



INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA  
RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ

**Universidad Autónoma Metropolitana- Unidad Xochimilco  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Licenciatura Química Farmacéutica Biológica**

**Informe de Servicio Social**

**Efecto analgésico de *Tabernaemontana arborea* en el dolor  
neurogénico e inflamatorio de ratones**

como requisito para obtener el grado de Química- Farmacéutica-Biológica

**Proyecto genérico correspondiente:**

Evaluación de productos relacionados con la salud

**Lugar de realización**

Laboratorio de Neurofarmacología de Productos Naturales en el Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz"

**Fecha de inicio y terminación:**

Del 02 de octubre de 2018 al 03 de mayo de 2019

**Alumna**

Jessica Monserrat Puentes Guerrero  
Número de matrícula: 214025836

**Asesores**

Interno: Dra. Marisa Cabeza Salinas. Profesor Titular del Departamento de Sistemas Biológicos. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. No. económico: 2683

Externo: Dra. María Eva González Trujano. Investigador en Ciencias Médicas "E"  
(No. trabajador: 1033). No. de cédula profesión: 2057150

**Beca de CONACYT No. 28957**

**Mayo-2019**

## Índice

|  |    |
|--|----|
| 1. Introducción.....   | 4  |
| 1.1. Definición de dolor.....  | 4  |
| 1.2. Epidemiología.....  | 4  |
| 1.3. Clasificación del dolor.....  | 4  |
| 1.3.1. Etiología o fisiopatología.....   | 5  |
| 1.3.2. Intensidad del dolor.....   | 5  |
| 1.3.3. Duración.....   | 6  |
| 1.3.4. Localización.....   | 6  |
| 1.4. Inflamación.....  | 6  |
| 1.5. Nocicepción.....  | 6  |
| 1.6. Proceso nociceptivo.....  | 7  |
| 1.6.1. Transducción.....   | 8  |
| 1.6.2. Transmisión.....  | 9  |
| 1.6.3. Modulación.....   | 9  |
| 1.6.4. Percepción.....   | 9  |
| 1.7. Nociceptores.....   | 9  |
| 1.8. Terapéutica del dolor.....  | 11 |
| 1.8.1. Clasificación de los analgésicos.....                                     | 11 |
| 1.9. Medicina tradicional.....   | 14 |
| 1.9.1. Herbolaria.....   | 14 |
| 1.9.2. Género <i>Tabernaemontana</i> .....                                       | 15 |
| 1.9.2.1. Especie <i>Tabernaemontana arborea</i> de J. N. Rossex<br>Donn. Sm..... | 17 |
| 1.10. Modelos animales de nocicepción.....                                       | 19 |
| 1.10.1. Prueba de formalina.....   | 19 |
| 1.11. Daño gástrico.....   | 21 |
| 2. Planteamiento del problema.....   | 22 |
| 3. Hipótesis.....  | 23 |
| 4. Objetivos.....  | 23 |
| 4.1. General.....  | 23 |
| 4.2. Específicos.....  | 23 |
| 5. Materiales y método.....  | 24 |
| 5.1. Reactivos químicos y fármacos.....  | 24 |
| 5.2. Animales.....   | 24 |
| 5.3. Diseño experimental.....  | 24 |
| 5.4. Análisis estadístico.....   | 28 |
| 6. Resultados.....   | 28 |
| 6.1. Modelo de campo abierto.....  | 28 |
| 6.2. Determinación del efecto antinociceptivo de <i>T. arborea</i> .....         | 29 |
| 6.2.1. Conducta de sacudida y lamida.....  | 29 |
| 6.2.2. Conducta de tiempo invertido en lamer.....                                | 31 |
| 6.3. Mecanismo de acción de <i>T. arborea</i> .....                              | 32 |
| 6.3.1. Conductas de sacudidas.....   | 33 |

|  |    |
|--|----|
| 6.3.2. Comportamiento de lamida.....   | 34 |
| 6.3.3. Tiempo invertido en el comportamiento de lamer.....                   | 34 |
| 6.4. Efecto antinociceptivo del metabolito activo de <i>T. arborea</i> ..... | 36 |
| 6.4.1. Comportamiento de sacudidas.....                                      | 37 |
| 6.4.2. Comportamiento de lamer y tiempo invertido en lamer.....              | 38 |
| 6.5. Formación de edema.....   | 39 |
| 6.6. Daño gástrico.....  | 40 |
| 7. Discusión.....  | 41 |
| 8. Conclusión.....   | 43 |
| 9. Recomendaciones.....  | 43 |
| 10. Bibliografía.....  | 44 |
| 11. Agradecimientos y dedicatorias.....                                      | 49 |

## **1. Introducción**

### **1.1 Definición de dolor**

La definición de dolor más ampliamente aceptada es la provista por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés), la cual, aunque se reconoce como correcta y apropiada, contempla solamente sus aspectos sintomatológicos al describirse como: “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con una lesión presente o potencial o descrita en términos de esta” (Ibarra, 2006). En la última Edición (2a) del Diccionario de la Lengua Española de la Real Academia Española, el dolor se define basado en su etimología latina (dolor-oris) como: “aquella sensación molesta y aflictiva de una parte del cuerpo por causa interior o exterior” (Romera, 2000). El dolor puede ser considerado una sensación o una emoción, el primero, reduciéndolo a mecanismos fisiológicos y el otro asignándolo al campo de la filosofía o la psicología (Kotsias, 2002).

### **1.2 Epidemiología**

El dolor es un problema de salud que afecta del 25 al 29% de la población general a nivel internacional (Covarrubias 2010). La prevalencia del dolor crónico se asocia con enfermedades degenerativas y con la edad avanzada; varía desde un 16% hasta un 70% y es más frecuente en mujeres (55%) que en hombres (27%). (Covarrubias, 2010).

México cuenta con 105 millones de habitantes, de los cuales 28 millones de habitantes padecen algún tipo de dolor (Covarrubias, 2010). En Europa se estima que 1 de cada 5 de la población adulta sufre dolor crónico (Bautista, 2014). Se ha identificado que en las mujeres se presentan con mayor frecuencia los síndromes dolorosos de artritis, fibromialgia, cefaleas, cervicalgia y dorsalgias (Covarrubias, 2010) y se estima que el 61.7% (Batlouni, 2010) de las personas que los padecen toman algún analgésico, de los que al menos el 29% es de auto prescripción (Blyth, 2001).

### **1.3 Clasificación del dolor**

La necesidad de darle una clasificación al dolor no ha sido tarea fácil. No obstante, basados en criterios como etiología, intensidad, duración, localización y su farmacología para el tratamiento se han propuesto los siguientes (Mullady *et al.*, 2011; Woolf, 2004):

### 1.3.1 Etiología o fisiopatología

- **Nociceptivo:** también denominado dolor normal, fisiológico o sensorial que es más frecuente. Se presenta en todos los individuos como consecuencia de la aplicación de estímulos a los nociceptores periféricos o profundos (daño somático o visceral). Forma parte del repertorio fisiológico de sensaciones normales, como la visión o el tacto. No existe lesión asociada del sistema nervioso, sino que éste se comporta como transductor de los estímulos desde los receptores periférico al cerebro (áreas corticales y subcorticales). Pasa por la médula espinal donde es modulado por vías descendentes inhibitorias. Este dolor genera un beneficio para el organismo ya que invoca acciones de protección y defensa para evitar mayor daño y para ayudar en la reparación tisular y regeneración. Algunos ejemplos son: lumbalgia, gota, artritis reumática, cistitis, dismenorrea (Barrett, 2010; Cerveró, 2002; García recuperado 2019 & Segovia, recuperado 2019).
- **Inflamatorio:** dolor espontáneo e hipersensitivo en respuesta al daño tisular y edema y a la presencia de mediadores inflamatorios del sistema inmune. Es secundario a una lesión causada por un estímulo nocivo y cuando éste es de suficiente duración o intensidad para dañar los tejidos. Este dolor no cesará al retirar el estímulo (Puebla, 2005 & Woolf, 2004).
- **Neuropático o disfuncional:** también llamado anormal o patológico, aparece en una minoría de los individuos y es el resultado de una lesión o enfermedad del Sistema Nervioso Central (SNC) o Periférico (SNP) (Ferrandiz, recuperado 2019; Puebla, 2005).
- **Psicógeno:** éste no se debe a una estimulación nociceptiva ni a una alteración neuronal, sino que tiene una causa psíquica (depresión, hipocondría) o bien intensifica el dolor orgánico por factores psicológicos (del Arco, 2015).

### 1.3.2 Intensidad del dolor

- **Leve:** puede realizar actividades habituales.
- **Moderado:** interfiere con las actividades habituales. Precisa tratamiento con opioides menores.
- **Severo:** interfiere con el descanso. Precisa opioides mayores (Puebla, 2005).

### 1.3.3 Duración

- Agudo o fisiológico: considerado “dolor bueno”, ya que obedece a un mecanismo protector. Es de inicio súbito y desaparece durante el proceso de curación (Barrett, 2010).
- Crónico o patológico: considerado “dolor malo”, ya que persiste mucho tiempo después de la recuperación de la lesión (3 o 6 meses) (Barrett, 2010 & Covarrubias, 2010).

### 1.3.4 Localización

- Somático: se produce por la excitación anormal de nociceptores somáticos superficiales o profundos (piel, músculo, vasos, etc.). Es un dolor localizado, punzante y que se irradia siguiendo trayectos nerviosos. El tratamiento debe incluir un antiinflamatorio no esteroide (AINE) (Barrett, 2010 & Ferrandiz, recuperado 2019).
- Visceral: se produce por la excitación anormal de nociceptores viscerales. Es poco localizado, continuo y profundo (Barrett, 2010), puede irradiarse a zonas alejadas al lugar donde se originó. Este dolor responde bien al tratamiento con opioides (Puebla, 2005).

## 1.4 Inflamación

La inflamación es una reacción protectora o proceso defensivo natural del sistema inmunológico del organismo con el fin de aislar, contener la lesión causado a sus células y tejidos vascularizados, destruir al agente agresor (microorganismos, traumatismos, necrosis, agentes químicos o físicos, o reacciones inmunitarias entre otros) y posteriormente preparar al tejido dañado para su reparación (Villalba, 2014).

Etiológicamente la palabra inflamación proviene del latín *inflammatio*, que quiere decir incendio o encender fuego; sus signos clínicos son el rubor, calor, tumor y dolor. De no ser por este proceso las infecciones no podrían curarse, la reparación de heridas sería imposible y los órganos perderían su funcionalidad (Arthritis Foundation, recuperado 2019; García, 2008; Garrote, 2003; Ríos, 1996 & Villalba 2014).

## 1.5 Nocicepción

El humano puede expresar su dolor implicando diferentes aspectos (físicos y psicológicos/emocionales). Mientras que los animales, no es posible valorar el aspecto emocional, pero si la conducta estereotipada que refleja el desagrado que un estímulo nocivo le puede producir. Es entonces que al proceso por el cual expresamos dolor se le llama nocicepción (Kavaliers, 1988). La nocicepción es un

término neurofisiológico que se refiere a los mecanismos neurales por los cuales se detectan los estímulos nocivos (Millan, 1999). Por lo tanto, la función del sistema nociceptivo es detectar, localizar e identificar los procesos que lesionan los tejidos para llevar a cabo estas funciones (Rang *et al.*, 1994 & Woolf, 2004).

## 1.6 Proceso nociceptivo

Las sensaciones de dolor y temperatura se originan en dendritas no mielinizadas o neuronas sensitivas situadas alrededor de los folículos pilosos en toda la piel lampiña o con pelo, así como en tejidos profundos. Pero los mensajes nociceptivos son transmitidos, modulados, e integrados en diferentes niveles del sistema nervioso; van desde la periferia por vía medular a centros superiores (tálamo, córtex) (Kotsais, 2002; Romera *et al.*, 2000 & Muriel, recuperado 2019) (Tabla I).

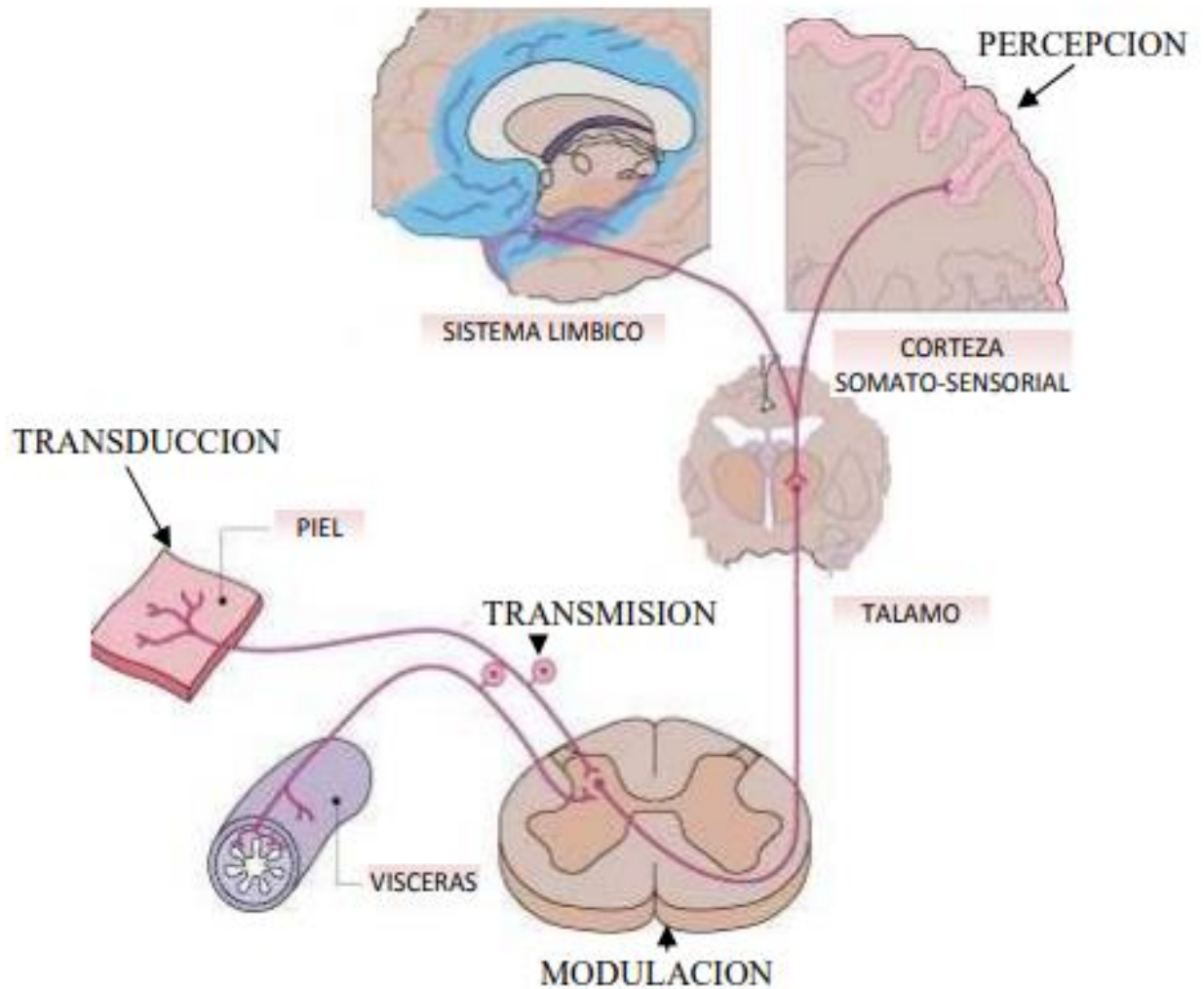
**Tabla 1. Proceso neurofisiológico del dolor. Tomado de Romera *et al.*, 2000.**

---

### **Etapas del proceso doloroso**

1. Activación y sensibilización de los nociceptores periféricos
  2. Transmisión de los estímulos nociceptivos a través de las aferencias primarias
  3. Modulación e integración de la respuesta nociceptiva a nivel del asa dorsal medular
  4. Transmisión por las vías ascendentes (espino-encefálicas)
  5. Integración de la respuesta en los centros superiores (estructuras encefálicas)
  6. Control descendente por las vías encéfalo-espinales
- 

Desde el punto de vista neurofisiológico, la percepción del dolor precisa de la participación del SNC y del SNP. El dolor desencadena una serie de reacciones en ambos sistemas que permite la percepción de éste, ello con la finalidad de disminuir la causa y limitar las consecuencias (Fig. 1).



**Figura 1.** Proceso de nocicepción. Transducción, Transmisión, Modulación y Percepción. Tomado de Merchán, 2010.

### 1.6.1 Transducción

Es un proceso por el cual el estímulo nocivo periférico se transforma en un estímulo eléctrico. Se lleva a cabo en los receptores sensoriales, llamados nociceptores. Existen dos procesos de transducción: la activación y la modificación de la sensibilidad del receptor, ambos se producen como consecuencia de cambios en la membrana neuronal en la conductancia al sodio, potasio y calcio (directamente sobre el canal iónico).

- Activación: Desencadena la estimulación de receptor y la generación de un potencial de acción
- Modificación: Puede ser en dos sentidos



- Disminuyendo el umbral de excitación y aumentando el número de receptores. Proceso conocido como “regulación hacia arriba o supra-regulador”
- Aumentando el umbral de excitación y disminuyendo el número de receptores. Este proceso es denominado “regulación hacia abajo o infra-regulación”.

### **1.6.2 Transmisión**

Las fibras aferentes primarias que contienen los nociceptores periféricos ingresan a la médula espinal por el surco posterolateral y a nivel del tracto de Lissauer se ramifican hacia arriba y abajo y, tras recorrer algunos milímetros, se introducen en las láminas del asta posterior de la médula espinal terminando en la sustancia gris del asta posterior. En resumen, es la propagación del impulso nervioso hasta los nervios sensoriales del SNC.

### **1.6.3 Modulación**

Capacidad que tienen los sistemas analgésicos endógenos que modifican la transmisión del impulso nervioso, fundamentalmente inhibiendo en las astas posteriores de la médula. Esto quiere decir que la analgesia no solo es la interrupción de la transmisión nociceptiva, esta función coordina y altamente compleja que regula, control y limita la transmisión nociceptiva para prevenir el caos y la inestabilidad que puede producirse si solo existiera mecanismos excitatorios.

### **1.6.4 Percepción**

Proceso final en el que los tres primeros interactúan con una serie de otros fenómenos individuales, creando la experiencia subjetiva y emocional denominada dolor. Dolor no es igual que nocicepción, nocicepción es la respuesta a la estimulación de los nociceptores, si bien la nocicepción puede darnos una experiencia dolorosa, la nocicepción también puede ocurrir en ausencia de dolor y el dolor puede estar presente en ausencia de nocicepción, por ejemplo: el dolor neuropático y psicógeno pertenecen al dolor no nociceptivo mientras que el dolor inflamatorio pertenece al dolor nociceptivo.

## **1.7 Nociceptores**

Los receptores sensoriales especializados en la detección de estímulos se llaman nociceptores. Estas son terminaciones periféricas de las fibras aferentes sensoriales primarias. Su principal función es diferenciar los estímulos inocuos de los lesivos. Tiene tres propiedades básicas:

- Alto umbral para la estimulación cutánea
- Capacidad de codificar la intensidad de los estímulos en el rango lesivo
- Falta de actividad espontánea en ausencia de estimulación nociva previa

Sus cuerpos celulares de origen se localizan en los ganglios de la raíz dorsal (GRD) o en los ganglios sensoriales de los pares craneanos correspondientes, y se conocen neuronas de primer orden o aferentes primarios, de la vía nociceptiva. Estos reciben y transforman los estímulos locales en potenciales de acción que son transmitidos a través de las fibras aferentes sensoriales primarias hacia el SNC (Moreno, 2004; Muriel, recuperado 2019 & Romera *et al.*, 2000).

Morfológicamente son terminaciones nerviosas libres de fibras A $\delta$  (mielínicas) y C (amielínicas) que funcionan como transductores biológicos. Estos no suelen adaptarse al estímulo; por el contrario, tienden a sensibilizarse, es decir, disminuye el umbral a medida que el estímulo lesivo persiste (Moreno, 2004; Muriel, recuperado 2019 & Romera *et al.*, 2000).

Los nociceptores se clasifican en tres grupos:

1. Nociceptores cutáneos: presentan un alto umbral de estimulación y sólo se activan ante estímulos intensos y no tienen actividad en ausencia de estímulo nocivo. Existen de 2 tipos (Tabla 2):

**Tabla 2. Características de las fibras nerviosas**

| <b>Fibras nociceptivas</b>                 | <b>Tipo</b> | <b>Estímulos</b>   | <b>Velocidad</b> | <b>Diámetro</b> | <b>Otros</b>   |
|--|-------------|--|------------------|-----------------|--|
| Fibras A- $\delta$<br>(Dermis y epidermis) | Mielínicas  | Mecano, termo y nociceptoras   | 4-30 m/seg       | 2-5 $\mu$ m     | Conduce señales del dolor de corta latencia que precisa respuestas rápidas |
| Fibras C<br>(Dermis)                       | Amielínicas | Mecano, termo (41° C a 49°C) y nociceptoras. Simpáticas postganglionares | 0.4-2 m/seg      | 0.3-2 $\mu$ m   |  |

Tomado de Romera, 2000.

2. Nociceptores músculo-articulares: En el músculo.

- Nociceptores A- $\delta$ : responden a contracciones mantenidas del músculo.
- Nociceptores C: responden a la presión, calor, e isquemia muscular.

En las articulaciones, también existen estos dos tipos de nociceptores y se sitúan en la cápsula articular, ligamentos, periostio y grasa, pero no en el cartílago.

3. Nociceptores viscerales: La mayor parte son fibras amielínicas. Existen de dos tipos:

- Alto umbral: sólo responden a estímulos nocivos intensos.
- Inespecíficos: pueden responder a estímulos inocuos o nocivos (Ferrandiz, recuperado 2019; Moreno, 2004; Muriel, recuperado 2019 & Romera et al., 2000).

## 1.8 Terapéutica del dolor

Hace ya más de veinte años que la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomendó una estrategia de tres escalones para el tratamiento del dolor, a los que sucesivamente se asciende al no obtener el objetivo de alivio en el anterior. Esta escala se clasifica de la siguiente manera: primer escalón (caso de dolor leve a moderado) analgésicos no opioides con o sin adyuvantes, segundo escalón opioides menores con o sin adyuvantes, y finalmente tercer escalón opioides mayores con o sin adyuvantes (Pedrajas, 2008).

### 1.8.1 Clasificación de los analgésicos

- Analgésicos (Blatouni, 2009; Pedrajas, 2008; Garrote, 2003)
  - Antiinflamatorios no esteroideos: se encuentran entre los medicamentos más prescritos en todo el mundo. Poseen tres actividades farmacológicas (analgésica, antipirética y antiinflamatoria). La mayoría tienen un mecanismo de acción en común, donde actúan inhibiendo de manera específica la enzima ciclooxigenasa (COX). Estos a su vez pueden clasificarse de acuerdo a su duración de acción, estructura química.

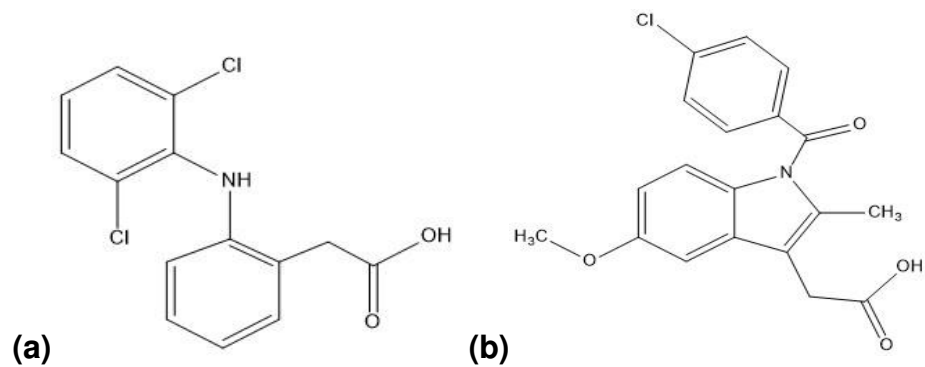
Entre los principales efectos secundarios se enlistan los problemas gastroduodenales, gastritis, aparición de edema (Ibáñez, recuperado 2019; Flores 2004). Dentro de este grupo de encuentra el ibuprofeno, ketorolaco, naproxeno, diclofenaco, indometacina (Muriel, recuperado 2019).

- El diclofenaco (Fig. 2): es un antiinflamatorio no esteroideo con acción analgésica y antipirética. Éste se indica como coadyuvante durante los procesos dolorosos e inflamatorios. Provoca la inhibición de la actividad de la COX con reducción de la producción de prostaglandinas.

Se absorbe completa y rápidamente, pasando a la circulación el 60% del fármaco de manera inalterada. La vida media de este antiinflamatorio es de 1-2 horas en el plasma

sanguíneo. Con el uso de este fármaco se han observado algunos efectos adversos que pueden presentarse en pacientes como: dolor epigástrico, náuseas, diarrea, cefalea, mareos (PLM, 2016).

- La indometacina (Fig. 2): es un analgésico y antirreumático indicado en el tratamiento de la osteoartritis moderada a severa, dolor agudo de hombro, manejo de la inflamación y dolor e hinchazón. Puede provocar efectos secundarios como: cefalea, mareos, vómitos, diarrea, estreñimiento e irritación del recto, sensación o necesidad constante de vaciar los intestinos, pitido en los oídos, ampollas, sarpullido, urticarias, fiebre, cansancio excesivo, sangrado o moretones inusuales (Medline Plus, 2019).



**Figura 2:** Estructura química de (a) diclofenaco y (b) indometacina.

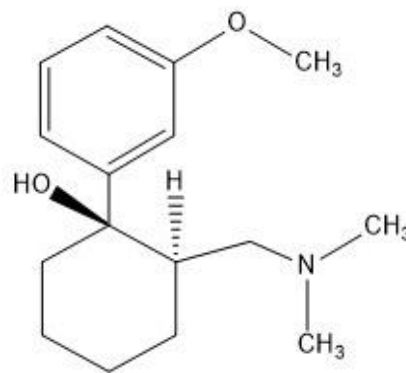
- Los opiáceos aparecieron con el descubrimiento de la morfina, la codeína, la tebaína y la papaverina, entre otros derivados de la goma de opio de la amapola (*Papaver somniferum* o adormidera), para aliviar el dolor. Éstos son de los principales fármacos utilizados para el tratamiento del dolor, ya sea moderado o severo (Gutsein, 2007).

El efecto analgésico de los opiáceos se produce a través de su acción sobre el sistema nervioso central (cerebro, tronco cerebral y áreas medulares), vías sensitivas periféricas y otros territorios (plexo mientérico y médula adrenal), donde encontramos los receptores diana (Flores, 2004; Valdivielso, 1998). También pueden clasificarse como agonistas puros, agonistas parciales,

agonistas mixtos y agonistas puros (Flores, 2004; Valdivielso, 1998).

Los analgésicos menores más representativos que se indican en los casos de dolor leve-moderado son la codeína y el tramadol.

- El tramadol (Fig. 3): es un analgésico opioide sintético análogo de la codeína que produce analgesia mediante un mecanismo doble, por un lado, se une a receptores  $\mu$ , y por otra actúa inhibiendo la recaptura de la noradrenalina y serotonina a nivel presináptico debido a la activación de receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos (Villarejo, 2000). Presenta menos farmacodependencia y menor potencial de abuso que el resto de opiáceos mayores, sin embargo, puede causar náuseas, vómitos y constipación (Villarejo, 2000).



**Figura 3.** Estructura química de tramadol

Los analgésicos mayores son de elección para los pacientes con dolor leve-moderado que no se pueden controlar con fármacos del segundo nivel. También se utilizan en pacientes con dolor grave en cualquier momento. La morfina es su principal representante (Ibáñez, recuperado 2019). Presentan efectos secundarios como prurito acompañado a veces de vasodilatación cutánea, sudoración y disestesias (Gómez, 2008).

- Los analgésicos coadyuvantes son sustancias que ayudan a disminuir el dolor; estos compuestos son de baja potencia analgésica pero combinados con opioides y/o AINEs, potencian la acción analgésica de estos últimos por lo que incrementan la

analgésia (Chaparro, 2010; Gómez, 2008). Suelen clasificarse en antidepresivos, antiepilépticos, neurolépticos, ansiolíticos, corticoides, anestésicos (Gómez, 2008; Torre, 2007; Sáez, 2016; Chaparro, 2010; Flores, 2004).

Alrededor del mundo existe un gran número de recursos farmacológicos y no farmacológicos para el tratamiento del dolor (Pedrajas, 2008). Sin embargo, el recurso químico es uno de los más investigados. Uno de los orígenes de fármacos analgésicos más antiguo e importante han sido las plantas medicinales.

La medicina alternativa se considera al conjunto de disciplinas terapéuticas y diagnósticas que existen fuera de las instituciones del sistema de salud convencional (Peña, 2007). Según la OMS, el vocablo “medicina alternativa” debe referirse tanto a los sistemas de medicina tradicional, por ejemplo, la medicina tradicional china, el ayurveda hindú, y la medicina unani árabe, así como a las diversas formas de medicina indígena no sistémicas.

Se ha calculado que el número de visitas a establecimientos de medicina alternativa, en los Estados Unidos, asciende a 425 millones, cifra que supera al número de visitas a los consultorios médicos convencionales (388 millones) (Peña, 2007). El uso de la medicina alternativa hoy en día está muy extendido y entre los métodos más utilizados se enlistan: el 64%, la quiropraxia; el 36%, el masaje; el 32%, hierbas medicinales, y el 16%, acupuntura (Arranz, 1999).

## **1.9 Medicina tradicional**

De acuerdo con la OMS se estima que alrededor de 80% de la población en países en vías de desarrollo utiliza la medicina tradicional como primer nivel de atención en salud. En México, el uso de plantas medicinales representa una práctica médica alternativa en comunidades indígenas o con bajos recursos económicos arraigada por razones culturales y por aspectos socioeconómicos. En nuestro país, el número de pacientes que recurre a la medicina alternativa es de entre el 15 y 20% del total de la población (Martínez, 2015). Gracias al conocimiento de remedios caseros que se ha adquirido con el paso de los años, los países en vías de desarrollo y aun los desarrollados han manifestado su preferencia por el uso de productos obtenidos de fuentes naturales, contribuyendo así a la conservación de la biodiversidad global e impulsado el avance científico en esta área (Núñez, 2014).

### **1.9.1 Herbolaria**

La herbolaria es la aplicación de la botánica a la medicina; es decir, al uso de hierbas contra las enfermedades que aquejan al hombre y a otras especies, para restablecer la salud. La estandarización por peso de las plantas en cuanto a los

contenidos de principios activos, las cantidades que muestren los efectos benéficos sobre sus efectos adversos y sobre todo la demostración experimental mediante ensayos clínicos controlados, no solo contra placebo sino contra los fármacos de referencia obligada (Mendoza, 2005)

Por lo tanto, la herbolaria es considerada una de las alternativas terapéuticas más usadas. Es por ello importante que se reactive la investigación científica para evidenciar los efectos analgésicos y antiinflamatorios de las plantas medicinales, así como sus posibles efectos no deseados, con el objetivo de garantizar la seguridad de su uso por parte de la población que recurre a las plantas medicinales (Martínez, 2015).

### **1.9.2 Género *Tabernaemontana***

*Tabernaemontana* es un género con aproximadamente 117 especies de plantas con flores que se distribuyen en los trópicos de África, Asia, Islas del Pacífico y América (desde México hasta Argentina y las Antillas) (Faruq, 2018; González, 2015). Estas plantas pertenecen a la familia de Apocynaceae (las especies pertenecientes a esta familia son ricas en alcaloides) y en México se conocen 12 especies (González, 2015).

Estos son arbustos o árboles, con látex blanco; tallos subcilíndricos, glabros a puberulentos, con coléteres interpeciolares diminutos e inconspicuos, hojas opuestas, pecioladas, sin coléteres en la lámina, láminas glabras o pubescentes, membranáceas o coriáceas. Inflorescencia cimosa, axilar o terminal; brácteas florales foliáceas; cáliz con sépalos iguales o desiguales, foliáceos, glabros o puberulentos, con numerosos coléteres dispuestos en la base de la cara adaxial, a veces rodeado por bractéolas dispuestas en forma irregular o sobre el pedicelo; corola hipocrateriforme o infundibuliforme, amarilla, amarillo-verdosa o blanca, sin corona anular, sin lóbulos coronales libres, prefloración sinistrocontorta, tubo floral con o sin 5 crestas supra e infraestaminales, recto o a veces con torsiones en espiral donde se encuentran los estambres; estambres incluidos, anteras no conniventes ni aglutinadas a la cabeza estigmática, sin apéndices supra e infraestaminales; cabeza estigmática subglobosa con un collar basal o fusiforme, no lobulada en la base; gineceo apocárpico, bicarpelar, ovario súpero, con un nectario concrecente o ausente. Frutos en folículos, apocárpicos, elipsoidales o reniformes, carnosos; semillas desnudas, no comosas, rodeadas por un arilo rojo o anaranjado. (González, 2015).

Los usos de especies de *Tabernaemontana* en la medicina tradicional son como emenagogo, afrodisíaco, tónico, purgante, tónico para el cerebro, el hígado y bazo. Se utiliza en el tratamiento de la parálisis, la debilidad de las extremidades cura la picadura de escorpión. Se ha descrito que el aceite es beneficioso para la epilepsia (Faruq, 2018).

Una de las especies de *Tabernaemontana* es la *T. divaricata* (TD) es una de las más estudiadas por sus propiedades para rejuvenecer y como remedio neurotónico, entre otros (Tabla 3). Además, existen reportes donde se menciona que los

extractos etanólicos presentan actividades farmacológicas sobre el SNC al interactuar con los blancos moleculares del organismo como depresor, antinociceptivo, relajante del músculo-esquelético y actividad hipotensiva (Chanchal, 2015).

Estudios de fitoquímica han reportado que varias partes de las plantas, como hojas, tallos y raíces, contienen metabolitos secundarios como alcaloides, terpenoides, esteroides, flavonoides, fenilpropanoides, fenólicos, ácidos y enzimas. En un estudio de raíces y tallos de *T. divaricata* se aislaron seis compuestos: bis (2, 3-dihidroxipropil) octacosanodioato, tetratriacontanol, ácido palmítico, monopalmitato de glicerol,  $\beta$ -sitosterol y  $\beta$ -daucosterol y se han aislado al menos 66 alcaloides de *T. divaricata* (Chanchal, 2015). La actividad biológica de estos compuestos se indica en la Tabla 3.

**Tabla 3. Efectos de *T. divaricata* de acuerdo con las partes de la planta**

| Parte del árbol | Efecto  |
|-----------------|---|
| Corteza y raíz  | Produce efecto inhibitor reversible de la acetilcolinesterasa<br>Efecto cardiovascular<br>Antiproliferativo   |
| Hojas           | Actividad antifertilidad<br>Antinociceptivo<br>Antihelmítico<br>Antiobesidad<br>Inhibidor del trastorno obsesivo compulsivo                                   |
| Flores          | Antiinflamatorio<br>Antioxidante<br>Gastroprotector<br>Antidiabético<br>Antiulcerigénico<br>Antoconvulsivo<br>Citotóxico<br>Antibacteriano<br>Anticancerígeno |



### 1.9.2.1 Especie *Tabernaemontana arborea* J.N .Rose ex Donn.Sm

La especie *Tabernaemontana arborea* (también conocida como T12) es una planta que pertenece a la familia Apocynaceae, Orden Gentianales, Clase Magnoliopsida y Phylum Magnoliophyta.

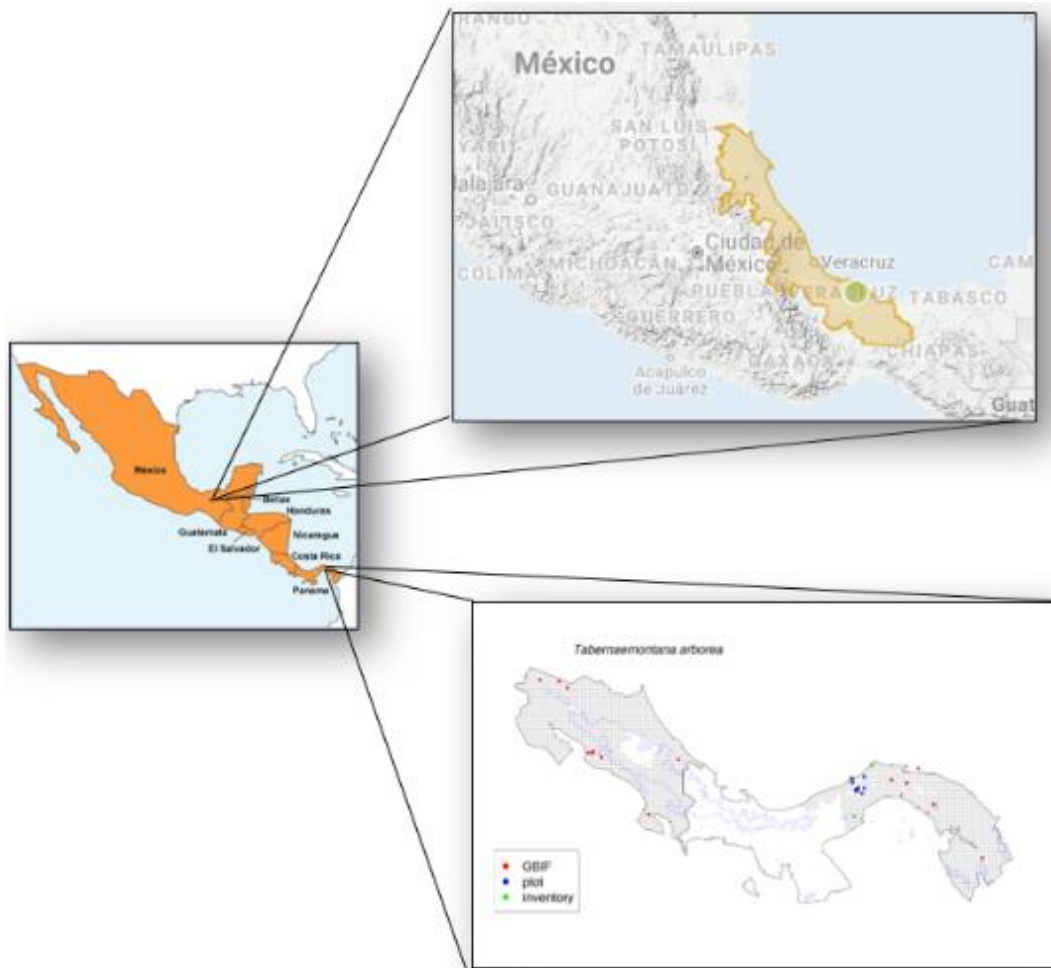
En la medicina tradicional mexicana se utilizan las hojas y la savia como laxantes y purgantes (Ken, 2019). Sin embargo, existe muy poca información farmacológica y fitoquímica (Krengel *et al.*, 2016) sobre ella.

Puede ser un arbusto o un árbol con una corona amplia o redondeada. Suele crecer de 6 a 15 metros de altura (Krengel *et al.*, 2018). Sus hojas son simples, opuestas, elípticas, de 4.5-16.5 cm por 2-6 cm, acuminadas o agudas, glabras, (Figura 4). Sus hojas además se caracterizan por la presencia de diminutos puntos negros en el envés (INBio, 2013; Zamora, 2000). Sus flores son de color blanco a blanco crema. Produce frutos en folículos reniformes que son rugosos y pueden ser de 3.5 a 5.8 cm (Zamora, 2000) en forma de “riñón” cubiertos de lenticelas blancas en la superficie exterior, (Figura 4). Las semillas están envueltas en una pulpa roja o anaranjada (Pérez, 2008). El tronco recto suele ser de 30 a 50 cm de diámetro, a menudo con pequeños contrafuertes, tienen la corteza pardo pálido, con savia lechosa abundante. La madera es muy dura, pesada y fuerte. El árbol se cosecha de la naturaleza para uso medicinal local (Figura 4) (Krengel *et al.*, 2018; Zamora, 2000).



**Figura 4.** *T. arborea*. Árbol, hojas, flores y fruto. Tomadas de: <https://biogeodb.stri.si.edu/biodiversity/species/25509/>

*T. arborea* conocida popularmente en México como “Cojón,” “Cojón de caballo” o “huevos de gato” (Pérez, 2008; Morales, 2009) se distribuye en la región boscosa húmeda, presente en altitudes de 0-300 m sobre el nivel del mar desde México hasta Colombia (Fig. 5). Florece en febrero y mayo (Rose, 1893) y fructifica en febrero y junio del año (Morales, 2009).



**Figura 5.** Distribución de *T. arborea* en México y Panamá. Tomada de: <https://www.naturalista.mx/taxa/284456-Tabernaemontana-arborea>

Los estudios preliminares de diferentes órganos de la planta silvestre, utilizando las técnicas de cromatografía de gases/espectrometría de masas, han identificado un total de diez alcaloides del indol, (monoterpenoides y un alcaloide de indol simple) nueve de los cuales se informan por primera vez en esta especie. Los alcaloides presentes en mayor abundancia en cortezas tanto de tallo como de raíz fueron la ibogaína y voacangina, considerados como antiadictivos porque en estudios preclínicos se observó una disminución de la autoadministración de morfina, cocaína, anfetamina, metanfetamina y alcohol (Almaguer, recuperado

2019; Krengel *et al.*, 2016), y usados también para disminuir el síndrome de abstinencia y el “craving” hacia diferentes drogas (Almaguer, recuperado 2019), mientras que en la savia se encuentran presentes los alcaloides como voacangina, voacamina y epivocorina componentes citotóxicos activos contra la leucemia linfocítica humana (Kingston, 1978).

Las propiedades farmacológicas, tanto de los extractos crudos o de las molécula aisladas y purificadas provenientes de la especie *T. arborea* no han sido demostradas científicamente, por lo que se requiere tanto de estudios preclínicos y clínicos para validar sus efectos.

## **1.10 Modelos animales de nocicepción**

En los últimos años se han desarrollado numerosos estudios sobre nocicepción en animales. Las especies que más frecuentemente se utilizan para el estudio de dolor en la investigación básica son las ratas y los ratones. En este sentido, un modelo de dolor es el procedimiento por el cual se valora la reacción de un animal ante un estímulo nocivo de naturaleza variada o situación patológica inducida que puede ser utilizado en circunstancias fisiológicas o patológicas. Actualmente existe una batería amplia de modelos de nocicepción ya que depende del tipo de dolor que se quiera modelar (Hunnskaar, 1985; Polanco, 2011).

La utilización de los modelos experimentales se justifica para el ensayo de nuevos tratamientos farmacológicos para el alivio del dolor. Bajo el título de modelos de dolor agudo se encuentran fundamentalmente a los modelos que utilizan un estímulo físico o químico que tienen como objetivo determinar una latencia de respuesta por parte del animal ante dicho estímulo y tienen un desarrollo temporal breve. Entre ellos se encuentra la prueba de la placa caliente, el de retirada de la cola y el de inmersión de la cola en agua caliente que involucra un estímulo térmico. La prueba de presión de la extremidad o de la cola en la rata requiere de un estímulo mecánico. La prueba de estimulación eléctrica de la cola usa un estímulo eléctrico; en tanto que las pruebas del ácido acético y de la formalina utilizan el estímulo químico para inducir nocicepción aguda y localizada (Ortega, 2002).

### **1.10.1 Prueba de formalina**

La prueba de formalina se basa en experimentos de Lewis y Kellgren (Lewiis, 1939), los cuales inyectaron pequeñas cantidades de solución salina hipertónica debajo de la piel en sujetos humanos para producir dolor breve e intenso. En la prueba de formalina se inyectan subcutáneamente 50 µl de formalina al 1% en la extremidad posterior de la rata (Dubuisson, 1977). El modelo se utiliza para examinar los efectos analgésicos en gatos y ratas, pero posteriormente fue desarrollado en ratones. El modelo de formalina se diferencia de la mayoría de los modelos basados en estímulos de corta duración (fásico) y de alta intensidad en que es posible evaluar la manera en que el animal responde a un dolor moderado y continuo (tónico) generado por un daño tisular.

Existen varios aspectos a tener en cuenta sobre este modelo, tales como:

- El método de puntuación elegido o la respuesta dolorosa considerada tras la administración de la formalina, el número de sacudidas frente al tiempo de lamido/mordisqueo de la extremidad inyectada.
- La elección de la inyección en la extremidad anterior o posterior, y en este último caso si es en la zona dorsal o plantar.
- El volumen y la concentración administrada de formalina.
- Otros factores, como la cepa y la especie utilizada, la edad del animal, circunstancias ambientales como la temperatura de la habitación, el ruido o los olores, y el número de evaluadores (Cendán, recuperado en 2019).

El comportamiento del animal a dicho tratamiento se evalúa objetivamente de acuerdo a calificaciones de intensidad del dolor. El dolor generalmente dura por lo menos 30 min, y las observaciones se realizan sobre animales restringidos o no (Dubuisson, 1977). La inyección intraplantar de formalina produce una respuesta dolorosa bifásica, la cual se compone de una fase temprana (primera fase o fase neurogénica) que comprende los primeros 10 min tras la inyección de la formalina, y una segunda fase tardía (segunda fase o fase inflamatoria) que comienza a los 10-15 min de la inyección y dura de 30 a 50 min. Tradicionalmente se ha considerado que la primera fase se debe a la activación directa de los nociceptores cutáneos (en especial las fibras A $\delta$  y en menor grado las fibras C) y que la segunda fase es consecuencia de una respuesta inflamatoria producida por varias sustancias químicas que son liberadas en el área de lesión, ocasionando una sensibilización de las neuronas nociceptoras de la médula espinal (sensibilización central). Por lo tanto, el modelo de la formalina se usa normalmente como un modelo de dolor agudo y tónico (Cendán, recuperado en 2019).

La ventaja de este modelo es que la respuesta de sacudidas puede ser contabilizada como medida de nocicepción (Fig. 6). Además, se puede evaluar la posición en la que la rata coloca la extremidad afectada, el trabajo activo como la lamida de dicha extremidad con el cual el animal trata de aliviar la sensación producida por la formalina y el tiempo que invierten en lamer o el parámetro reflejo de la sacudida de la extremidad (Fig. 6) (Tjølsen *et al.*, 1992). Diversos estudios preclínicos han demostrado que la administración de analgésicos disminuye las conductas de sacudidas y lamidas, esta disminución en las conductas nociceptivas se denomina respuesta antinociceptiva.



**Figura 6.** Respuestas típicas usadas para la clasificación de la intensidad del dolor en ratas. Conducta de sacudida, lamida, tiempo que invierten en lamer y la posición de la extremidad afectada.

Todos los modelos en animales han sido utilizados para explicar las patologías, ya que cuentan con ventajas como: tener control sobre el ambiente, la historia conductual, se puede realizar una gran cantidad de manipulaciones experimentales que permiten evaluar la eficacia terapéutica de diferentes tratamientos ya sean de sintéticos y/o naturales (Polanco, 2011).

### **1.11 Daño gástrico**

La inducción de úlceras con indometacina es una técnica aplicada en animales de acuerdo con el procedimiento descrito por Savanti y colaboradores (Sayanti, 2007; Lee, 1971). En esta técnica, los roedores son administrados con una única dosis de indometacina (30 mg/kg), se dejan transcurrir de 2-4 horas para posteriormente sacrificar al animal y diseccionar el estómago y evaluar la mucosa gástrica por alguna manifestación ulcerosa (Sabiú, 2015).

En este ensayo se utiliza la escala de Marhuenda (Tabla 4) (Manual de técnicas de investigación del CYTED) y Gamberini (Gamberini, 1991; Mamani, 2017).

**Tabla 4. Escala de Marhuenda y Gamberni**

| <b>Grado de la escala</b> | <b>Característica</b>   |
|---------------------------|---|
| 0                         | Sin lesión  |
| 1                         | Úlceras hemorrágicas, finas, dispersas y de longitud menor a 2 mm |
| 2                         | Una úlcera hemorrágica, fina, de longitud menor a 2 mm            |
| 3                         | Más de úlcera grado 2   |
| 4                         | Una úlcera de longitud menor de 5 mm y diámetro menor de 2 mm     |
| 5                         | De una a tres úlceras de grado 4                                  |
| 6                         | De cuatro a cinco úlceras de grado 4                              |
| 7                         | Más de seis úlceras de grado 4                                    |
| 8                         | Lesiones generalizadas de la mucosa con hemorragia                |

Tomada de Mamani, 2017.

## **2. Planteamiento del problema**

De acuerdo con la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés) el dolor se describe como “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con una lesión presente o potencial descrita en términos de ésta” (Ibarra, 2006). Este es un problema importante de salud internacional ya que afecta del 25 al 29% de la población. Debido a que el dolor es “desagradable” y afecta la calidad de vida de las personas, diversas opciones se realizan para aliviarlo, la principal es la terapia farmacológica. De acuerdo con lo ya establecido en la escala analgésica de la OMS, los fármacos varían en su eficacia para aliviar el dolor de diferente intensidad, pero siempre están asociados a diversos efectos adversos. Por lo anterior, la búsqueda de alternativas terapéuticas eficaces y seguras sigue siendo un objetivo imperante. Una de las principales alternativas terapéuticas es la herbolaria dado que los extractos de los órganos de las plantas son usados por un gran porcentaje de la población como remedios caseros para la atención primaria de salud lo que ha contribuido a la conservación de la biodiversidad global y el impulso de avances científicos.

Cabe destacar que el género *Tabernaemontana* podría tener potencial farmacológico como analgésico (Krengel *et al*, 2016 & 2018), específicamente *T. arborea*, que se ha identificado en México donde se conocen al menos 12 especies (González, 2015). Esta planta se utiliza en la medicina tradicional mexicana como laxante, purgante y para el tratamiento de fiebres. No obstante, la evaluación farmacológica y fitoquímica de la misma son escasas para corroborar su potencial terapéutico.

Por todo ello, en esta investigación se propuso evaluar la actividad analgésica del extracto polar de *T. arborea*, utilizando el modelo de dolor nociceptivo producido por la formalina inyectada a ratones.

### **3. Hipótesis**

El extracto polar de *T. arborea* posee propiedades analgésicas por lo que producirá efecto antinociceptivo en un modelo de dolor nociceptivo-inflamatorio en ratones.

### **4. Objetivos**

#### **4.1 General**

- Evaluar la actividad analgésica del extracto polar de *Tabernaemontana arborea* en las fases neurogénica e inflamatoria de la prueba de la formalina en ratones

#### **4.2 Específicos**

- Obtener el extracto polar de *T. arborea* para su administración intraperitoneal.
- Determinar la actividad antinociceptiva del extracto polar de *T. arborea* y de un metabolito de naturaleza alcaloide (ibogaína) en la prueba de la formalina en ratones.
- Demostrar que el extracto de *T. arborea* y el metabolito activo (ibogaína) carecen de actividad sedante mediante el modelo de campo abierto.
- Describir las fases neurogénica e inflamatoria como dosis-respuesta a partir de los cursos temporales del efecto tipo analgésico del extracto polar de *T. arborea* y un metabolito de naturaleza alcaloide (Ibogaína)
- Determinar la participación de receptores de tipo opioide, del receptor de serotonina 5-HT<sub>1A</sub> y del receptor de dopamina D<sub>4</sub> mediante el mecanismo de acción de la actividad antinociceptiva del extracto polar de *T. arborea*.
- Demostrar que el extracto polar de *T. arborea* no produce efectos de daño gástrico.

## **5. Materiales y método**

### **5.1 Reactivos químicos y fármacos**

El extracto polar de *T. arborea* y el de su metabolito (ibogaína) fueron donados por el Dr. Ricardo Reyes Chilpa del Instituto de Química de la UNAM. Este extracto se solubilizó en agua ligeramente ácida y se administró a los animales de cada grupo en un volumen de 100  $\mu$ L, en dosis de 3, 10, 30 y 56 mg/kg (del extracto original) por la vía intraperitoneal (i.p.). Los fármacos de referencia fueron tramadol (17.2 mg/kg, i.p.) y diclofenaco (10 mg/kg, i.p.).

### **5.2 Animales**

Ratones de la cepa Swiss Webster (SW-Taconic, 25 a 35 g de peso corporal) donados por el Bioterio del Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz", lo cuales se mantuvieron en condiciones estándar de bioterio con ciclo luz/oscuridad de 12 h/12 h y alimento y agua *ad libitum*. Los animales se dividieron en grupos de 6 animales cada uno. Los experimentos siguieron las normas y especificaciones emitidas por la Norma Oficial Mexicana de Especificaciones Técnicas (NOM-062-ZOO-1999) y por el Comité de Bioética en Investigación del Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz" para el uso y cuidado de animales de experimentación (proyecto aprobado NC17073.0 CONBIOÉTICA-09-CEI-010-20170316).

### **5.3 Diseño experimental**

Los ratones se dividieron en grupos de 6 animales cada uno. Los ratones se inyectaron por vía i.p. como se indicó en el párrafo anterior: Tres grupos se mantuvieron como control; el primero con vehículo (solución salina), el segundo con el fármaco de referencia tramadol disuelto en agua destilada (17 mg/kg) y el tercero con diclofenaco en agua destilada. Además, diferentes dosis del extracto (3, 10, 30 y 56 mg/kg, i.p.) o de su metabolito más abundante (3, 10 y 30 mg/kg, i.p.) se administraron también por la vía i.p.

Treinta minutos después de la administración de las inyecciones (control, el extracto y metabolito), los animales recibieron una dosis intraplantar de formalina al 1 % (20  $\mu$ L) en la extremidad posterior derecha (Hunnskaar, 1985 & Dubuisson, 1977). y se determinaron las conductas nociceptivas de acuerdo como se muestra la (Tabla 5). Se determinó el tiempo que los ratones invertían en lamer de la extremidad inyectada con el agente nocivo, así como el número de sacudidas y lamidas con la finalidad de determinar el efecto analgésico del extracto y su metabolito más abundante. La actividad antinociceptiva se comparó con el grupo vehículo y grupo tramadol.



A partir de los datos obtenidos se preparó un gráfico de los cursos temporales (tiempo versus nocicepción). Más tarde se calculó el área bajo la curva mediante la técnica de los trapecios (Cantabria, 2010; González, 2006) para poder construir las curvas dosis-respuesta. La nocicepción inducida por formalina fue analizada separando la fase neurogénica o central (intervalo de 0-5 min) e inflamatoria o periférico-central (intervalo de 5-30 min).

**Tabla 5. Registro de conducta en la prueba de formalina en ratones**

| Tiempo en min | Contar número de eventos | Tiempo en min | Contar número de eventos | Tiempo en min | Contar número de eventos | Tiempo en min | Contar número de eventos |
|---------------|--------------------------|---------------|--------------------------|---------------|--------------------------|---------------|--------------------------|
| 0-1           | X                        | 8-9           |                          | 17-18         |                          | 25-26         | X                        |
| 1-2           |                          | 9-10          |                          | 18-19         |                          | 26-27         |                          |
| 2-3           | X                        | 10-11         | X                        | 19-20         |                          | 27-28         |                          |
| 3-4           |                          | 11-12         |                          | 20-21         | X                        | 28-29         |                          |
| 4-5           | X                        | 12-13         |                          | 21-22         |                          | 29-30         |                          |
| 5-6           | X                        | 13-14         |                          | 22-23         | X                        | 30-31         | X                        |
| 6-7           |                          | 14-15         |                          | 23-24         |                          |               |                          |
| 7-8           |                          | 15-16         | X                        | 24-25         | X                        |               |                          |

Nota: El "X" representa el minuto en el que se debe de contar el número de sacudidas, el número de lamidas y el tiempo que invierte en lamer el ratón la extremidad afectada este último en segundos.

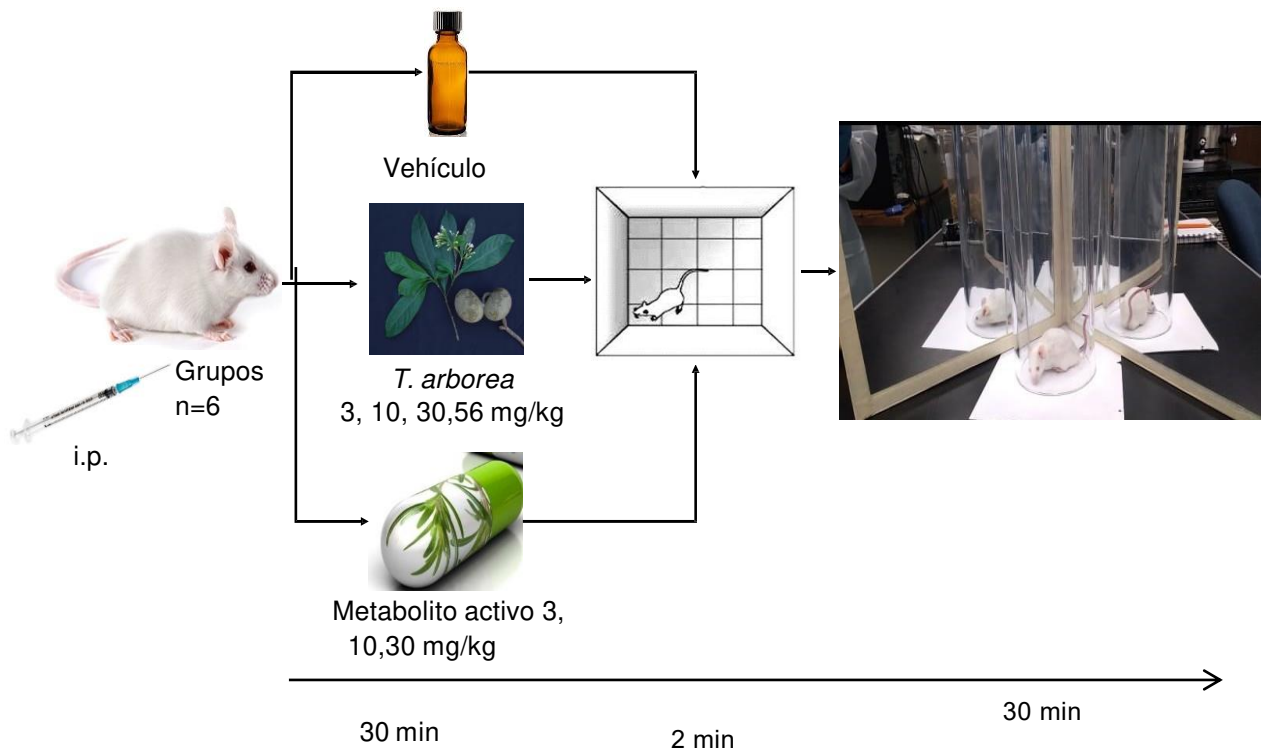
La prueba de campo abierto se realizó previa a la inducción de la nocicepción durante 2 min en cada ratón para descartar efectos sedantes (Alarcón, 2013; Garau, 1985; Polanco, 2011) (Fig. 7).

Posteriormente para determinar la participación de los receptores de tipo opioide se realizó el mismo protocolo experimental arriba mencionado, sólo que 15 minutos antes de inyectar el extracto de *T. arborea* se administró naloxona por vía i.p. (1 mg/kg, vía i.p., antagonista selectivo de opioides) (Fig. 8). Así mismo, para determinar la participación del receptor de serotonina 5-HT<sub>1A</sub> y la participación del receptor de dopamina D<sub>4</sub> se administró WAY100635 (1 mg/kg, vía i.p., antagonista a este receptor.) (Fig. 8).

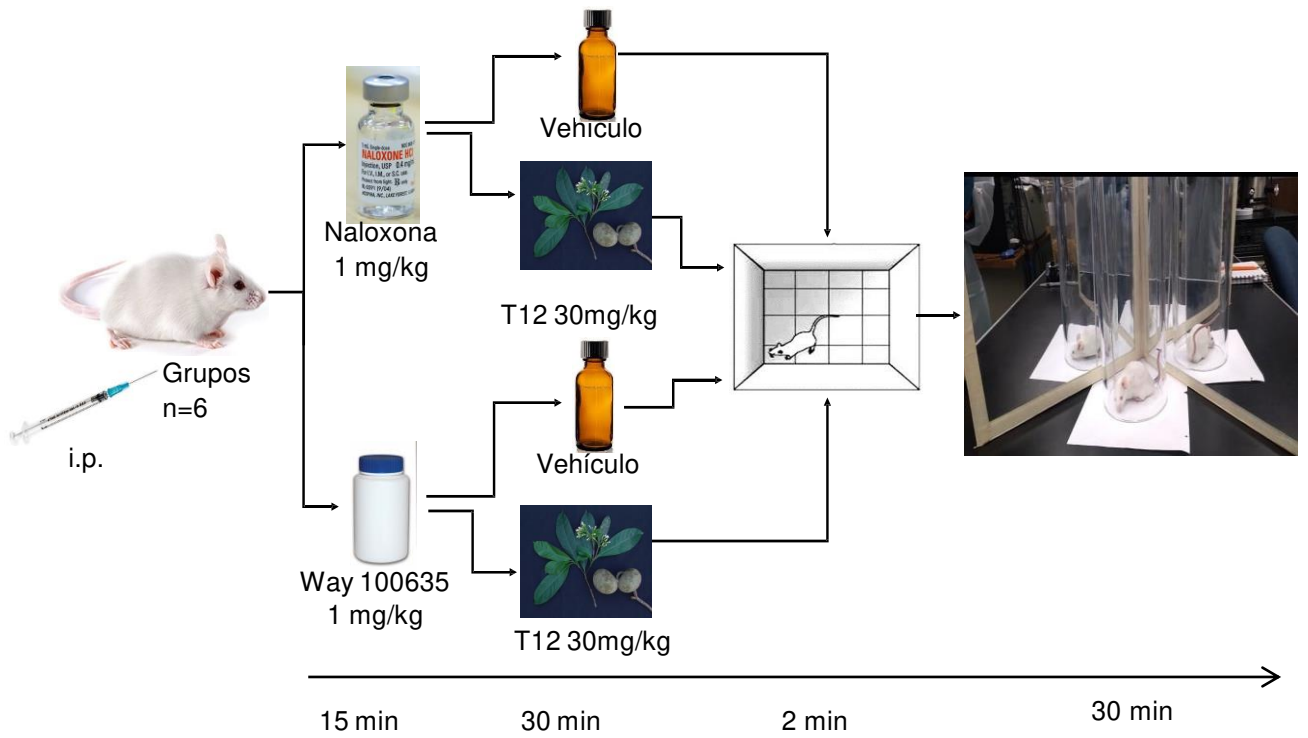
Para conocer si el extracto de *T. arborea* producía lesiones gástricas por haber dado respuesta en la fase inflamatoria de la formalina, fueron evaluadas las mucosas gástricas de los ratones mediante un grupo control positivo (indometacina, 30 mg/kg, vía i.p.), un grupo con la dosis significativa del extracto de T12 (30 mg/kg, vía i.p.) y un grupo con un fármaco de referencia (diclofenaco 10 mg/kg, vía i.p.). Cuatro horas después de la administración de indometacina, extracto de T12 y

fármaco de referencia, los ratones se sometieron al modelo de campo abierto durante 2 min, a los cuales se les indujo a nocicepción en la prueba de formalina durante 30 minutos.

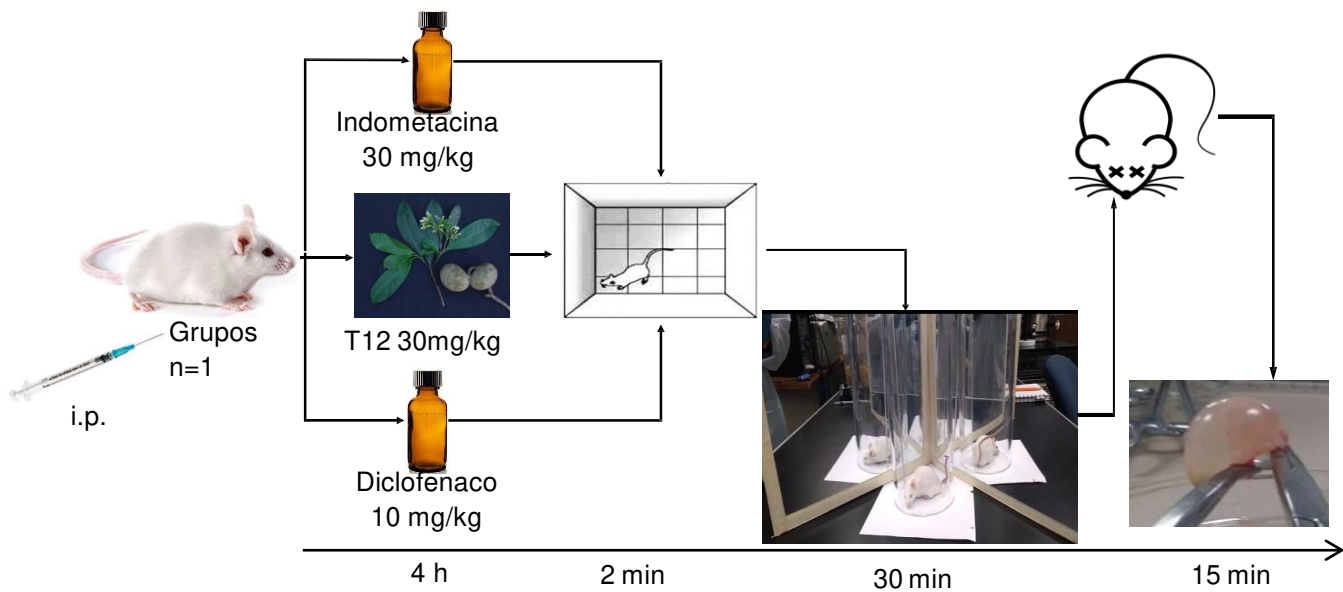
Una vez culminada la prueba de formalina, los ratones se sacrificaron por dislocación cervical y se les diseccionó el estómago. La evaluación de las lesiones gástricas se hizo mediante fijación de la mucosa, posterior escaneo y observación de posibles lesiones (Figura 9) (Rujjanawate, 2005 & Sabiu, 2015)



**Fig. 7.** Evaluación del efecto antinociceptivo del extracto y metabolito de *T. arborea*



**Fig. 8.** Determinación de la participación de los receptores de tipo opioide, receptores 5-HT<sub>1A</sub> y D<sub>4</sub>.



**Figura 9.** Determinación de daño gástrico.

## 5.4 Análisis estadístico

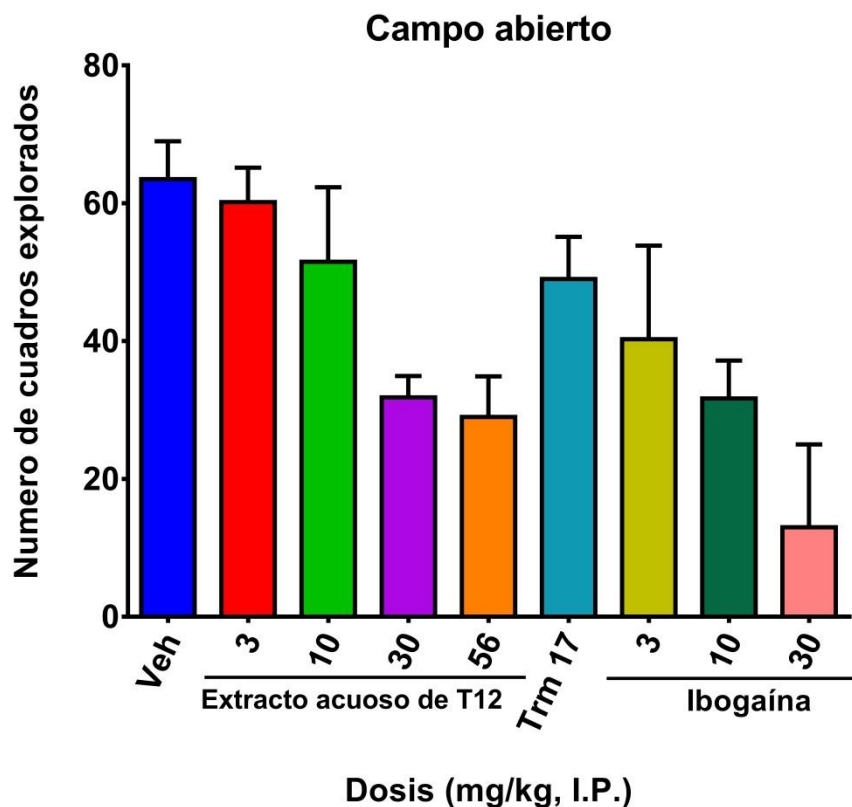
Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  el error estándar de la media para una  $n=6$  animales. Las curvas dosis-respuesta mediante ANADEVIA de una vía (factor efecto) seguidas de la prueba pos-hoc de Dunnett o Tukey para la comparación contra el control o entre dosis, respectivamente, utilizando el programa Prisma versión 6.0.

## 6. Resultados

En la presente investigación se estudió el efecto analgésico y antiinflamatorio del extracto polar de *T. arborea* y de su metabolito activo (ibogaína). Para ello se emplearon dos modelos, uno de ellos fue la prueba de formalina utilizada para evaluar el efecto anti-nociceptivo y antiinflamatorio en ratones, utilizando como fármacos de referencia el tramadol (para efecto antinocicepción) y diclofenaco (efecto antiinflamatorio) y otro modelo utilizado para evaluar la actividad ambuladora en los ratones fue el de campo abierto. También utilizó la inducción de úlceras con indometacina para evaluar si el extracto de *T. arborea* genera algún daño en la mucosa gástrica.

### 6.1 Modelo de campo abierto

El modelo de campo abierto se utiliza para detectar actividad ambuladora en ratones. La figura 10 muestra el número de cuadros explorados por los animales en la evaluación del efecto antinociceptivo, de las diferentes dosis del extracto de *T. arborea* y de ibogaína. Esta Figura indica que conforme aumenta la dosis, de *T. arborea* o de ibogaína se observa una disminución del número de cuadros explorados. Sin embargo, esta diferencia no es estadísticamente significativa. Este gráfico también incluye los cuadros explorados por los ratones tratados con el fármaco de referencia (Trm).



**Figura 10.** Capacidad motora evaluada en ratones tratados con vehículo (grupo control), extracto de *T. arborea*, metabolito activo (ibogaína) y fármaco de referencia utilizados en diferentes dosis, en el modelo de campo abierto.

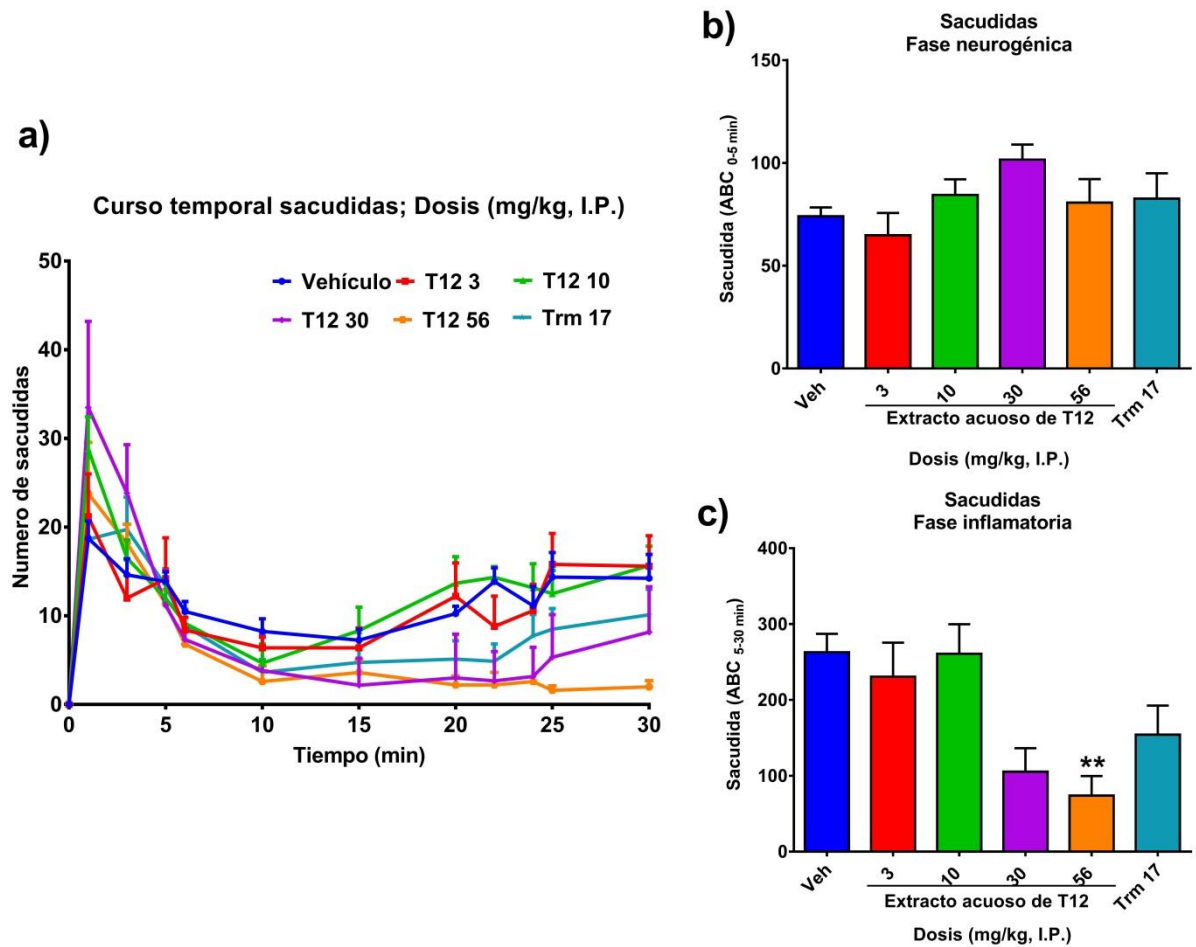
## 6.2 Determinación del efecto antinociceptivo de *T. arborea*

Con el fin de evaluar la actividad antinociceptiva del extracto de *T. arborea* se empleó la prueba de formalina. Este modelo se utiliza ampliamente para detectar agentes con esta actividad a nivel central y periférica (Cendán, recuperado en 2019).

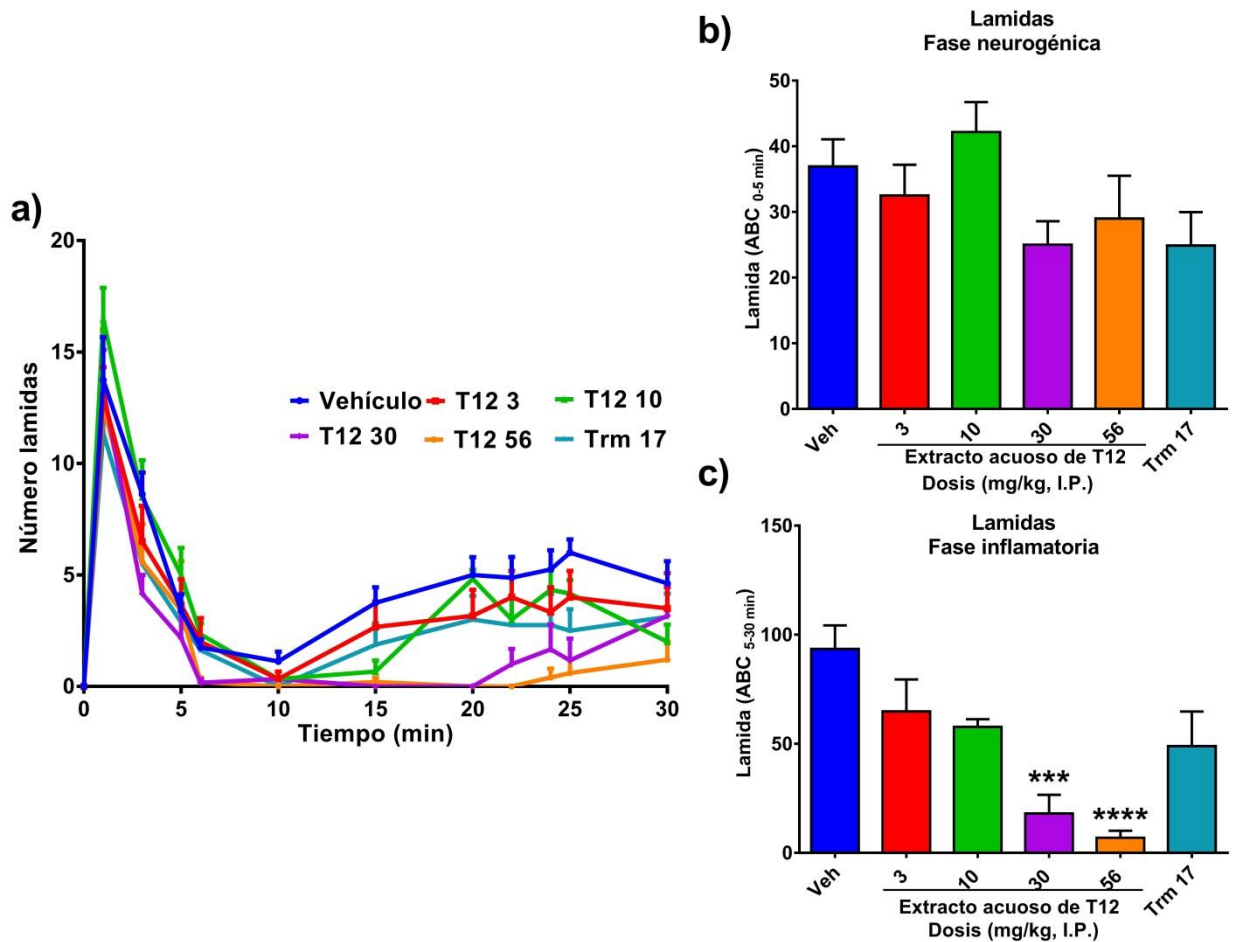
### 6.2.1 Conducta de sacudida y lamida

La figura 11 muestra los cursos temporales del número de sacudidas (11A) y de lamidas (12A) obtenidos con diferentes dosis del extracto de *T. arborea* en ratones. Los cursos temporales se dividieron en las dos fases: neurogénica (11B y 12B) e inflamatoria (11C y 12C) para ambos y se compararon contra el control que recibió el vehículo. Los gráficos también incluyen el efecto del fármaco de referencia tramadol (Trm). En estos resultados se observa que la conducta tipo dolorosa

disminuye significativamente en la fase inflamatoria, siendo la dosis de 56 mg/kg la más significativa (Fig. 11 y 12).



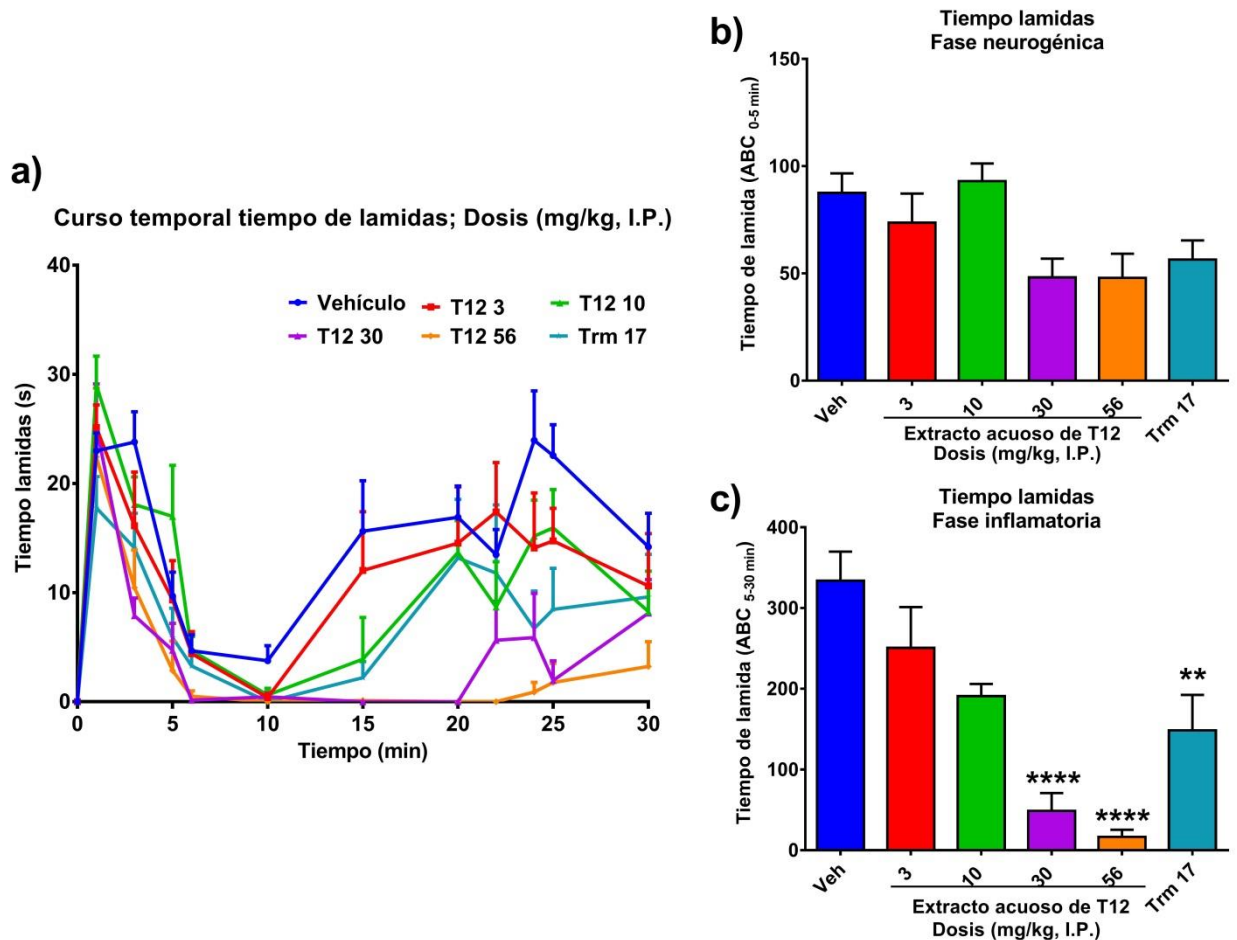
**Figura 11. (A)** Curso temporal del número de sacudidas como respuesta nociceptiva de animales tratados con vehículo y extracto crudo de *T. arborea* (T12) en las diferentes dosis (3, 10, 30 y 56 mg/kg, vía i.p.), así como el fármaco de referencia tramadol (Trm, 17 mg/kg i.p.). **(B)** Área bajo la curva de la conducta de sacudidas en la fase neurogénica y **(C)** Área bajo la curva de la conducta de sacudidas en la fase inflamatoria en la prueba de la formalina en ratones. ANADEVa de una vía seguida de la prueba post-hoc de Dunnett, \*\* $P < 0.01$  vs Veh, diferentes dosis de T12, fármaco de referencia.



**Figura 12. (A)** Curso temporal del número de lamidas como respuesta nociceptiva de animales tratados con vehículo y extracto crudo de *T. arborea* (T12) en las diferentes dosis (3, 10, 30 y 56 mg/kg, vía i.p.), así como el fármaco de referencia tramadol (Trm, 17 mg/kg i.p.). **(B)** Área bajo la curva de la conducta de lamidas en la fase neurogénica y **(C)** Área bajo la curva de la conducta de lamidas en la fase inflamatoria en la prueba de la formalina en ratones. ANADEVA de una vía seguida de la prueba post-hoc de Dunnett, \*\* $P < 0.01$  vs Veh, diferentes dosis de T12, fármaco de referencia.

### 6.2.2 Conducta de tiempo invertido en lamer

La figura 13 muestra el tiempo que los animales realizaron la conducta de lamido. Como se observa esta conducta disminuyó ante el estímulo nocivo, tanto en el curso temporal (Fig. 13A) como en la fase neurogénica (Fig. 13B) y significativamente en la fase inflamatoria (Fig. 13C).



**Figura 13. (A)** Curso temporal del tiempo que invierten en lamer como respuesta nociceptiva de animales tratados con vehículo y extracto crudo de *T. arborea* (T12) en las diferentes dosis (3, 10, 30 y 56 mg/kg, vía i.p.), así como el fármaco de referencia tramadol (Trm, 17 mg/kg i.p.). **(B)** Área bajo la curva del tiempo que invertían en lamer en la fase neurogénica y **(C)** Área bajo la curva del tiempo que invertían en lamer en la fase inflamatoria en la prueba de la formalina en ratones. ANADEVAs de una vía seguida de la prueba post-hoc de Dunnett,  $^{**}P < 0.01$  vs Veh, diferentes dosis de T12, fármaco de referencia.

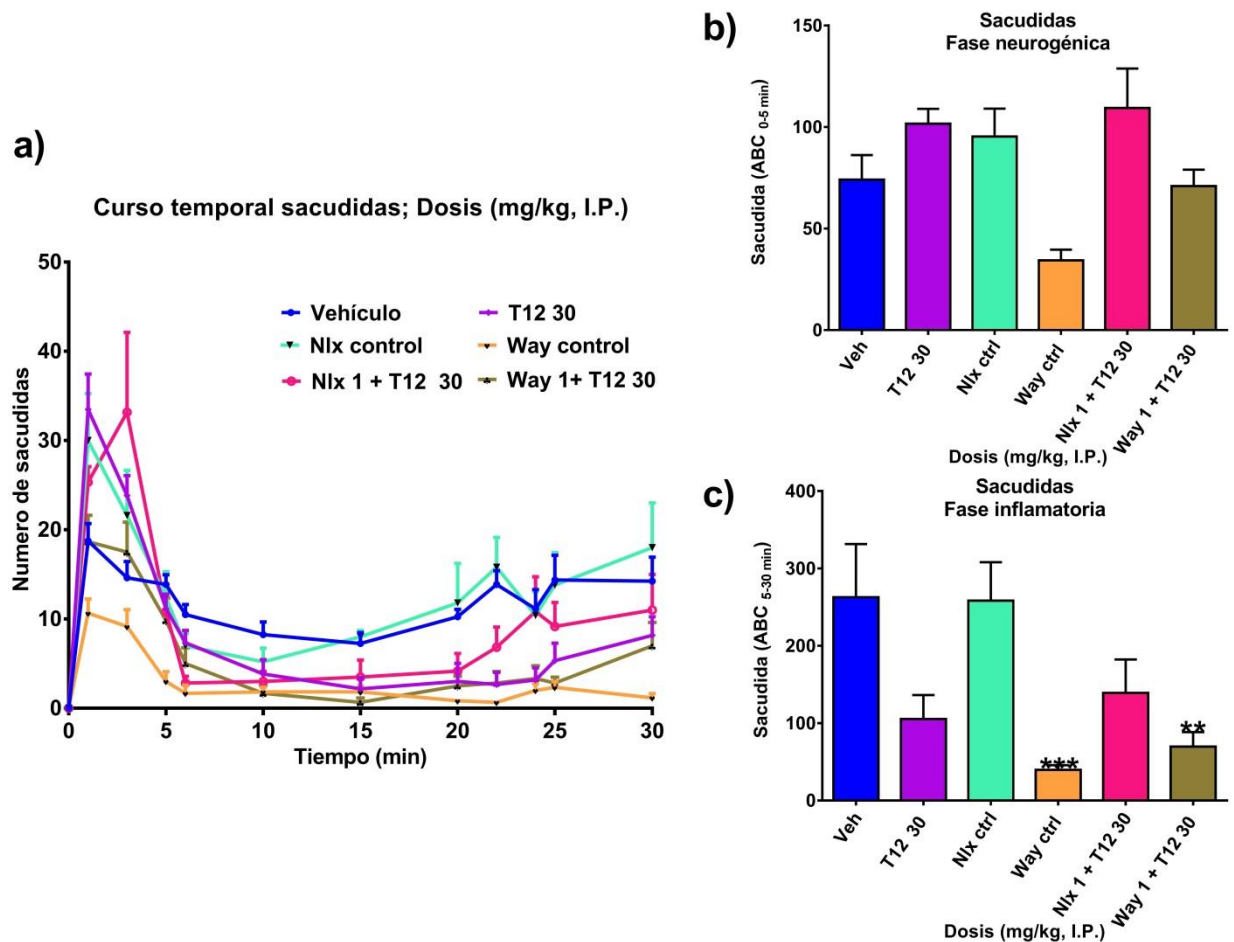
### 6.3 Mecanismo de acción de *T. arborea*

En la búsqueda del posible mecanismo de acción se evaluó la participación de los receptores a opioides con el bloqueo con naloxona (Nlx) y a los 5-HT<sub>1A</sub> de serotonina y D<sub>4</sub> de dopamina con WAY100635 (Way).



### 6.3.1 Conducta de sacudidas

La Fig. 14 muestra que el antagonista Nlx no modifica el número de sacudidas en comparación con el comportamiento de los ratones del grupo control tanto en la fase neurogénica como inflamatoria. Sin embargo, el antagonista Way *per se* produjo efecto antinociceptivo durante toda la medición del curso temporal (Fig. 14A). La separación de la respuesta en la fase neurogénica e inflamatoria permite observar que el efecto del extracto no se modifica con el antagonista opioide; pero se observa una interacción con el Way que modifica la respuesta en su combinación, principalmente en la fase neurogénica (Fig. 14B) en comparación con la inflamatoria (Fig. 14C).



**Figura 14.** (A) Curso temporal de la conducta de sacudidas como respuesta nociceptiva de animales tratados con vehículo y extracto crudo de *T. arborea* (T12, de 30 mg/kg, vía i.p.), solo o en combinación con naloxona (Nlx 1 mg/kg vía i.p.) y Way 100635 (Way 1mg/kg vía i.p.). (B) Área bajo la curva de la conducta de sacudidas en la fase neurogénica y (C) Área bajo la curva de la conducta de sacudidas en la fase inflamatoria en la prueba de la formalina en ratones. ANADEV

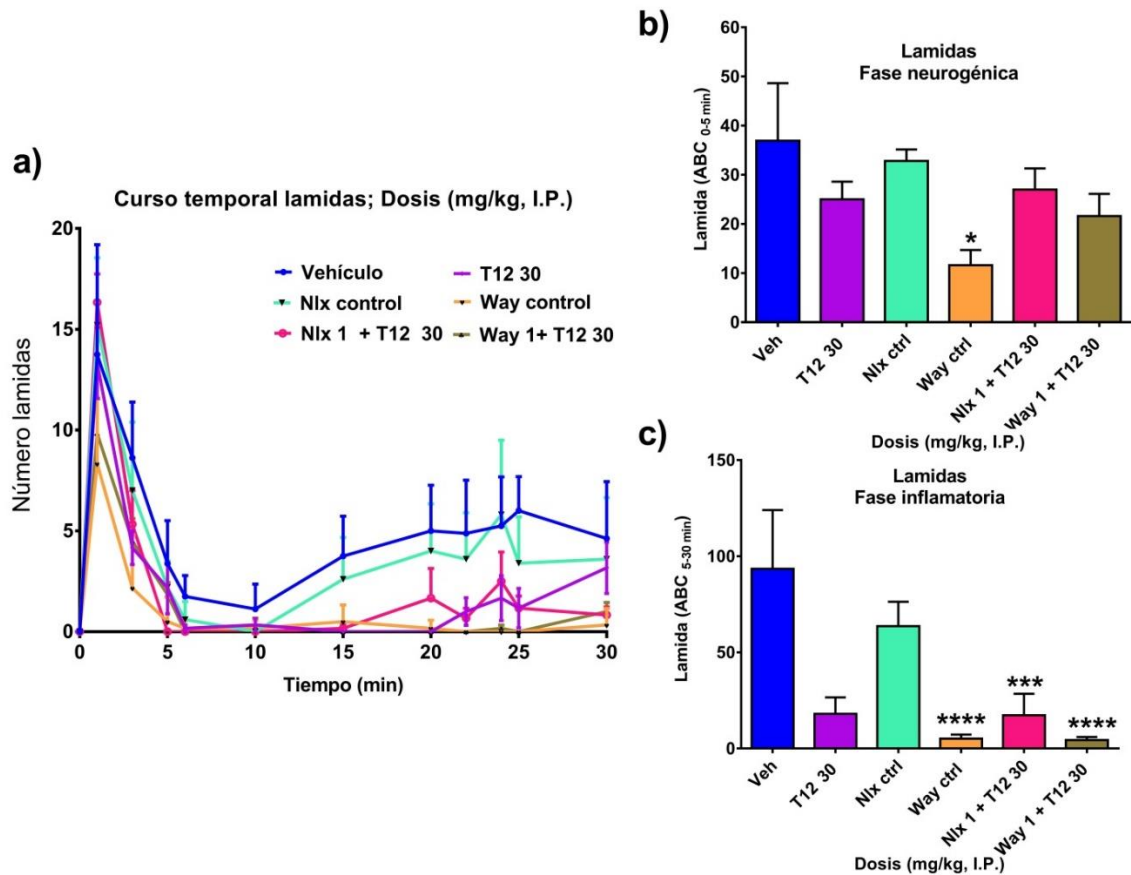
de una vía seguida de la prueba post-hoc de Dunnett, \*\* $P < 0.01$  vs Veh, T12 30 mg/kg solo, antagonistas solos y con la combinación de T12 30 mg/kg.

### **6.3.2 Comportamiento de lamida**

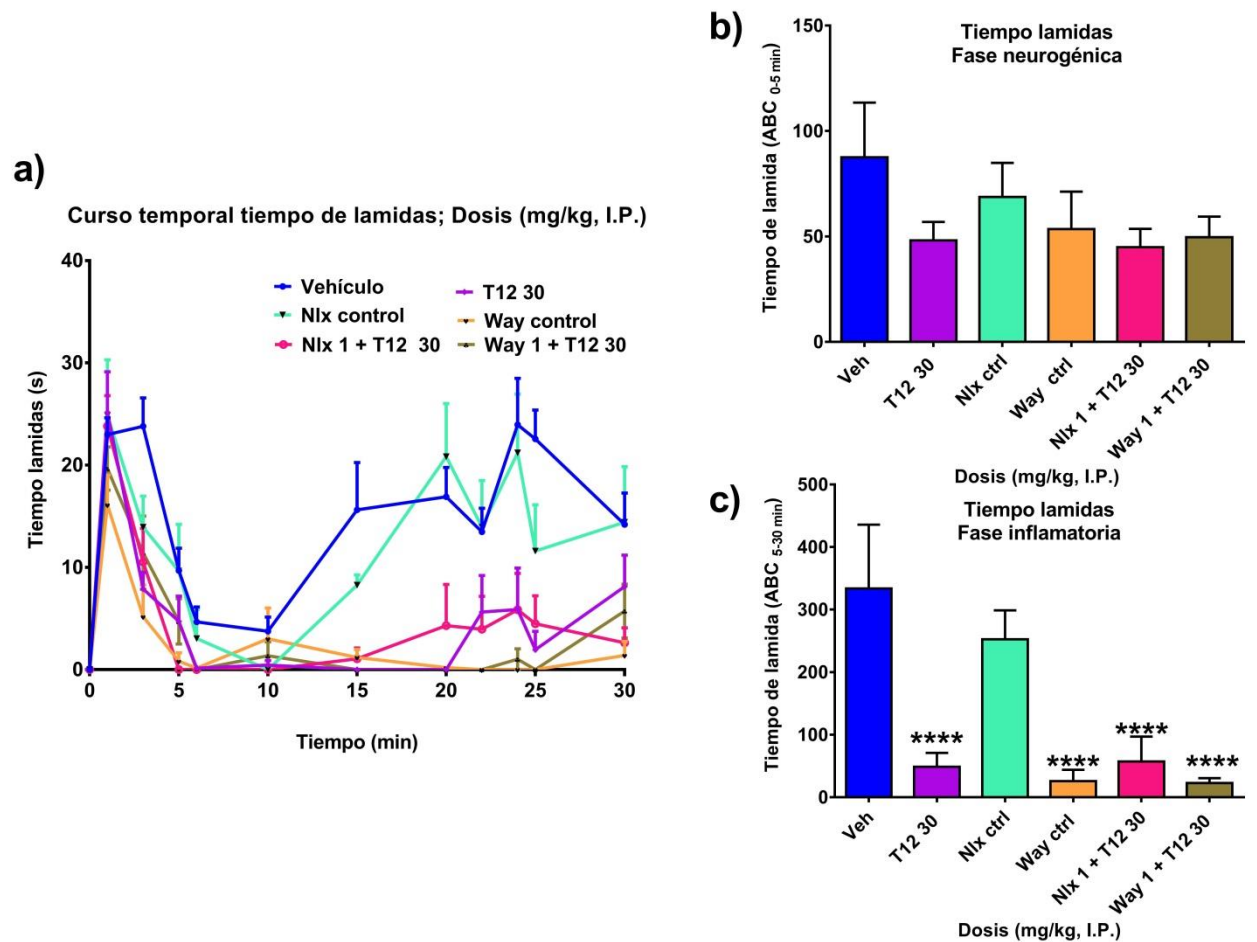
Con respecto a la conducta de lamidas, la Fig. 15A muestra que entre los 10 y 30 min del curso temporal se producen cambios de esta conducta, lo que indica que la Nlx no modifica la conducta en ninguna de las fases ni sola ni en presencia del extracto. En contraste, el tratamiento con Way induce un efecto antinociceptivo cuando se utiliza solo en ambas fases. Sin embargo, este efecto desaparece en la fase neurogénica; pero no en la inflamatoria en presencia del extracto de *T. arborea*; (Fig. 15B) (Fig. 15C).

### **6.3.3 Tiempo invertido en el comportamiento de lamer**

El tiempo invertido en lamer muestra cambios en el curso temporal entre los tiempos de 10 a 30 min (Fig. 16A). En tanto que en la fase neurogénica (Fig. 16B) o inflamatoria (Fig. 16C) no se observaron cambios entre los animales bajo los diferentes esquemas de tratamiento. No obstante, como muestra la figura el tratamiento con Way por sí solo, sigue manteniendo su efecto antinociceptivo.



**Figura 15. (A)** Curso temporal de la conducta de lamidas como respuesta nociceptiva de animales tratados con vehículo y extracto crudo de *T. arborea* (T12, de 30 mg/kg, vía i.p.), solo o en combinación con naloxona (Nlx 1 mg/kg vía i.p.) y Way 100635 (Way 1mg/kg vía i.p.). **(B)** Área bajo la curva de la conducta de lamidas en la fase neurogénica y **(C)** Área bajo la curva de la conducta de lamidas en la fase inflamatoria en la prueba de la formalina en ratones. ANADEVA de una vía seguida de la prueba post-hoc de Dunnett, \*\* $P < 0.01$  vs Veh, T12 30 mg/kg solo, antagonistas solos y con la combinación de T12 30 mg/kg.



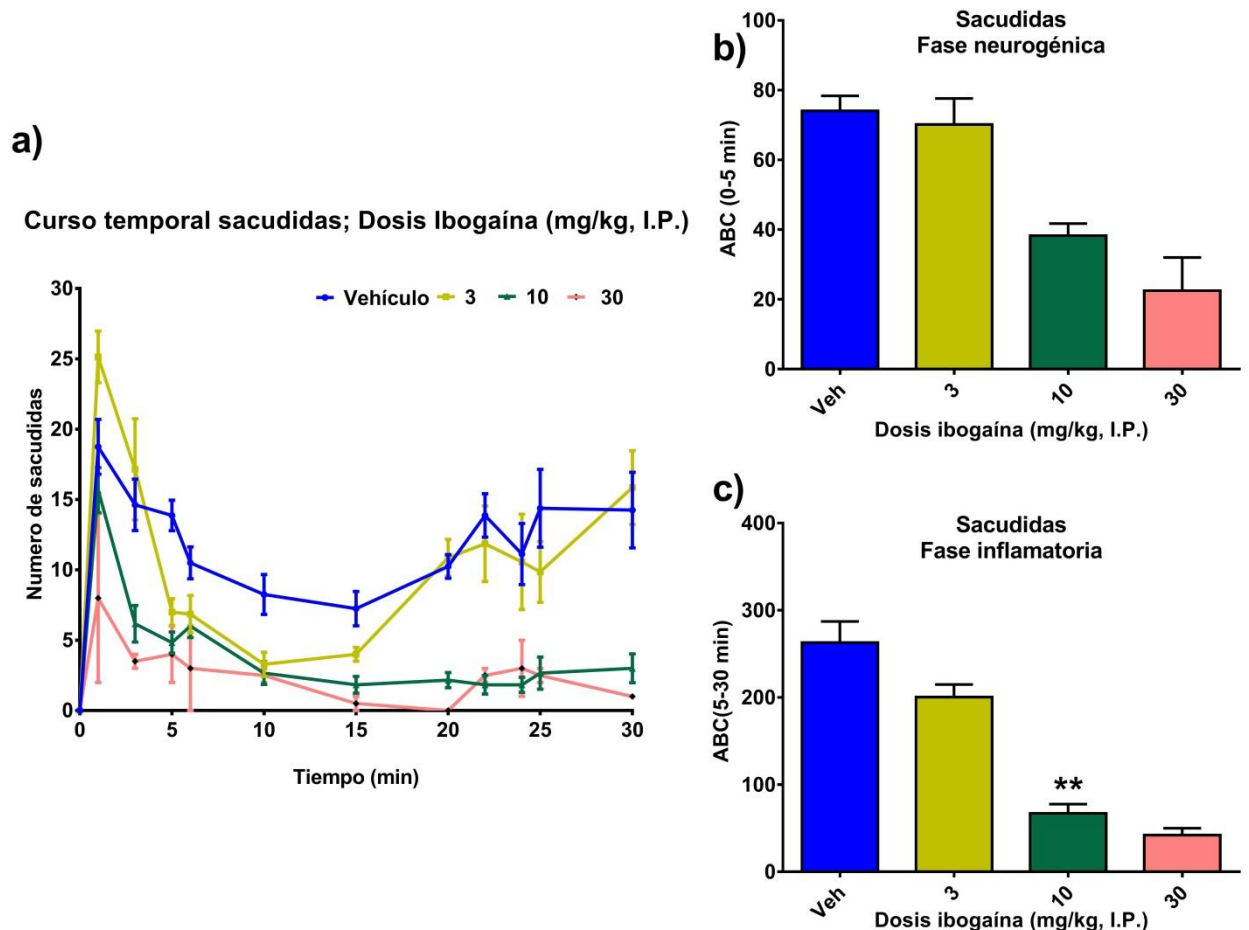
**Figura 16. (A)** Curso temporal del tiempo que invertían en lamer como respuesta nociceptiva de animales tratados con vehículo y extracto crudo de *T. arborea* (T12, de 30 mg/kg, vía i.p.), solo o en combinación con naloxona (Nlx 1 mg/kg vía i.p.) y Way 100635 (Way 1 mg/kg vía i.p.). **(B)** Área bajo la curva del tiempo que invertían en lamer en la fase neurogénica y **(C)** Área bajo la curva del tiempo que invertían en lamer en la fase inflamatoria en la prueba de la formalina en ratones. ANADEVA de una vía seguida de la prueba post-hoc de Dunnett, \*\* $P < 0.01$  vs Veh, T12 30 mg/kg solo, antagonistas solos y con la combinación de T12 30 mg/kg.

#### 6.4 Efecto antinociceptivo del metabolito activo de *T. arborea*

Al igual que el extracto de *T. arborea* se buscó evaluar la actividad antinociceptiva de uno de sus metabolitos activos, la ibogaína mediante la prueba de formalina. Este modelo se utiliza ampliamente para detectar agentes con esta actividad a nivel central y periférico (Cendán, recuperado en 2019).

### 6.4.1 Comportamiento de sacudidas

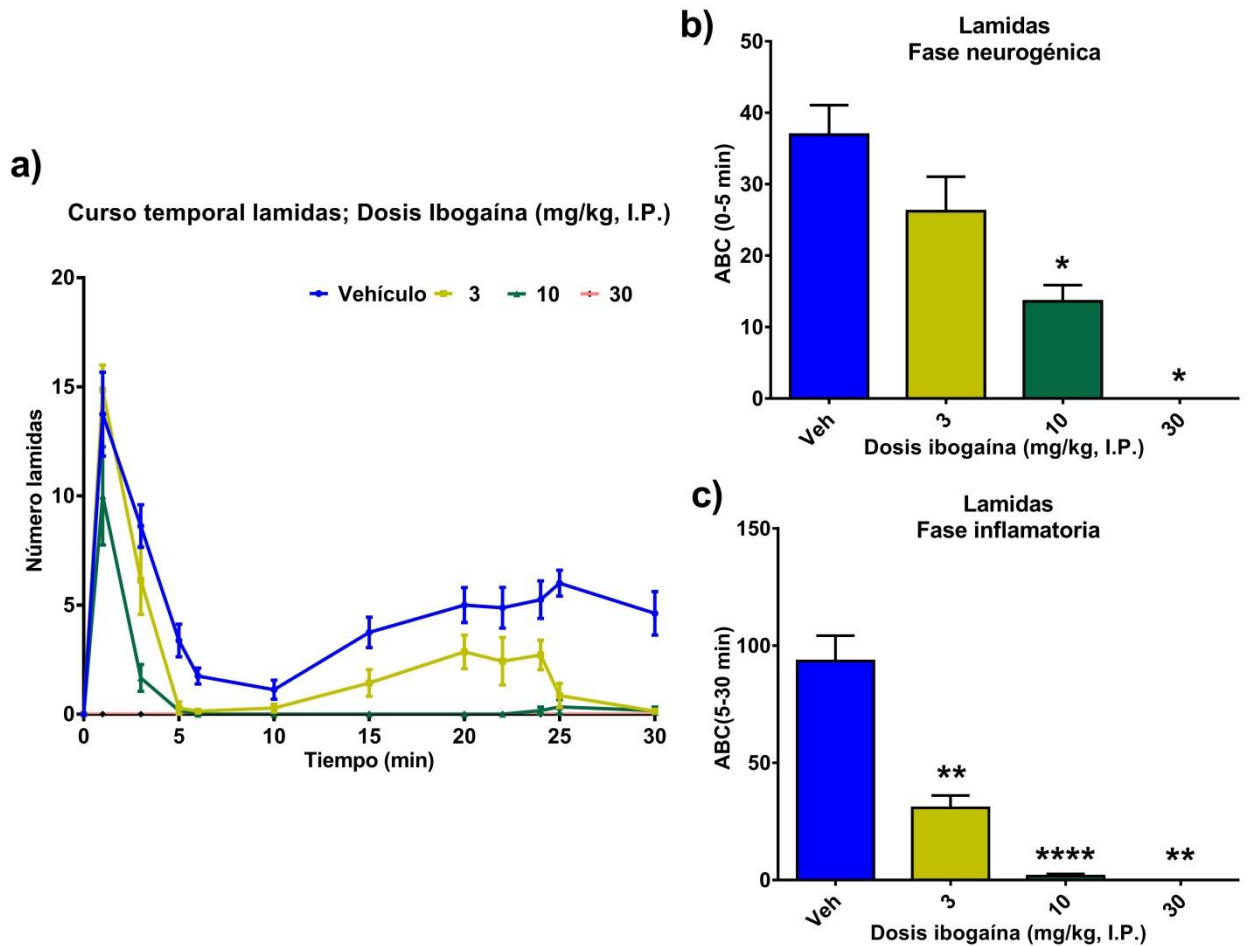
Se observó que la ibogaína produjo efecto antinociceptivo en la conducta de sacudidas en todo el curso temporal (Fig. 17A). Este efecto fue dependiente de la dosis utilizada y se presentó tanto en la fase neurogénica (Fig. 17B) como en la inflamatoria (Fig. 17C) siendo significativo a partir de la dosis de 10 mg/kg.



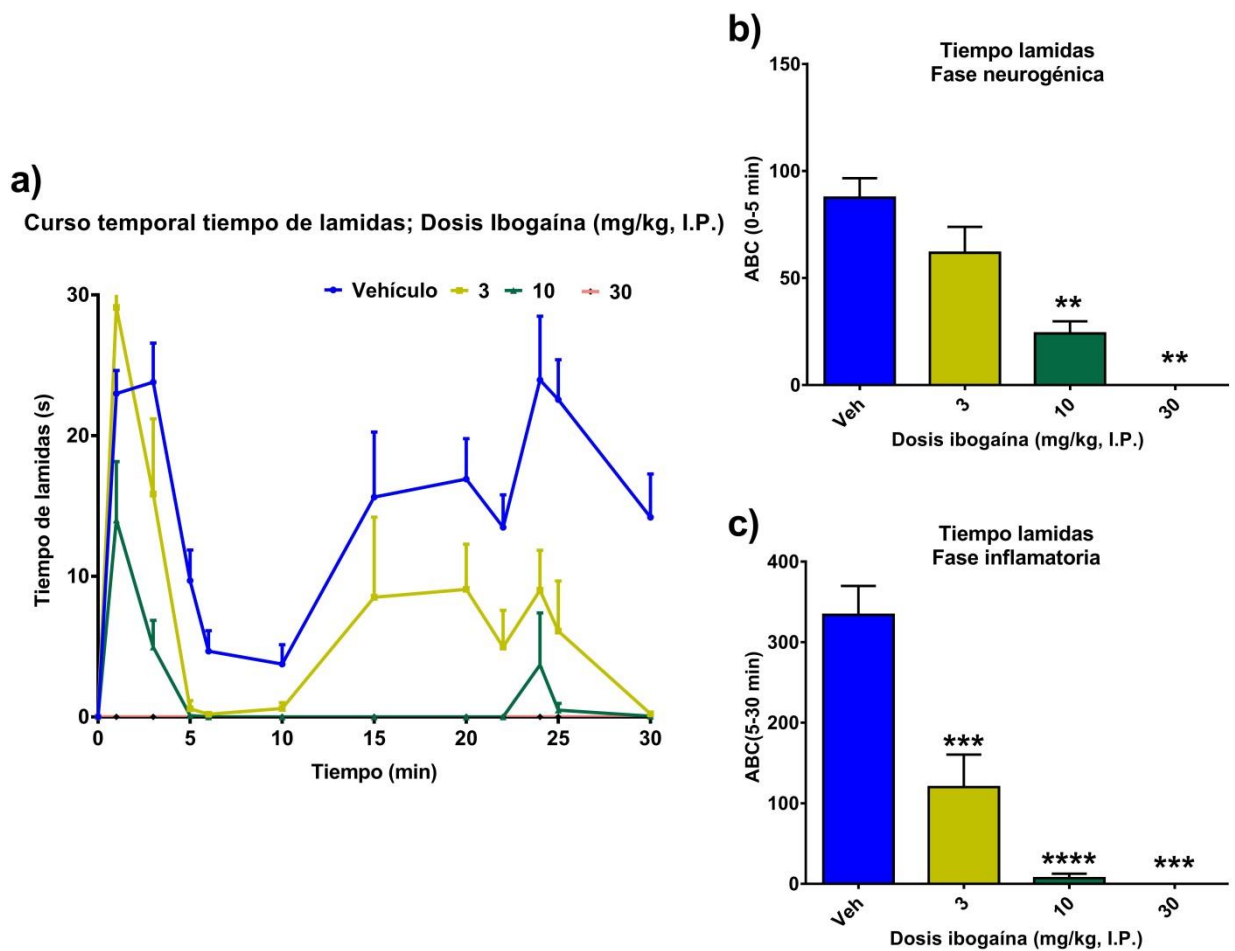
**Figura 17.** (A) Curso temporal del número de sacudidas como respuesta nociceptiva de animales tratados con vehículo y extracto crudo de *T. arborea* (T12) en las diferentes dosis (3, 10, 30 mg/kg, vía i.p.), (B) Área bajo la curva de la conducta de sacudidas en la fase neurogénica y (C) Área bajo la curva de la conducta de sacudidas en la fase inflamatoria en la prueba de la formalina en ratones. ANADEVIA de una vía seguida de la prueba post-hoc de Dunnett, \*\*P<0.01 vs Veh y diferentes dosis del metabolito activo

### 6.4.2 Comportamiento de lamer y tiempo invertido en lamer

El tiempo invertido en lamer refuerza que el ibogaína reduce la conducta dolorosa durante todo el curso temporal (Fig. 18A y 19A). Este efecto se observó significativo desde la dosis de 10 mg/kg en la fase neurogénica (Fig. 18B y 19B) y desde la dosis de 3 mg/kg en la fase inflamatoria. Las dosis de 10 y 30 mg/kg inhibieron totalmente esta conducta (Fig. 18C y 19C).



**Figura 18. (A)** Curso temporal del número de lamidas como respuesta nociceptiva de animales tratados con vehículo y extracto crudo de *T. arborea* (T12) en las diferentes dosis (3, 10, 30 mg/kg, vía i.p.), **(B)** Área bajo la curva de la conducta de lamidas en la fase neurogénica y **(C)** Área bajo la curva de la conducta de lamidas en la fase inflamatoria en la prueba de la formalina en ratones. ANADEVIA de una vía seguida de la prueba post-hoc de Dunnett, \*\* $P < 0.01$  vs Veh y diferentes dosis del metabolito activo.



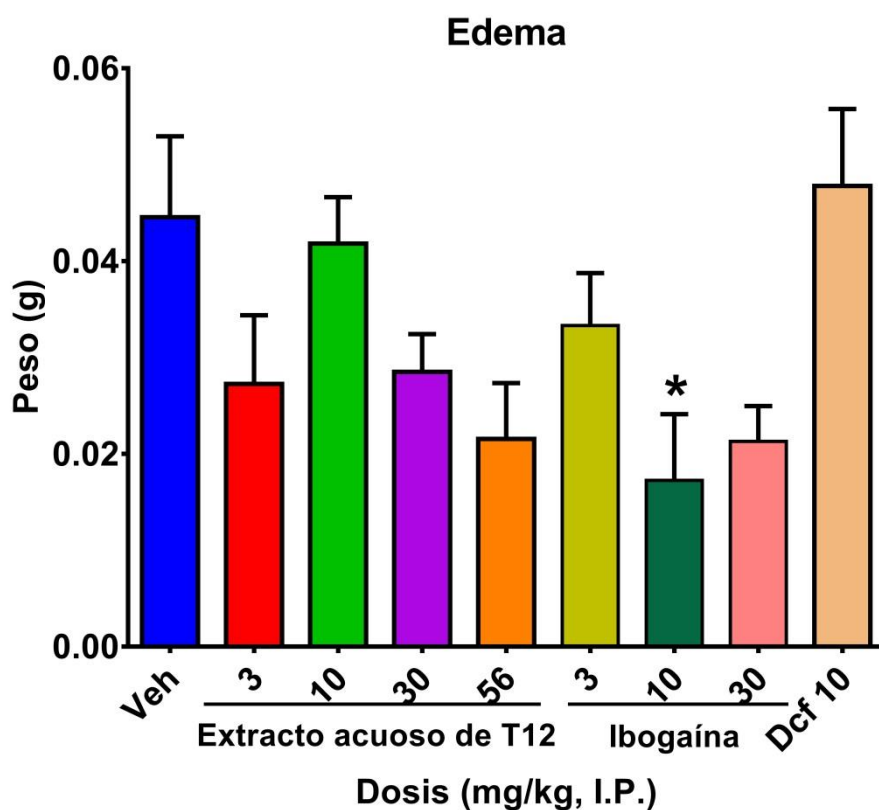
**Figura 19. (A)** Curso temporal del tiempo que invierten en lamer como respuesta nociceptiva de animales tratados con vehículo y extracto crudo de *T. arborea* (T12) en las diferentes dosis (3, 10, 30 mg/kg, vía i.p.), **(B)** Área bajo la curva del tiempo que invierten en lamer en la fase neurogénica y **(C)** Área bajo la curva del tiempo que invierten en lamer en la fase inflamatoria en la prueba de la formalina en ratones. ANADEVIA de una vía seguida de la prueba post-hoc de Dunnett \*\* $P < 0.01$  vs Veh y diferentes dosis del metabolito activo.

## 6.5 Formación de edema

La actividad antiinflamatoria del extracto polar de *T. arborea* y de la ibogaína se determinó con el peso de las extremidades inferiores de los ratones tratados. Este efecto se comparó con el producido por un fármaco de referencia (diclofenaco).

Tanto el extracto polar de *T. arborea* como la ibogaína disminuyeron la inflamación en todas las dosis utilizadas en comparación al grupo de ratones control y grupo tratado con el fármaco de referencia (Dfc) (Fig. 20). Sin embargo, este efecto

se observó significativo específicamente en la dosis de 10 mg/kg del metabolito activo.

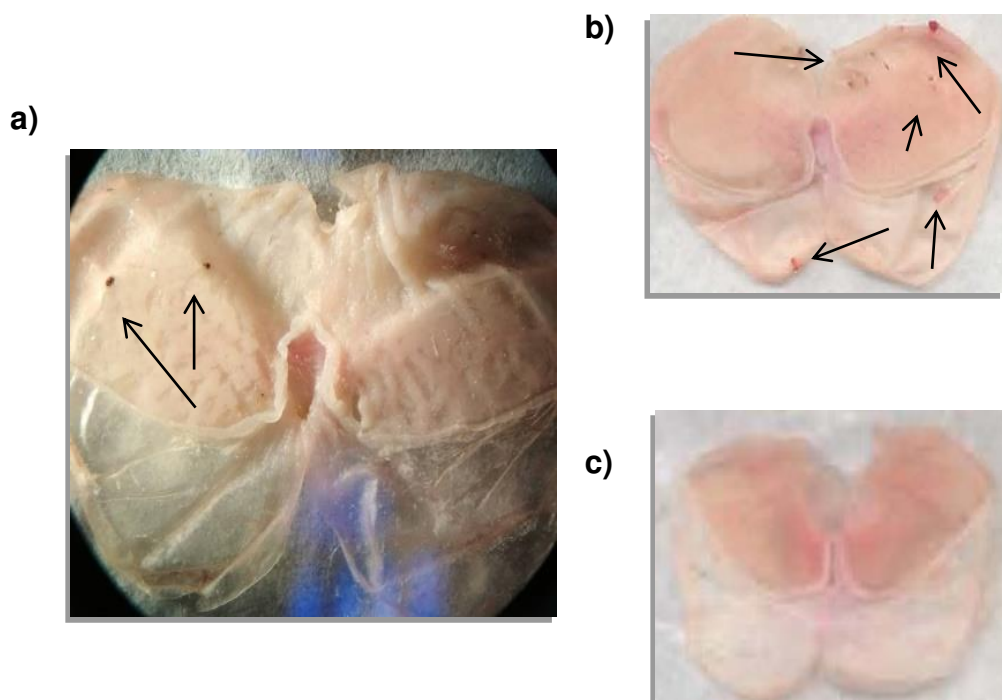


**Figura 20.** Presencia de edema en los diferentes grupos de ratones.

### 6.6 Daño gástrico

En la figura 21 se presenta el daño gástrico de tres ratones (indometacina 30 mg/kg, extracto de *T. arborea* 30 mg/kg y diclofenaco como fármaco de referencia 10mg/kg vía i.p.) evaluado mediante la escala de Marhuenda y Gamborni (Mamani, 2017). En el daño sobre la mucosa gástrica se observó que el ratón con el fármaco de referencia (b) (diclofenaco 10 mg/ kg) presenta un elevado grado de daño (grado 3), mientras que el ratón de indometacina (a) presenta daño menor pero visible (grado 1). Por otro lado, el ratón con T12 30 mg/kg (c) presentó una disminución altamente significativa vs el ratón de diclofenaco, pues no presentó daño en la mucosa gástrica (grado 0).





**Figura 21.** (A) Mucosa gástrica del ratón control (indometacina 30 mg/kg) muestra úlceras menores a 2 mm, (B) mucosa gástrica de ratón con fármaco de referencia (diclofenaco 10 mg/kg) muestran úlceras rojas hemorrágicas iguales a 2 mm de diámetro y edema y (C) mucosa gástrica del ratón T12 30 mg/kg no presenta ninguna úlcera.

## 7. Discusión

La meta de este estudio fue la de evidenciar el efecto farmacológico del extracto de *T. arborea* y de su metabolito secundario, la ibogaína (Krengel *et al.*, 2016; Kingston, 1978) sobre la nocicepción en un modelo de tipo nociceptivo-inflamatorio, el cual nos permitió evaluar su actividad a nivel central y periférico. Las conductas inducidas en los modelos de ratones utilizados en este estudio, se vieron reducidas significativamente después de la administración del extracto de *T. arborea*, principalmente en la fase inflamatoria, indicando con ello su actividad como analgésico y antiinflamatorio (Bordés, 2010). De hecho, se observó un efecto dependiente de la dosis utilizada.

A nivel central se sabe que la activación directa de las neuronas sensoriales aferentes primarias está involucrada. La inyección local en la extremidad posterior derecha del ratón produce la activación de fibras C (activando los receptores TRPA1, un receptor transitorio que está altamente expresado en una subpoblación de nociceptores de estas fibras) y A $\delta$ , que se observa en las conductas en un curso temporal como respuesta nociceptiva de los ratones en los primeros 10 min (Cendán, recuperado 2019; McNamara, 2007). Aunque en estos experimentos no

se observaron efectos estadísticamente significativos en la fase central, los ratones administrados con el extracto de *T. arborea* se evaluaron para descartar el posible efecto sedante, mediante la prueba de campo abierto. El extracto de *T. arborea* no redujo la actividad ambulatoria, contrario al fármaco de referencia (Trm) que se sabe que es un agonista parcial opioide que puede generar efectos de tipo sedante (Garau, 1985; Polanco, 2011). Lo anterior permitió corroborar que no existe un efecto sedante o la posible acción central en el efecto del extracto en los ratones que produzca el efecto adverso de sedación, incluso en las dosis más altas que se probaron (30 mg/kg y 56 mg/kg) y que previamente en trabajos anteriores han sido demostradas (Krengel *et al.* 2016; 2018). Si bien el extracto no produjo efecto a nivel central, la ibogaína si lo manifiesta al disminuir significativamente la conducta nociceptiva en esta fase. No obstante, tampoco se presentó una reducción en la actividad ambulatoria, evaluada en la prueba de campo abierto.

A nivel periférico se reflejan los efectos combinados de la entrada aferente y la sensibilización central en el asta dorsal que induce la respuesta conductual a un tipo de dolor moderado del animal y tónico generado por la liberación de aminoácidos excitatorios en la médula espinal capaces de sensibilizar a las neuronas nociceptoras del asta dorsal de la sustancia gris medular (Cendán, recuperado 2019), entre otros mediadores que forman la llamada sopa inflamatoria. Con la finalidad de conocer la participación de algunos receptores inhibidores del dolor, tal como los receptores de opioides, se utilizó la naloxona como un antagonista no selectivo de éstos, (Nava, 2015; Villarejo, 2000). Se sabe que los receptores de opioides son de importancia en la inhibición del dolor, porque actúan en la vía inhibitoria ascendente y descendente de la precepción de la nocicepción (Cendán, recuperado 2019; Villarejo, 2000). Otro de los receptores de importancia para el alivio del dolor, es el receptor 5-HT<sub>1A</sub>. Este receptor bloquea la actividad de las neuronas multirreceptivas de la médula espinal, en la primera fase para inducir la inhibición monoaminérgica, lo que aumenta la neurotransmisión de este sistema, dando un efecto antidepresivo y antinociceptivo (Chávez, 2008). El WAY100635 utilizado como antagonista de los receptores a serotonina 5-HT<sub>1A</sub> también se ha asociado con inhibición dopaminérgica. Por lo cual, este receptor también podría estar involucrado en los mecanismos de inhibición del dolor en el efecto del extracto de *T. arborea* (Bahena, 2000; Falzone, 2002).

En este estudio fue posible identificar y evaluar a la ibogaína, un metabolito del extracto de *T. arborea*. Este metabolito, produjo la disminución de las conductas nociceptivas de manera significativa en las dos fases del modelo de formalina en una manera dosis-dependiente, empezando por la dosis más pequeña evaluada. Este resultado indica que la ibogaína es en parte de los responsables de la actividad antiinflamatoria y antinociceptiva del extracto y que su naturaleza es alcaloide (González, recuperado en 2019; Krengel *et al.*, 2016; Krengel, 2018) En un futuro será de interés realizar la evaluación de su participación en los mecanismos

explorados para el extracto, con el fin de conocer si su potencial antinociceptivo, es mediado por receptores opioides, serotoninérgicos y dopaminérgicos.

Dado que tanto el extracto de *T. arborea* como la ibogaína, presentaron actividad antiinflamatoria, se esperaba que los tratamientos pudieran causar como efecto adverso, daño gástrico, ya que es bien conocido como uno de los efectos adversos por excelencia que se presenta con el uso de analgésicos y antiinflamatorios principalmente de los AINEs (Batlouni, 2010). Sin embargo, este daño no se observó morfológicamente con el tratamiento de ambos utilizados en dosis de 30 mg/kg. Lo anterior, indica que la *T. arborea* y la ibogaína tienen potencial terapéutico como analgésicos, ya que producen el efecto benéfico del alivio del dolor sin producir lesiones sobre la mucosa gástrica, como las que se producen con la terapéutica clínica actual.

Los hallazgos de este estudio demuestran que el extracto de *Tabernaemontana arborea* y su metabolito activo poseen propiedades antinociceptivas y aporta evidencia del uso etnomédico que se le da a esta especie en la medicina tradicional del sur de México y Centro América (Naturalista, recuperada en 2019).

## **8. Conclusión**

Los resultados de este proyecto demuestran que el extracto polar de *Tabernaemontana arborea* posee propiedades analgésicas que se producen por su acción a nivel central y periférica, sin producir efectos sedantes y gástricos observados con los fármacos de uso clínico.

Su mecanismo de acción es a través de las rutas de señalización mediadas por los receptores de opioides y de monoaminas. Con este estudio se evidencia el potencial terapéutico de esta especie medicinal para el alivio del dolor y se refuerza su uso tradicional como calmante del dolor, que le han adjudicado los usuarios de la medicina alternativa.

## **9. Recomendaciones**

Continuar con la investigación de *Tabernaemontana arborea* para encontrar la dosis efectiva teniendo los mínimos efectos adversos o evitarlos en su totalidad, así como continuar investigando otros posibles efectos terapéuticos.

Conocer el posible mecanismo de acción de su metabolito activo (ibogaína) y otra aplicación en la medicina.

Conocer el efecto antinociceptivo de otras plantas pertenecientes a la familia Apocynaceae y sus metabolitos bioactivos.

## 10. Bibliografía

1. Alarcón, N. (2013). Evaluación del efecto ansiolítico-sedante de Salvia en modelos experimentales en ratones. *Informe de actividad de Servicio Social. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco*, 1-32.
2. Almaguer, G., Bautista, M. & Montejano, J. (Recuperado en 2019). Ibogaína, ¿Una oportunidad para los adictos? *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, 1.
3. Arranz, A *et al.* (1999). Tratamiento del dolor. *Revista Iberoamericana de Fisioterapia y Kinesiología*, 2, 117-191.
4. ArthritisFoundation. (Recuperado 2019). ¿Qué es la inflamación? <https://www.arthritis.org/espanol/laartritis/preguntas-frecuentes/pfinflamacion/>
5. Bahena, R., González, J. & Arias, J. (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Revista Biomédica*, 11 (1), 39-60.
6. Barrett, K., Barman, S., Boitano, S., & Brooks, H. (2010). Dolor y temperatura. *Ganong, Fisiología Médica*. China: McGraw-Hill. 167-180.
7. Batlouni, M. (2009). *Antiinflamatorios No Esteroides: Efectos Cardiovasculares, Cerebrovasculares y Renales*. 09 de enero de 2019, de Instituto Dante Pazzanese de Cardiología Sitio web: [http://www.scielo.br/pdf/abc/v94n4/es\\_v94n4a19.pdf](http://www.scielo.br/pdf/abc/v94n4/es_v94n4a19.pdf)
8. Bautista, S. (2014). Epidemiología del dolor crónico. *Archivos en Medicina Familiar*, 16, 69-72.
9. Blyth, F., Marc, L. (2001). Dolor crónico en Australia: un estudio de prevalencia. *Dolor*, 89, 129-134.
10. Bordés, R. (2010). El proceso inflamatorio. *Departamento de Enfermería y Fisioterapia, Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud*, 1-4.
11. Cantabria, U. (2010). Método de integración aproximada. *Fundamentos de Teoría del buque*, 1-19.
12. Cendán, C. (Recuperado en 2019). Estudios experimentales en dolor agudo e inflamación: el modelo de la administración intraplantar de formalina en el ratón. *Departamento de Farmacología e Instituto de Neurociencias, Facultad de Medicina, Universidad de Granada*, 103-111.
13. Ceveró, F. & Laird, J. (2002). Tratamiento del dolor. *Fisiología del dolor*, 9-25.
14. Chanchal, R., Balasubramaniam, A., Sayyed, R. (2014). Extracto de hojas de *Tabernaemontana divaricata* exacerba el comportamiento de enterramiento en ratones. *Avicenna J Phytomed*, 5, 282-285
15. Chaparro, L., Calvache, J., Arbalaéz, L. (2010). Coadyuvantes analgésicos en dolor por cáncer. Utilización de la herramienta de preguntas clínicas de PubMed. *Cirugía y Cirujanos*, 78, 189-194.
16. Chávez, E., Ontiveros, M. & Serrano, C. (2008). Los antidepresivos inhibidores selectivos de recaptura de serotonina (ISRS, ISRS-5HT). *Salud Mental*, 31(4), 307-319.
17. Covarrubias, A. (2010). Epidemiología del dolor crónico en México. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 33, 207-212.
18. Del Arco, J. (2015). Fisiopatología, clasificación y tratamiento farmacológico. *Farmacia Profesional*, 29 (1), 36-43.

19. Dubuissou, D. & Dennis, S. (1977). The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*, 4 161-174
20. Falzone, T. (2002). Estudio de la función del receptor dopaminérgico D<sub>4</sub> en el sistema nervioso central a través del análisis de ratones modificados genéticamente. *Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires*, 8-199.
21. Faruq, M *et al.* (2018). "Central Nervous System Depressant Effects of the Methanolic Leaves Extracts of *Tabernaemontana divaricata*. *International Journal of Medicinal Plants and Natural Products (IJMPNNP)*, 4, 1-7.
22. Ferrandiz, M. (Recuperado en 2019). Fisiopatología del dolor. *Unidad del dolor. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona*, 1-14.
23. Flores, J. (2004). Fármacos y dolor. *Fundación Instituto Uppsala del Dolor*, 84, 35-68.
24. Gamberini, M *et al.* (1991). Inhibition of gastric secretion by a water extract from *Baccharis trirpera*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 86, 137-9
25. Garau, A. (1985). Fiabilidad de las conductas de campo abierto. *Revista Latinoamericana de Psicología*, 17 (3), 329-337.
26. García, F. (Recuperado 2019). Tipos de dolor. *Asociación Peruana Para el Estudio del Dolor*, 1-7.
27. García, P. (2008). Inflamación. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas Física Natural*, 102, 91-159.
28. Garrote, A., Bonet, R. (2003). El papel de los AINE en el tratamiento analgésico. *Educación Farmacéutica*, 22, 56-62.
29. Gómez, A. (2008). Farmacoterapia del dolor oncológico. Analgésicos y coadyuvantes. *Farmacia Profesional*, 22, 44-49.
30. González, B., Rodríguez, P. & Carrera, I. (Recuperado en 2019). Síntesis enantioselectiva de derivados de ibogaína. *Facultad de Química*, 1.
31. González, E., Cerros, R. (2015). La familia Apocynaceae (Apocynoideae y Rauvolfioideae) en el Estado de Morelos, México. *Acta Botanica Mexicana*, 110, 22,23.
32. González, K. (2006). Propuesta didáctica para la Estimación del Error en el Método de los Trapecios. Facultad de Humanidades y Educación. *Universidad Central de Venezuela*, 15-38.
33. Gutstein H., Akil, H. (2007). Analgésicos opioides. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. Undécima edición, McGrawHill Interamericana. México, 547.
34. Hunskaar, S., Bernt, O., & Hole, K. (1985). Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *Journal of Neuroscience Methods*. 14, 69-76.
35. Ibáñez, S., Morales, C., A. Calleja, M., & J. Moreno, P. (Recuperado en 2019). Terapéutica: Tratamiento del dolor. *Formación continuada para Farmacéuticos de Hospital*, 2, 120-147. Sitio web: <http://www.ub.edu/legmh/capitols/ibanyez.pdf>
36. Ibarra, E. (2006). Una Nueva Definición de "Dolor": Un Imperativo de Nuestros Días. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 13(2), 65-72. Recuperado en 09 de enero de 2019, de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S113480462006000200001&lng=es&tlng=pt](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113480462006000200001&lng=es&tlng=pt).

37. INBio. (2013). *Tabernaemontana arborea*. Recuperado 2019. *Naturalista*. Sitio web: <https://www.naturalista.mx/taxa/284456-Tabernaemontana-arborea>
38. Kavaliers, M. (1988). Evolutionary and comparative aspects of nociception. *Brain Research Bulletin*, 21(6), 923-931.
39. Ken F. (2019). *Tabernaemontana arborea*. Plantas Tropicales Útiles. De Plantas Tropicales Base de datos., [tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Tabernaemontana+arborea](http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Tabernaemontana+arborea)
40. Kingston, D. (1978). Plant anticancer agents VI: Isolation of voacangine, voacamine, and epivoacorine from *Tabernaemontana arborea* sap. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 67, 271-272.
41. Kotsias, B. (2002). El dolor. *Medicina*, 62, 95-98.
42. Krengel, F., Chevalier, Q., Dickinson, J., Herrera, J., Reyes, R. (2018). Metabolite profiling of antiaddictive alkaloids from four Mexican *Tabernaemontana* species and the entheogenic African shrub *Tabernanthe iboga* (Apocynaceae). *Submitted*.
43. Krengel, F., Herrera, J., Olivera, T., Chávez, V., Pérez, F., Reyes, R. (2016). Quantification of anti-addictive alkaloids ibogaine and voacangine in *in vivo*- and *in vitro*-grown plants of two Mexican *Tabernaemontana* species. *Chemical and Biodiversity*, 13, 1730-1737.
44. Lee, Y., Mollison, K. & Cheng, W. (1971). The effects of anti-ulcer agents on indomethacin-induced gastric ulceration in the rat. *Archives Internationales Pharmacodynamie et de Therapie*, 192.
45. Lewis, T. & Kellgren, J., (1939). Observations relating to referred pain, visceromotor reflexes, and other associated phenomena, *Clin. Sci.*, 4. 47-71
46. Mamani, C. (2017). Evaluación del efecto antiulceroso y toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico al 70% de la corteza de *Triumfetta bogotensis* (rata-rata) en animales de experimentación. *Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco*, 49-78
47. Martínez, A. (2015). Herbolaria mexicana para el tratamiento del dolor. *Ciencia*, 66, 66.
48. McNamara, C. (2007). TRPA 1 mediante formalin-induced pain. *Hydra Biosciences, Inc.* 104 (33), 13525-13530.
49. Medline Plus. (2019). Indometacina. Recuperado en 2019, de *American Society of Health-System Pharmacists, Inc.* Sitio web: <https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/meds/a681027-es.html>
50. Mendoza, N., de León, J. & Figueroa, J. (2005). Herbolaria. *Revista de la Facultad de Medicina, UNAM*, 48(6), 248-250.
51. Merchán, B. (2010). Analgesia preventiva con Ketoprofeno-levobupivacaina en colecistectomía laparoscópica comparada con el efecto de su administración posoperatoria. *Facultad de Ciencias Médicas*. Maestría en investigación de la Salud, 13-22
52. Millan, M. (1999). The induction of pain: an integrative review. *Progress in Neurobiology*, 57(1), 1-164.
53. Morales, J. (2009). The family Apocynaceae (Apocynoideae, Rauvolfioideae) from Guatemala. *Darwiniana*, 47, 140-184.
54. Moreno, C., Prada, D. (2004). Fisiopatología del dolor clínico. *Asociación Colombiana de Neurología*, 10-21.

55. Mullady, D *et al.* (2001). Type of pain, pain-associated complications, quality of life, disability and resource utilisation in chronic pancreatitis: a prospective cohort study. *National Institutes of Health*.60 (1), 77-84.
56. Muriel, C. (Recuperado en 2019). Bases de Fisiología y Fisiopatología del Dolor (Neuroanatomía, neurofisiología). *Máster del Dolor, modulo 2*, 2-36.
57. Naturalista. (Recuperada en 2019). *Tabernaemontana arborea*. Sitio web: <https://www.naturalista.mx/taxa/284456-Tabernaemontana-arborea>
58. Nava, M *et al.* (2015). Usos terapéuticos potenciales de los antagonistas opioides: Fisiopatología y evidencia preclínica. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 44(3), 322-358.
59. Núñez, L. (2014). Efectos antinociceptivo y antiinflamatorio de los frutos de *Cassia fistula* Linn (Fabaceae). *Informa de actividades de Servicio Social. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco*, 21-27
60. Ortega, A., Roca, A. & Micó, A. (2002). Modelos animales de dolor. Una visión crítica. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 9, 447-453.
61. Pedrajas, J., Molino, A. (2008). Bases neuromédicas del dolor. *Clínica y Salud*, 19, 277-293.
62. Peña, A., Paco, O. (2007). Medicina alternativa: intento de análisis. *Anales de la Facultad de Medicina*, 1025, 87-96.
63. Pérez, R. (2008). *Tabernaemontana arborea*, de Centro de Ciencias Forestales del Trópico. Recuperado en 2019. Sitio web: <http://ctfs.si.edu/webatlas/findinfo.php?leng=spanish&specid=812>.
64. PLM. (2016). Diclofenaco. Recuperado en 2019, de *Medicamentos PLM*. Sitio web: [http://www.medicamentosplm.com/home/productos/deflox\\_gotas/115/101/7161/74](http://www.medicamentosplm.com/home/productos/deflox_gotas/115/101/7161/74)
65. Polanco, L., Vargas, C. & G, M. (2011). Modelos animales: Una revisión desde tres pruebas utilizadas en ansiedad. *Suma Psicológica*, 18, 141-148.
66. Puebla, F. (2005). Dolor. Tipos de dolor y escala terapéutica de la O.M.S. Dolor iatrogénico. *Oncología Radioterápica*, 28, 33-34.
67. Rang, H *et al.* (1994). Nociceptive peripheral neurons: celular properties, In. *Textbook of Pain*, 3<sup>rd</sup> Ed, Edinburgh, 57-78.
68. Ríos, J. (1996). Capítulo III: Inflamación y Reparación. *Tomo I Patología Especial*, 29-46.
69. Romera, E., Perena, J., Perena, F. & Rodrigo, D. (2000). Neurofisiología del dolor. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 7(1), 12.
70. Rose en Donn. (1893). *Tabernaemontana arborea*. Recuperado en 2019. *Smithsonian Tropical Research Institute*. 18. 206. Sitio web: <https://biogeodb.stri.si.edu/biodiversity/species/25509/>
71. Rujjanawate, C *et al.* (2005). Anti-gastric ulcer effect of *Kaempferia parviflora*. *Journal of Ethnopharmacology*, 102, 120-122
72. Sabiu, S *et al.* (2015). Indomethacin-induced gastric ulceration in rats: Protective roles of *Spondias mombin* and *Ficus exasperata*. *Toxicology Reports*, 2, 261-267.
73. Sáez, M *et al.* (2016). Tratamiento del dolor en el anciano: opioides y adyuvantes. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 23, 93-104.

74. Sayanti, B *et al.* (2007). Healing properties of some Indian medicinal plants against indomethacin-induced gastric ulceration of rats, *Journal Clinical Biochemistry Nutrition*, 41, 106–114.
75. Segovia, UCPD. (Recuperado en 2019). Dolor, definición y clasificación. *Ciclo Formativo*, 1-58.
76. Tjølsen, A *et al.* (1992). The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, 51(1), 5-17.
77. Torre, F *et al.* (2007). Analgésicos coadyuvantes en el tratamiento del dolor. *Gaceta Médica Bilbao*, 104, 156-164.
78. Valdivielso, A. (1998). Dolor agudo, analgesia y sedación en el niño (IIIa): Farmacocinética y farmacodinamia de los analgésicos opioides. *Anales Españoles de Pediatría*, 48, 429-440.
79. Villalba, E. (2014). Inflamación I. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 43, 2261-2262.
80. Villarejo, M., Murillo, J. & Alvarado, H. (2000). Farmacología de los agonistas y antagonistas de los receptores opioides. *Educación e Investigación Clínica*, 1, 106-137.
81. Woolf, C. (2004). Pain: Moving from Symptom Control toward Mechanism-Specific Pharmacologic Management. *Annals of Internal Medicine*, 140, 441–451.
82. Zamora, N. Jiménez, Q. & Poveda, L. (2000). Árboles de Costa Rica Vol II. *Centro Científico Tropical, Conservación Internacional & Instituto Nacional de Biodiversidad*. Ed. INBio. 374 p.



### **Agradecimientos**

A la doctora María Eva González Trujando por permitirme formar parte de su equipo de investigación, por todo el conocimiento, las palabras de aliento, motivación y la infinita paciencia que me brindó durante todo este tiempo. Le agradezco por todo el apoyo en el laboratorio y en la participación en los congresos.

Al doctor Alberto Hernández León por hacer del laboratorio un ambiente muy agradable para trabajar, por el apoyo durante todo mi estancia.

A la doctora Marisa Cabeza Salinas por darme el tiempo y espacio para poder culminar mi servicio social.

Al Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz” por dejarme realizar mi servicio social en sus instalaciones. A la UAM-Xochimilco por brindarme los conocimientos necesarios para poder llevar a cabo esta investigación.

### **Dedicatorias**

A mis padres, Marcos y Patricia, por su infinito apoyo durante todos mis años de estudio, por su maravillosa manera de criarme y guiarme moral y académicamente, por su paciencia para conmigo, por siempre tener las palabras adecuadas para no rendirme y seguir luchando por lo que tanto amo. Por eso y más les amo infinitamente mamá y papá.

A mis hermanos Jazibee y Brandon, por hacer de este viaje menos rígido, por su apoyo siempre incondicional.

A mi abuelita Eva y tío José, por abrirme las puertas de su hogar sin condición, por defenderme y creer siempre en mí. Un beso hasta el cielo abue.

A la persona que siempre me impulso para seguir mi sueño, Irving. Por todo el apoyo que me diste antes y durante esta travesía, por las palabras de aliento, las risas y los buenos momentos.

A mis amigos y colegas Nayelli, Yanet y Antonio, por los increíbles momentos que pase a su lado en la universidad, por siempre estar ahí cuando los necesitaba, por todas las palabras de apoyo, los abrazos y su conocimiento en la escuela y en la vida. Les quiero mucho.

A todos y cada uno de las personas que estuvieron apoyándome sinceramente.



**Universidad Autónoma Metropolitana- Unidad Xochimilco  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Licenciatura Química Farmacéutica Biológica**

**Resumen del informe de Servicio Social**

**Efecto analgésico de *Tabernaemontana arborea* en el dolor  
neurogénico e inflamatorio de ratones**

como requisito para obtener el grado de Química- Farmacéutica-Biológica

**Proyecto genérico correspondiente:**

Evaluación de productos relacionados con la salud

**Lugar de realización**

Laboratorio de Neurofarmacología de Productos Naturales en el Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz"

**Fecha de inicio y terminación:**

Del 02 de octubre de 2018 al 03 de mayo de 2019

**Alumna**

Jessica Monserrat Puentes Guerrero  
Número de matrícula: 214025836

**Asesores**

Interno: Dra. Marisa Cabeza Salinas. Profesor Titular del Departamento de Sistemas Biológicos. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. No. económico: 2683

Externo: Dra. María Eva González Trujano. Investigador en Ciencias Médicas "E" (No. trabajador: 1033). No. de cédula profesión: 2057150

**Beca de CONACYT No. 28957**

**Mayo-2019**

## Resumen

### Introducción

El dolor es una señal de alarma para proteger al organismo y aumentar la supervivencia del individuo. Éste puede originarse por diferentes causas por lo que se ha clasificado en nociceptivo e inflamatorio, entre los más comunes. Se ha sugerido que este problema de salud afecta del 25 al 29% de la población general a nivel internacional. Algunos fármacos analgésicos usados para su alivio a veces no son del todo eficaces y generan diferentes efectos adversos promoviendo la investigación de mejores alternativas cuya opción pueden ser los productos naturales de las plantas medicinales.

### Objetivos

En el presente estudio se evaluó la actividad analgésica del extracto polar de *Tabernaemontana arborea* en las fases neurogénica e inflamatoria de la prueba de la formalina en ratones.

### Métodos

Ratones SW (machos, n=6) fueron sometidos previamente a la prueba de campo abierto para descartar efectos ansiolíticos y/o sedantes del extracto. Los ratones recibieron diferentes dosis del extracto y de ibogaína que fueron comparados con los efectos de *Tramadol* (analgésico parcialmente opioide) y *diclofenaco* (antiinflamatorio no esteroideo) en la prueba de la formalina al 1%. El agente nociceptivo se administró vía intraplantar para generar conductas nociceptivas de sacudida, lamida y tiempo invertido en lamer, medidas en un min/cada 5-min durante 30 min. Ratones SW (hembras) se les administró indometacina o el extracto y diclofenaco, 4 h después los estómagos se disecaron para evaluar la posible presencia de daño gástrico.

### Resultados

La actividad locomotriz no se modificó en comparación con el control, lo que sugiere que el extracto no produce efectos ansiolíticos y/o sedantes en las dosis utilizadas. Del curso temporal de las respuestas nociceptivas se determinó la diferencia antinociceptiva significativa, tanto del extracto como de ibogaína, la cual fue equivalente al fármaco de referencia. El efecto del extracto fue bloqueado parcialmente por un antagonista opioide, antagonista del receptor 5-HT<sub>1A</sub> y D<sub>4</sub> sugiriendo la participación de todos estos receptores. El extracto no produjo daño gástrico como el efecto adverso observado con el analgésico diclofenaco e indometacina.

### Conclusión

*Tabernaemontana arborea* posee propiedades analgésicas, sin producir efectos sedantes y gástricos observados con los fármacos de uso clínico, sugiriéndolo como terapia alternativa para el alivio del dolor.