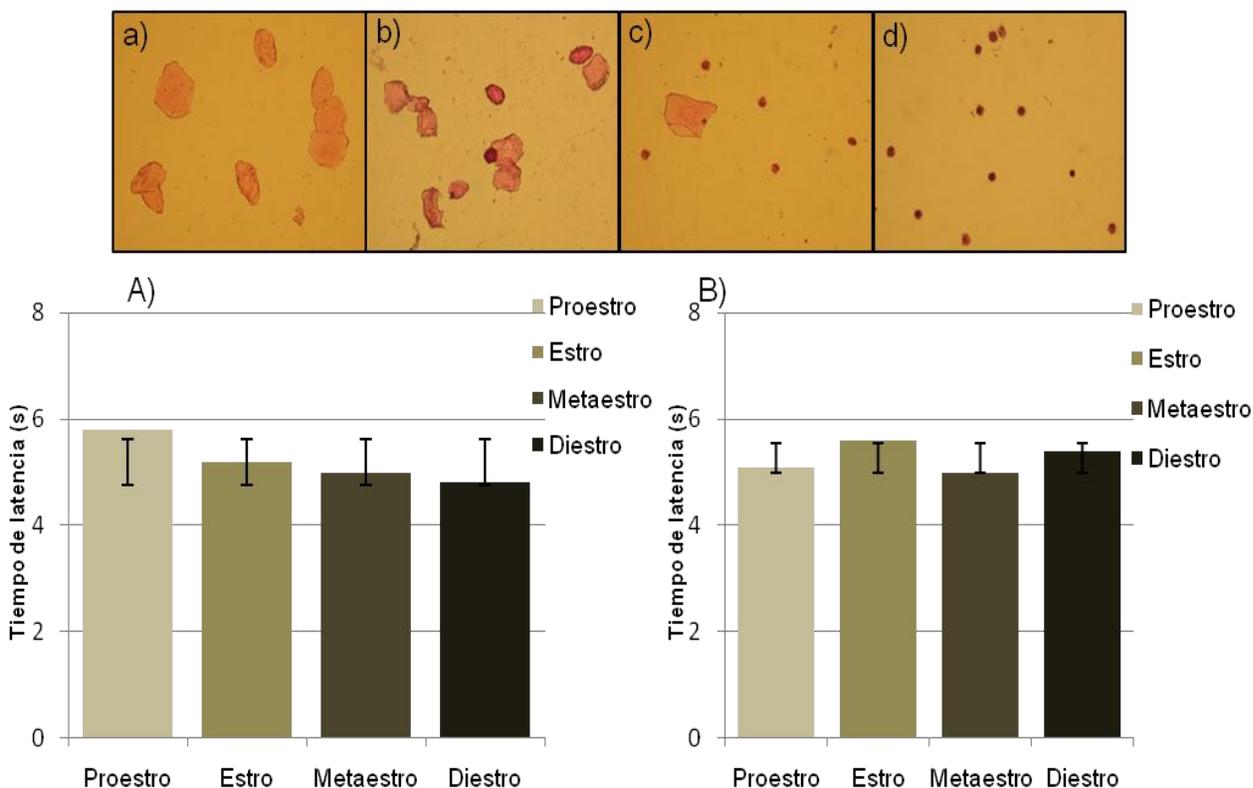


**Figura 24.** Gráfica del promedio de los tiempos de latencia de los diferentes grupos administrados durante la prueba de retirada de cola, hasta las 10 h de evaluación, donde no se observan cambios significativos.

### 8.3 Citología vaginal

Durante la prueba de retirada de cola se realizaron dos frotos vaginales a 21 ratas de las cuales 5 pertenecían al grupo vehículo, 3 al grupo SSI, 5 al grupo D2, 5 al grupo D1 y 3 al grupo Meloxicam.

Los frotos se realizaron a los 60 minutos y a las 4 horas, y fueron teñidos con hematoxilina y eosina y observados al microscopio a 40x. Se graficaron de acuerdo a la fase del ciclo estral en donde se situaban en los dos tiempos tomados durante la prueba de retirada de cola. A través de la prueba ANOVA se evidenció que no hay diferencia estadísticamente significativa entre los valores de los tiempos de latencia y la fase del ciclo estral de las ratas.



**Figura 25.** Fases del ciclo estral de la rata. a) Proestro; b) Estro; c) Metaestro; d) Diestro y gráfica del promedio y desviación estándar de los tiempos de latencia en la prueba de retirada de cola, a la hora A) y a las 4 horas B).

#### 8.4 Autopsias

Posteriormente a la realización de la prueba para evaluar la analgesia, se observaron las ratas administradas con las dos diferentes dosis y a las administradas con vehículo durante 8 días, se procedió a la realización de las autopsias. En el examen macroscópico realizado a cuatro animales elegidos al azar no se encontraron lesiones.

## 9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) es el compuesto mayoritario presente en las hojas de *Caesalpinia platyloba*; el género al que pertenece esta planta es conocido por su extenso uso en la medicina tradicional (Baldim y cols., 2012). Existen reportes donde los extractos de varias especies de este género han presentado actividad analgésica (Devi y cols., 2008, Cliomar y cols., 2013); sin embargo, estas propiedades han sido poco estudiadas.

Es por eso que en el presente estudio se evaluó el efecto analgésico de éste compuesto en la prueba de retirada de cola, donde el 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) a dosis de 150 mg/kg presentó un ligero aumento en los tiempos de latencia; sin embargo, este aumento no fue estadísticamente significativo según la prueba ANOVA de una vía.

El efecto analgésico parece ser dependiente de la dosis ya que al evaluar este mismo compuesto, pero a una dosis de 200 mg/kg se elevaron de manera significativa los tiempos de latencia 3.2 s comparado con el vehículo y 4 s comparado con SSI. Comenzando el efecto a partir de los 30 minutos y presentando los tiempos de latencia mayores a los 45 minutos. No obstante, a pesar de este aumento, los resultados no resultan comparables con los obtenidos por el grupo meloxicam 10.20 s presentando el tiempo de latencia mayor a las 2 horas posteriores a la administración.

El efecto analgésico que presentó el 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) se le podría atribuir al diterpenfurano que contiene en su estructura ya que existen reportes donde estos compuestos han presentado actividad analgésica.

El empleo de ratas hembra en experimentos de dolor es causa de controversia debido a la posible influencia de las hormonas sobre la percepción dolorosa. Sin embargo, en la citología vaginal realizada se observó que no hay diferencia significativa en los grupos a pesar de que las ratas se encontraban en diferente fase del ciclo estral. Por lo cual se descarta que exista alguna correlación entre el

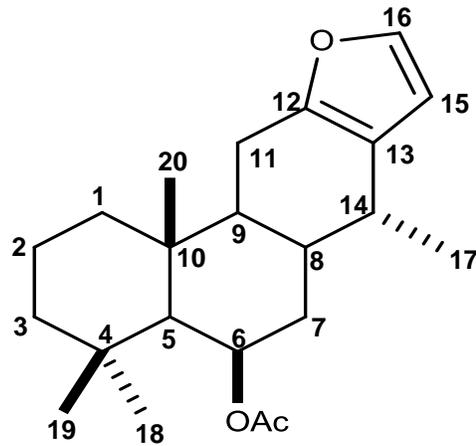
aumento o disminución de los tiempos de latencia y las fases del ciclo estral de la rata.

Los tiempos de latencia de los grupos administrados con vehículo y SSI comparados con los tiempos de latencia basales no presentaron diferencia y se mantuvieron constantes durante las 10 horas de evaluación. Debido a lo anterior se descarta que los animales pudieran presentar hiperalgesia debido a la aplicación continua del estímulo térmico; el cual puede alterar el umbral de dolor, disminuyendo así los tiempos de latencia; o bien, un fenómeno de habituación donde aumentarían los tiempos de latencia.

Los sujetos experimentales fueron observados durante 8 días después de la prueba y no mostraron signos de dolor, al realizar las autopsias en animales administrados con el compuesto y el vehículo no se encontraron lesiones evidentes en ninguno de los órganos. La administración de las dos dosis del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**), el grupo vehículo, meloxicam y SSI no fue letal para ninguno de los sujetos.

## 10. CONCLUSIÓN

Se aisló el 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**18**) compuesto mayoritario en el extracto de diclorometano de hojas de *Caesalpinia platyloba* el cual fue caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .



**18**

Se evaluó el efecto analgésico de dicho compuesto administrado de manera intraperitoneal en ratas hembra de la cepa Wistar en la prueba de retirada de cola (modelo térmico de dolor agudo) donde se comprobó que posee propiedades analgésicas a una dosis de 200 mg/kg. Mostrando un efecto rápido que comienza a los 30 minutos y presenta su tiempo de latencia mayor a los 45 minutos posteriores a la administración.

El compuesto evaluado así como el vehículo utilizado (aceite de sésamo) no provoca daños en el organismo del animal.

Por otra parte los resultados obtenidos en la citología vaginal sugieren que las fases del ciclo estral y la nocicepción del animal son fenómenos independientes.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez U.M. (1922). Farmacología de las preparaciones galénicas de origen vegetal. Real Academia Nacional de Medicina. Madrid, España.
- Arbaiza A.D. (2005). Neurofisiología del dolor. El dolor. Publicación científica de la Asociación Chilena de Estudios del Dolor. 14: 14-40.
- Baldim Z. J., de Carvalho B. A., Salles M. P., Dos-Santos M. H., Henrique G. L. J., Sartorelli P., Viegas C. y Marisi G. S. (2012). The Genus *Caesalpinia* L. (Caesalpinaceae): Phytochemical and Pharmacological Characteristics. *Molecules*.17:7887-7902.
- Bonilla P., De Lima L., Díaz P., León M. X., González M. (2009). Uso de Opioides en Tratamiento del Dolor. Asociación Latinoamericana de Cuidados Paliativos. 21-23.
- Carneiro de Araújo P. C., Adel A. H., De Paula P. I. (2011). Sexo y Percepción del Dolor y Analgesia. *Revista Brasileña de Anestesiología*. 61:449-458.
- Castroviejo S. (2007). Flora Ibérica: Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. Real Jardín Botánico CSIC, Madrid.
- Charles O., Okinda O., Lawrence A., Mangúro, Hosea A., Ismail O. (2012). Antinociceptive and antiplasmodial activities of cassano furanoditerpenes from *Caesalpinia volkensii* H. root bark. *Fitoterapia*.83:74-80.
- Cliomar A. S., Dayanne S. S., Danielle G. S., Sara M. T. (2013). Evaluation of mechanisms involved in the antinociception of the ethanol extract from the inner bark of *Caesalpinia pyramidalis* in mice. *Journal of ethnopharmacology*. 148:205-209.

- Danneman P. J. (1997). Monitoring of Analgesia. In: Kohn DF, Wixson SK, White WJ, Benson GJ (eds). *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals*. New York: Academic Press. 83-103.
- Devi R. A., Tandan S. K., Kumar D., Dudhgaonkar S. P., Lal J. (2008). Analgesic activity of *Caesalpinia bonducella* flower extract. *Pharmaceutical Biology*. 46: 668–672.
- Díaz G. N. (2011). Factibilidad Técnica y Económica Mediante Modelos de Predicción de la Plantación Extensiva de Palo Colorado (*Caesalpinia Platyloba*). Tesis presentada en el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional IPN.
- Dickson R. A., Fleischer T. C y Houghton P. J. (2011). Cassane-type diterpenoids from the genus *Caesalpinia*. *Pharmacognosy Communications*. 1:63-66.
- Encarnación D. R. (2010). Importancia y potencial de la medicina tradicional en México. *Boletín Ciencia, Tecnología e Innovación para el Desarrollo de México*. 2:44.
- Ferrandiz M. M. (2008). Fisiopatología de dolor. Unidad del Dolor. Hospital de la Santa Creu i San Pau. Barcelona. 1-14.
- Ferrer M. A. (2009). Los canales de comunicación sensorial TRPs como dianas farmacológicas. *Monografías de la real academia nacional de farmacia española*. 49-56
- Goicoechea C., Martín M.I. (2006). Mecanismos Periféricos y Centrales del Dolor. *Reumatología Clínica*. 1:5-9.

- Gómez-Hurtado M. A., Álvarez-Esquivel F. E., Rodríguez-García G., Martínez-Pacheco M. M., Espinoza-Madrigal R. M., Pamatz-Bolaños T., Salvador-Hernández J. L., García-Gutiérrez H. A., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan P., del Río R. E. (2013). Cassanediterpenes from *Caesalpinia platyloba*. *Phytochemistry*. 96:397-403.
- González-Stuart A., Rivera J. O. (2009). Comparison of herbal products use in two largest border communities between the US and Mexico. *Herbalgram* 81: 58-66.
- Griffin R. S., Woolf C. J. (2008). Pharmacology of Analgesia. En: Golan D.E., Tashjian A. H., Armstrong E. J., Armstrong A. W. *Principles of pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy*. 2a ed. Lippincott Williams & Wilkins, US.263-278.
- Koga K., Furue H., Rasid H., Takaki A., Katafuchi T., Yoshimura M. (2005). Selective activation of primary afferent fibers evaluated by sine wave electrical stimulation. *Molecular pain*, 1:13.
- Leza J.C. y Lizasoain I. (2005). Fármacos antiinflamatorios no esteroideos y otros analgésicos-antipiréticos. En: Velázquez. *Farmacología Básica y Clínica*. Lorenzo P., Moreno A., Leza J.C., Lizasoain I., y Moro M. A. Editorial Panamericana. 513-537.
- Maurya R., Ravi M., Singh S., Yadav P. P. (2012) A review on cassane and norcassane diterpenes and their pharmacological studies. *Fitoterapia*. 83: 272-280.
- Monge A. (2003). El descubrimiento de fármacos a partir de plantas medicinales. *Ciencia e Investigación*. 6(1):36-39.

- Ocegueda S., Moreno E., Koleff P. (2005). Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. CONABIO. Biodiversitas 62:12-15.
- Ortega A., Roca A., Mico J. A. (2002). Modelos Animales de Dolor. Una Visión Crítica. Revista de la Sociedad Española del Dolor. 9:447-453.
- Perena, M. J., Perena M. F., Rodrigo-Royo M. D., y Romera E. (2000). Neuroanatomía del dolor. Revista de la Sociedad Española del dolor. 5-9.
- Peter S., Tinto F. W., McLean S., Reynolds F. W. y Yu M. (1998). Cassanediterpenes from *Caesalpinia Bonducella*. Phytochemistry. 47:6.
- Ross M. H., Pawlina M. W. (2007). HISTOLOGÍA: Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular. Editorial Panamericana. 5:2-3.
- Salazar H., Jara-Oseguera, Rosenbaum T. (2009). El canal TRPV1 como diana farmacológica para tratar el dolor. Revista de neurología, 48: 357-364.
- Sandrine Maria A. L., Larissa Cardoso C. A., Marília Maria S., Ana Carina C. F., Sirlene L. M., Maria Tereza S. C., Diana Jussara N. M., Teresinha Gonçalves-Silva. (2012). Anti-inflammatory and analgesic potential of *Caesalpinia ferrea*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 22:1.
- Sarukhán J., Koleff P., Carabias J., Soberón J., Dirzo D., Llorente-Bousquets J., Halffter G., González R., March I., Alejandro A., Salvador M., Anta Javier de la Maza A. (2009). Capital Natural de México. Síntesis: Conocimiento actual, evaluación y perspectivas de sustentabilidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.
- Torregrosa Z. Samuel. (1994). Mecanismos y vías del dolor. Boletín de la Universidad Católica de Chile. 23:202-206.

- Venkatachalan K., y Montell C. (2007). TRP channels. *Annual Review of Biochemistry*. 76: 387-417.
- Villarreal M. L., Cardoso-Taketa A., Ortíz A. y Sharma A. (2014). Biotecnología para producir medicinas de plantas mexicanas. *Revista digital universitaria UNAM*. 15:8.
- Villaseñor J. L. y Espinosa-García F. J. (2004). The alien Flower in Plants of México. *Diversity and Distribution*. 10:113-123.
- Wang J., Guo Y., Cao D.Y., Luo R., Ma S.J., Wang. H., Pickar J.G. y Zhao Y. (2009). Tonic inhibition of somatostatin on C and A $\delta$  afferent fibers in rat dorsal skin in vivo. *Brain research*, 1288:50-59.
- Wu, Y. F. Wang, M. L. Zhang, C. H. Huo, M. Dong, Q.W. Shi, H. Kiyota (2011). Chemical constituents of plants from the genus *Caesalpinia*. *Chemistry and Biodiversity*. 8:1370-1399.