



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

Evaluación del efecto antinociceptivo de un extracto metanólico de *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck en un modelo animal de dolor visceral.

TESIS

Que para obtener el título de Químico Farmacobiólogo

PRESENTA

Dalia Angélica Castro Vidal

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Iván Córdova Guerrero
Laboratorio de Química de Productos Naturales Bioactivos
Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería,
Universidad Autónoma de Baja California
Tijuana, Baja California

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

Durante el camino académico y personal han estado conmigo personas brindándome su apoyo incondicional en momentos difíciles y celebrando conmigo los logros, ahora es uno de esos momentos es por ello que dedico un espacio de este trabajo a esas personas.

A Dios

Por haberme bendecido toda mi vida, por la familia, amistadas y maestros que han estado a mi lado siendo un apoyo, modelo a seguir y un facto importante para no cesar. Gracias por permitirme llegar a este momento tan importante para mí y mi familia. Gracias por darme la capacidad para llegar a mi meta y subir un escalón en mi vida como profesionista.

A mis padres

Por ser mí soporte, mi guía, por haberme llevado de la mano siempre por el mejor camino en mis primeros años. A mi papá por ser mi ejemplo para nunca dejar se soñar pero saber mantener los pies en la Tierra y llevar paso firme hasta cumplir mi objetivo. A mi mamá por ser un ejemplo de mujer emprendedora, mi confidente, mi mejor amiga, mi todo. Un modelo a seguir, que gracias a ti, a tu esfuerzo he podido alcanzar mis sueños, por estar conmigo siempre para compartir momentos de dicha, angustia y demás, por todas las noches que te has desvelado esperando mi llegada. Gracias por tenderme la mano cuando he necesitado levantarme y elegir las mejores palabras para darme aliento y ánimo. Este logro es fruto de su esfuerzo. Los amo.

A mis hermanos

José y Melissa mi ejemplo de profesionistas que no saben rendirse. Gracias por ser mis dos primeros modelos a seguir. Gracias por ofrecerme su ayuda cuando la he solicitado y por escucharme cuando he necesitado desahogarme. Melissa gracias por tu apoyo económico en la realización de algunos proyectos. José muchas gracias por haberme ayudado tanto con las revisiones y correcciones de este trabajo. En este espacio también quiero agradecer a Jessica y Mario por ser el apoyo de mis hermanos. A los cuatro agradezco por que se que en la nueva etapa que comienzo puedo contar con ustedes. Los quiero mucho.

Primos, tíos, abuelos.

En diferentes momentos cada uno me ha dado una lección de vida. Karen y Leslie que también de ustedes he aprendido tantas cosas, de cómo ser una persona fuerte y no parar. En mi vida he tenido muchos buenos ejemplos para salir adelante, yo quiero ser uno para ustedes, por tal motivo dedico esta tesis a ustedes dos.

A Braulio

Gracias por permanecer a mi lado todo este tiempo, por los momentos que hemos compartido, por tener siempre un consejo, un abrazo de consuelo, una frase que me haga reir, por ayudarme en mis tares y proyectos, también eres un ejemplo de persona emprendedora, contigo he aprendido que si me lo propongo y en realidad lo quiero lo puedo lograr.

Amigos y compañeros de laboratorio

A mis compañeros de laboratorio Teresa, Kissy y José Luis, a los tres gracias por el apoyo brindado dentro y fuera del laboratorio. Mis compañeras y nuevas amigas Mariana y Fabiola, gracias por estar conmigo en esas semanas de mucho trabajo y después de ellas estar conmigo a pesar de la distancia. Gracias por la paciencia y toda la ayuda durante el desarrollo de este trabajo que también es de ustedes. Abigail y Fernanda gracias por estar conmigo estos últimos meses que han sido de tanto trabajo, ambas han sido un fuerte apoyo.

A mis maestros

Dr, Iván Córdova Guerrero gracias por haberme permitido trabajar en su laboratorio, aprender de su experiencia profesional. Gracias por la darme la oportunidad de desarrollar este trabajo bajo su tutela, por creer y confiar en mí.

Dra. Myrna Déciga Campos gracias por haberme permitido trabajar en su laboratorio y por haberme tenido la confianza para abrirme las puertas de su casa. Por mostrarme técnicas de trabajo nuevas para mí, debido a eso descubrí un nuevo interés hacia la investigación científica, “Farmacología del Dolor”. En usted tengo el ejemplo de alguien que disfruta y ama su profesión.

MC Remedios Sánchez Díaz, como encontrar las palabras ideales para agradecer todo lo que ha hecho por mí. Desde sus clases y laboratorios impartidos hasta la revisión de este documento, siempre me ha mostrado el lado positivo de las cosas. Gracias por que en usted tengo un ejemplo de que la mujer se puede desarrollar en el ámbito de la investigación científica. Agradezco que con usted he aprendido que no debo limitarme, por darme fortaleza en momentos de debilidad y saber que puedo encontrar en usted a un buen consejero y a una amiga.

A todos los maestros que directa e indirectamente fueron partícipes de este trabajo. A MC Raúl Romero Rivera, MC Nydia Castillo, MF Mariana Montiel, MCO José María Castro Vidal. A aquellos muy buenos maestros que durante la carrera tuve y por los cuales me he interesado por la investigación por mostrar tanta pasión en su trabajo.

A todos gracias.

ÍNDICE

ÍNDICE

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	i
ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE IMÁGENES	vii
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	7
HIPÓTESIS	10
OBJETIVOS	12
CAPÍTULO I: <i>Artemisia ludoviciana</i> Nutt. ssp <i>mexicana</i> (Willd) Keck	14
Antecedentes	
Generalidades de etnobotánica	15
Generalidades de <i>Artemisia ludoviciana</i> Nutt. ssp <i>mexicana</i> (Willd) Keck	17
Lactonas sesquiterpénicas	19
Material y métodos	
Obtención del extracto metanólico de <i>Artemisia ludoviciana</i> Nutt. ssp <i>mexicana</i> (Willd) Keck	20
Prueba de solubilidad	20
Identificación de compuestos	21
Resultados	
Solubilidad	22
Identificación de grupos de metabolitos secundarios	22
Identificación de compuestos	23
CAPÍTULO II: DOLOR	27
Antecedentes	
Generalidades del dolor	28
Clasificación del dolor	29
Nociceptores	30
Estructuras centrales y vías del dolor	31
Características del dolor	32
Tratamiento farmacológico del dolor	33
Material y métodos	
Actividad antinociceptiva	34

Determinación de la DL ₅₀	38
Discusión de resultados	
Conducta nociceptiva inducida por ácido acético	41
Evaluación del efecto antinociceptivo del EMAL	43
Toxicidad	49
CONCLUSIONES	50
SUGERENCIAS	52
GLOSARIO	54
BIBLIOGRAFÍA	59
ANEXO Espectros	63

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

%AN	Porcentaje de antinocicepción
a. C.	Antes de Cristo
AAINE	Analgésico antiinflamatorio no esteroideo
ABC	Área bajo la curva
ác.	Ácido
AINE	Antiinflamatorio no esteroideo
ANOVA	Análisis unilateral de varianza
CCF	Cromatografía en capa fina
COX	Ciclooxigenasa
COX-1	Ciclooxigenasa 1
COX-2	Ciclooxigenasa 2
DE₅₀	Dosis efectiva media
DL₅₀	Dosis letal media
e. e.	Error estándar
EEUU	Estados Unidos
EMAL	Extracto metanólico de <i>Artemisia ludoviciana</i> Nutt. ssp <i>mexicana</i> (Willd) Keck
Exto.	Extracto
g	Gramo
i. p.	Intraperitoneal
IASP	Asociación internacional para el estudio del dolor
Kg	Kilogramo
LST	Lactona sesquiterpénica
mg	Miligramo
mL	Mililitro
MT	Medicina tradicional
nF-κB	Factor de transcripción
OMS	Organización Mundial de la Salud
PG	Prostaglandina
PGE₂	Prostaglandina E2
ppm	Partes por millón
SNC	Sistema nervioso central
μL	Microlitro

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Solubilidad de EMAL	22
Tabla 2. Marcha fitoquímica de EMAL	23
Tabla 3. Compuestos identificados en EMAL por medio de cromatografías de gases	25
Tabla 4. Diferencia entre el dolor agudo y el dolor crónico	29
Tabla 5. Sustancias liberadas después del daño celular	32
Tabla 6. Efecto de EMAL en el modelo de estiramiento abdominal en ratones	45

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Lactonas sesquiterpénicas presentes en plantas de la familia <i>Compositae</i> con actividad antiinflamatoria	19
Figura 2. Estructura de algunos metabolitos secundarios encontrados en EMAL	24
Figura 3. Curso temporal del efecto antinociceptivo de diferentes dosis de EMAL	44
Figura 4. Efecto antinociceptivo de la administración de EMAL sobre la conducta nociceptiva inducida por ácido acético (0.6%)	46
Figura 5. Comparación del efecto antinociceptivo de EMAL con diclofenaco	47
Figura 6. Toxicidad de EMAL y diclofenaco sódico frente a nauplios de <i>A. salina</i>Tabla	49

ÍNDICE DE IMÁGENES

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1. <i>Artemisia ludoviciana</i> Nutt. ssp <i>mexicana</i> (Willd) Keck	18
Imagen 2. Administración i. p. de ácido acético 0.6% para provocar calambres abdominales	36
Imagen 3. Ambientación de ratones a condiciones de laboratorio	36
Imagen 4. Sistema utilizado para la eclosión de <i>Artemia salina</i>	39
Imagen 5. Conducta característica de dolor abdominal provocado por la inyección i. p. de la solución algésica de ácido acético 0.6%	41

RESUMEN

RESUMEN

El dolor es considerado uno de los síntomas más frecuentes a nivel mundial, para el cual los pacientes buscan tratamiento. Los agentes analgésicos convencionales han desempeñado un rol muy importante en la terapia moderna para el dolor, pero han causado severos efectos secundarios. Es por ello, que la búsqueda de nuevos y mejores agentes analgésicos continúa. *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck es una planta que ha sido utilizada para disminuir síntomas dolorosos y que en reportes de estudios anteriores existe evidencia de que esta planta contiene lactonas sesquiterpénicas, misma que presentan actividad farmacológica antiinflamatoria. El objetivo del presente trabajo fue el de identificar grupos de metabolitos secundarios utilizando métodos específicos de cromatografía en capa fina (CCF), identificar algunos compuestos utilizando un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas, evaluar el efecto antinociceptivo para determinar la DE_{50} del extracto metanólico de *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck (EMAL) en ratones hembra utilizando el modelo de estiramiento abdominal (*writhing test*). Para realizar el trabajo se utilizaron ratones hembra de la cepa Swiss Webster (25-30 g). Los ratones se separaron en diferentes grupos experimentales (n=6 cada uno). Un grupo recibió el vehículo (solución salina) mismo en el que se disolvió EMAL, ocho grupos recibieron diferentes dosis de EMAL (1, 1.41, 1.77, 2.31, 3, 10, 30 y 100 mg/Kg), y cuatro grupos más (referencia) recibieron dosis diferentes de diclofenaco (1, 3, 10 y 100 mg/Kg). Los tratamientos fueron administrados, una sola vez por vía intraperitoneal (i. p). Transcurrido un tiempo necesario después de la administración de EMAL se administró por vía i. p. una solución algésica (ácido acético 0.6%) para provocar estiramiento abdominal y se evaluó el efecto antinociceptivo en el modelo de estiramiento abdominal *Writhing test*. A EMAL se le realizó un bioensayo de toxicidad para el crustáceo de *Artemia salina* para determinar la concentración letal media (CL_{50}). Los quistes de *A. salina*, se pusieron a eclosionar durante 48 horas, pasado este periodo los nauplios se expusieron a diferentes concentraciones de EMAL (10, 100, 1000 PPM), se dejaron en contacto con la disolución durante 24 horas, posterior a este tiempo se realizó el análisis por medio de Probit. Los métodos de revelado específicos de CCF utilizados mostraron que en el EMAL existe la presencia de metabolitos secundarios tales como antronas, aceites esenciales, esteroides, flavonoides y terpenos, después del análisis comparativo de la información obtenida de los espectros resultado de la cromatografía de gases-masas se identificaron 24 compuestos conocidos. En el modelo de

estiramiento abdominal la dosis de 3 mg/Kg de EMAL presentó el mayor efecto antinociceptivo (57.86%) teniendo un efecto 6 veces mayor a la de diclofenaco a la misma dosis (9.11%). Con los resultados obtenidos se concluye que la administración de EMAL reduce el número de estiramientos abdominales, es decir, tiene un efecto antinociceptivo en ratones sometidos al modelo de dolor visceral *writhing test*. Los resultados obtenidos con el EMAL nos indican que *A. ludoviciana* es eficaz, con una CL_{50} alta (46,415.88 ppm), considerándose tener una toxicidad baja. Esto nos permite sugerir que EMAL es un candidato a fitofármaco, dicho en otras palabras, con los estudios realizados a EMAL podemos decir que este extracto puede ser utilizado con fines farmacológicos.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

El dolor es una percepción compleja, relacionada con el estado emocional del paciente, por tal motivo varía mucho de una persona a otra y es difícil de tratar clínicamente. Es también un problema físico, psicológico y social, que puede afectar la conducta normal de una persona.

Tiene una importancia fisiológica ya que avisa la presencia de un estímulo nocivo y permite al individuo protegerse de agresiones del medio externo e interno, pero este aviso puede pasar de ser una alerta para eliminar el estímulo que le está provocando daño y convertirse en una patología, la cual es una de las causas principales por las que un sujeto busque asistencia médica. La comprensión de la fisiología básica de los mecanismos por los cuales es transmitido el dolor ha permitido que se desarrollen algunos tratamientos analgésicos eficaces.

En la actualidad se conoce una gran variedad de fármacos capaces de producir poderosos y selectivos efectos inhibitorios del impulso doloroso, dentro de estos fármacos encontramos a los opioides, anestésicos locales y a los antiinflamatorios no esteroideos (AINE). El paciente que cursa por un estado patológico que le causa dolor y no tiene a su alcance la asistencia médica profesional necesaria ya sea por la ubicación geográfica, por su situación económica o también por que el tratamiento farmacológico prescrito no ha tenido el efecto esperado y/o presenta efectos colateral, por ello, el paciente suele recurrir a la medicina alternativa en búsqueda del tratamiento para disminuir o eliminar el síntoma doloroso.

Es aquí cuando surge el interés por la búsqueda de nuevos agentes medicinales de origen natural capaces de producir analgesia, pues se sabe que muchos compuestos analgésicos han sido descubiertos por la observación empírica. La medicina herbolaria derivada de extractos de plantas medicinales a aumentado el tratamiento de una gran variedad de síntomas y enfermedades, pero, existe relativamente poco conocimiento en cuanto a su mecanismo de acción.

Se sabe que muchos grupos étnicos del país utilizan las plantas para preparar infusiones que después se administran por vía oral o tópica para producir analgesia, por tal motivo cada vez existe un gran incremento en el interés de la evaluación farmacológica de diferentes plantas utilizadas en el sistema tradicional de medicación mexicana.

De ahí el interés del químico farmacobiólogo por conocer las actividades farmacológicas que presentan las plantas por medio de modelos animales como es el modelo de estiramiento abdominal o *writhing test*.

Una de las plantas nativas de México es *Artemisia* Nutt. ssp *mexicana* Keck. *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck (Familia: *Compositae*) que se encuentra distribuida desde el suroeste de Estados Unidos de América hasta Guatemala, dentro de la República Mexicana la podemos encontrar en Baja California, Baja California Sur, Sonora, Sinaloa, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tlaxcala, Durango, Oaxaca y Chiapas. En México se utiliza para el tratamiento de diferentes enfermedades y síntomas dolorosos provocados por padecimientos digestivos como la parasitosis, padecimientos intestinales, cólicos y también para el dolor causado por la gripe, fiebre, tos entre otros.

En el estado de Sonora se vende esta planta para tratar el vómito, en el mismo estado se utiliza la parte aérea de la planta para preparar una infusión que se administra de manera tópica para el tratamiento de hemorroides, para disminuir la inflamación y dolor que provoca.

Existen reportes del aislamiento de diferentes compuestos químicos de *A ludoviciana mexicana*, entre dichos compuestos se encuentran las lactonas sesquiterpénicas, aceites aromáticos esenciales, monoterpenos y flavonoides. Las lactonas sesquiterpénicas son compuestos que poseen diferentes características farmacológicas, una de ellas es antiinflamatoria.

Se conocen ventajas y desventajas en cuanto al uso de la medicina tradicional, una de estas es la toxicidad que presentan los extractos de algunas plantas medicinales utilizadas en México a concentraciones altas e incluso en concentraciones bajas.

Para poder respaldar el uso folklórico que se le da a las plantas y decir si esto es seguro, existe un método sencillo estandarizado conocido como Bioensayo de Toxicidad de *Artemia salina*, mediante este ensayo podemos obtener la concentración letal media (CL₅₀) de plantas fisiológicamente activas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El dolor es una experiencia desagradable sensorial y emocional asociada a una lesión actual o potencial de los tejidos, vivida en cada persona de una manera diferente. Es uno de los síntomas principales y más temidos por los pacientes.

El dolor puede producir graves alteraciones que comprometen la calidad de vida del paciente como físicas, emocionales, psicológicas, sociales, económicas y más, que hasta hoy, el tratamiento principal para el dolor es el farmacológico, en éste son utilizados numerosos grupos de fármacos con propiedades analgésicas, como son los fármacos opiáceos (morfina y la codeína), y los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) (diclofenaco y paracetamol).

Dentro de los fármacos analgésicos que se usan en la actualidad existen fármacos muy eficaces, pero hasta la fecha no existe una terapia ideal debido a que la mayoría de los casos, estos fármacos, presentan efectos secundarios no deseados lo que implica que una buena terapia durante un tiempo prolongado puede causar otros daños al organismo del paciente, además de las interacciones entre otros medicamentos.

Como se sabe el uso de plantas medicinales se ha venido empleando desde tres mil años antes de Cristo (a. C.), sabemos que una gran variedad de especies poseen propiedades analgésicas y antiinflamatorias, debido a la presencia compuestos con los mismos efectos terapéuticos.

Gracias a los antecedentes de la herbolaria indígena de México, tenemos el conocimiento de que la planta *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck conocida como “estafiate” es una hierba a la que se le atribuyen propiedades antiinflamatorias y es utilizada para tratar el dolor abdominal como son los cólicos.

Esto se puede deber a que han sido aislados diferentes lactonas sesquiterpénicas, productos naturales presentes en muchas plantas con actividades farmacéuticas, una de estas actividades, la de mayor relevancia es antiinflamatoria

En este sentido, el estudio del extracto metanólico de *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck (EMAL) en animales sometidos a una inyección intraperitoneal de ácido acético, en el cual se presenta un estímulo doloroso que provoca dolor visceral, no ha sido estudiado.

Por este motivo es que en el presente estudio se evaluó el efecto de EMAL en ratones hembra de la cepa Swiss Webster, sometidos al modelo de estiramiento abdominal (writhing

test), con la finalidad de identificar y respaldar el efecto antinociceptivo, lo cual puede ayudar a la investigación de nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de dolor.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS

La administración intraperitoneal de una solución de EMAL produce antinocicepción,

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antinociceptiva de EMAL.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la solubilidad del EMAL en diferentes solventes.
2. Caracterizar cualitativamente la presencia de algunas familias de metabolitos secundarios importantes en EMAL por medio de CCF y reveladores específicos.
3. Identificar metabolitos secundarios específicos en el EMAL mediante el análisis comparativo de los espectros obtenidos con cromatografía de gases-masas.
4. Evaluar la actividad antinociceptiva inducida por la administración i. p. de EMAL, por medio de un modelo de estiramiento abdominal y determinar la DE₅₀.
5. Evaluar la toxicidad de EMAL, en un bioensayo de toxicidad para *Artemia salina* (TAS) y determinar la CL₅₀.

CAPÍTULO I

***Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck**

ANTECEDENTES

Generalidades de etnobotánica

A lo largo del tiempo, el hombre desde su aparición en la Tierra ha empleado los recursos que tiene a su alcance, uno de los motivos para el cual utiliza los recursos es para la restitución de la salud. Ha encontrado en las plantas, satisfacciones a sus necesidades fundamentales (alimento, abrigo, casa, etc.), pero también ha descubierto que algunas tienen la capacidad de aliviar sus dolencias.¹ La incorporación y utilización de plantas medicinales en el tratamiento de diferentes enfermedades, son prácticas comunes en la medicina tradicional. La etnobotánica surge como disciplina científica en América Latina a partir de las propuestas de Efraím Hernández al inicio de los años 70. La disciplina nace de la combinación de la Botánica y la Antropología.² En muchos casos es una práctica empírica, es necesario que se realicen estudios químicos, clínicos y epidemiológicos para respaldar de manera irrefutable los efectos fisiológicos que presentan las plantas y de los metabolitos secundarios responsables de tal efecto.³ Es notorio que el interés por estudiar las sustancias antiinflamatorias de origen vegetal va en aumento, ya que pueden ofrecer ventajas en relación a los antiinflamatorios utilizados en la clínica, un ejemplo de esto es la baja incidencia de efectos secundarios.⁴ De hecho, el descubrimiento de los primeros fármacos fue el resultado de la interacción de los primeros habitantes con su ambiente. La mayoría de los productos de origen vegetal fueron encontrados al ser disponibles como alimentos, pero otros pudieron haber sido pociones de utilidad medicinal. Las plantas han sido el origen de diversas sustancias terapéuticas durante los siglos. Sin embargo, sustancias terapéuticas como la morfina, ácido salicílico, entre otros fueron aislados hasta el siglo XIX. Numerosas investigaciones hablan de la importancia del aislamiento de moléculas de origen natural,^{5, 6} con el desarrollo de técnicas analíticas y de síntesis, los químicos han modificado las estructuras de sustancias activas en un intento de aumentar su potencia y disminuir los efectos adversos, con el surgimiento de nuevas técnicas de cromatografía en conjunto con técnica de separación, detección y aislamiento

¹ Waizel-Bucay J. Algunas plantas utilizadas popularmente en el tratamiento de enfermedades respiratorias Parte I. 76.

² Estrada E. Plantas medicinales de México. 85.

³ Beyra A. Estudios etnobotánicos sobre las plantas medicinales en la provincia de Camaguey (Cuba).186.

⁴ López-Luengo M. Plantas medicinales antiinflamatorias utilizadas en el tratamiento del reumatismo. 119.

⁵ Butler M. The role of the natural product chemistry in drug discovery.2141.

⁶ Newman D. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. 1022.

han ayudado al descubrimiento de nuevas moléculas de origen natural.^{7,8} Sin embargo, no siempre es necesario aislar un principio activo. Algunas plantas ejercen su efecto como un todo, ya que sus componentes producen sinergismo que conllevan al efecto farmacológico final.

La importancia de la medicina tradicional (MT) no se limita a los países en desarrollo, datos publicados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), mencionan que la MT está creciendo, en África un 80% de la población la utiliza, en Asia y Latinoamérica se usa como resultado de creencias culturales y circunstancias históricas, en China un 40% de la población la utiliza, en países en desarrollo como Australia, Canadá, Estados Unidos, Bélgica y Francia la utilizan por lo menos una vez el 48, 70, 42, 38 y 75 % respectivamente.⁹ Este fenómeno refleja también, en la medicina moderna, que se utilizan cerca de 121 sustancias químicas de origen natural, derivadas todas de 95 plantas diferentes y de las cuales, aproximadamente el 60% son de origen tradicional latinoamericano. En el mercado mundial de la medicina tradicional reporta que en 1997 EEUU tuvo un gasto total de 2,700 millones de dólares, mientras que en Australia, Canadá y Reino Unido el gasto anual en medicina alternativa fue de 80, 2,400 y 2,300 millones de dólares respectivamente.¹⁰

La medicina tradicional está ampliamente distribuida en México y una gran parte de la población recurre a ella. México es uno de los cinco países con mayor diversidad vegetal a nivel mundial, con más de 30,000 especies, ocupando el segundo lugar con 3,359 especies con uso medicinal. El 99% de la herbolaria mexicana está basada en plantas silvestres autóctonas¹¹. Existe amplia documentación del uso de las plantas medicinales que se utilizan, sin embargo, muy pocas son las especies que se han estudiado científicamente. México cuenta con una gran riqueza y tradición ancestral en el uso de plantas medicinales y se estima que en la actualidad alrededor de 3,000 especies son empleadas con esta finalidad.

⁷ Exharchou V. LC-NMR coupling technologies; recent advancements and applications in natural products analysis. 681.

⁸ Exharchou V. Hyphenated chromatographic techniques for the rapid screening and identification of antioxidants in methanolic extracts of pharmaceutically used plants. 293.

⁹ Organización mundial de la salud Ginebra. Estrategias de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. 1,2.

¹⁰ Organización mundial de la salud. *Op. cit.* 2.

¹¹ Estrada E. *Op cit.* 30.

Generalidades de *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck

Artemisia ludoviciana Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck (familia: *Compositae*) comúnmente conocida en México como “estafiate” (**Imagen 1**), se puede encontrar desde el suroeste de Estados Unidos de América hasta Guatemala, en la República Mexicana la podemos encontrar en Baja California, Baja California Sur, Sonora, Sinaloa, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tlaxcala, Durango, Oaxaca y Chiapas. En su género se incluyen más de 200 especies distribuidas en el Hemisferio Norte y en Sudamérica, tiene uso medicinal y saborizante.¹² En la medicina tradicional mexicana, se utiliza una infusión preparada ya sea con toda la planta o con las hojas,¹³ la infusión puede ser preparada por cocción, mezclado con otras plantas medicinales o reposada con agua, una vez lista se administra por vía oral y se utiliza como antiabortivo, baño de asiento, antiespasmódico, antiepiléptico, para problemas menstruales, como cataplasma en caso de reumatismo, resfriado,¹⁴ cólico, dolor intestinal, dolor de estómago,¹⁵ parasitosis,^{16,17} e inflamación.

Existen estudios de esta especie en los que se reporta el aislamiento de diferentes metabolitos secundarios como compuestos aromáticos de aceites esenciales, monoterpenos, sesquiterpenos,¹⁸ flavonoides y lactonas sesquiterpénicas.^{19,20} La actividad antiinflamatoria que presenta esta especie se le atribuye a las lactonas sesquiterpénicas, grupo de compuestos que poseen actividad antiinflamatoria, que recientemente se ha demostrado que dicha actividad se debe a la habilidad que presentan de inhibir durante el proceso inflamatorio al factor de transcripción nF-kB,²¹ un mediador central del sistema inmune encargado de regular la transcripción de genes incluyendo varias citocinas y enzimas inflamatorias como las COX.²²

¹² Rzedowski J. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. 60.

¹³ Fernandez-Said S. In vitro antiprotozoal activity of the leaves of *Artemisia ludoviciana*. 466.

¹⁴ Waizel-Bucay J, *Op. cit.* 79.

¹⁵ Pulido-Salas M. Plantas útiles para consume familiar en la Región de la Frontera México-Belice. 238.

¹⁶ Fernandez-Said S. *Op. cit.* 466.

¹⁷ Fernandez-Said S. *Op. cit.* 467.

¹⁸ Heinrich M. Ethnopharmacology of Mexican Asteraceae (Compositae). 550.

¹⁹ Lee K. Sesquiterpene Lactones of *Artemisia* constituents of *A. ludoviciana* ssp. *mexicana*. 403.

²⁰ Ruiz-Cancino A. Sesquiterpene lactones and flavonoids from *Artemisia ludoviciana* ssp. *mexicana* Phytochemistry, 1113.

²¹ Crotti A. Sesquiterpene Lactones from *Minasia alpestris*. 677.

²² Melo M.. Topic utilization of sesquiterpene lactone from *Milleria quinqueflora* on the treatment of bothropic envenomation in rabbits. 548.

Esta comprobado que el extracto etanólico de *A. ludoviciana ssp mexicana* es un potente inhibidor de nF-kB.^{23,24}

En otros estudios se reporta el aislamiento de diferentes compuestos entre ellos tulipanolide, arglanina, artemexifolin, armexifolin, ludalbina, santamarina y otros.



Imagen I *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck. Imágenes tomadas de www.conabio.gob.mx

²³ Bork P. Nahua Indian medicinal plants (Mexico): inhibitory activity of NF-kB as an anti-inflammatory model and antibacterial effects. 264.

²⁴ Bork P. Sesquiterpene lactone containing Mexican Indian medicinal plants pure sesquiterpene lactone as potent inhibitors of transcription factor kB (NF-KB). 85.

Lactonas sesquiterpénicas

Las lactonas sesquiterpénicas (LST) son productos naturales presentes en plantas de la familia *Compositae*, que poseen diversas actividades biológicas interesantes como antibióticas²⁵, antitumorales,^{26,27} y antiinflamatoria. Las lactonas sesquiterpénicas forman parte de los principios activos de diferentes fármacos fitoquímicos con actividad antiinflamatoria descubiertos gracias a su uso en la medicina tradicional.²⁸ Investigadores se han dedicado a la búsqueda de una explicación al por qué estos compuestos naturales presentan una actividad antiinflamatoria. Las LST derivadas de plantas medicinales de México, son de gran interés, originado por el complejo farmacológico, principalmente antiinflamatorio que estas sustancias de origen natural presentan (**Figura 1**). Diferentes plantas medicinales que contienen LST son frecuentemente utilizadas por la población para el tratamiento del dolor estomacal, infecciones de la piel y demás órganos. Recientes investigaciones han demostrado que las LST inhiben el factor de transcripción NF-kB. Las lactonas sesquiterpénicas han mostrado una modulación en diferentes procesos involucrados en la reacción antiinflamatoria, ejemplo de ello es, la fosforilación oxidativa, agregación plaquetaria, incluso la liberación de histamina y serotonina.

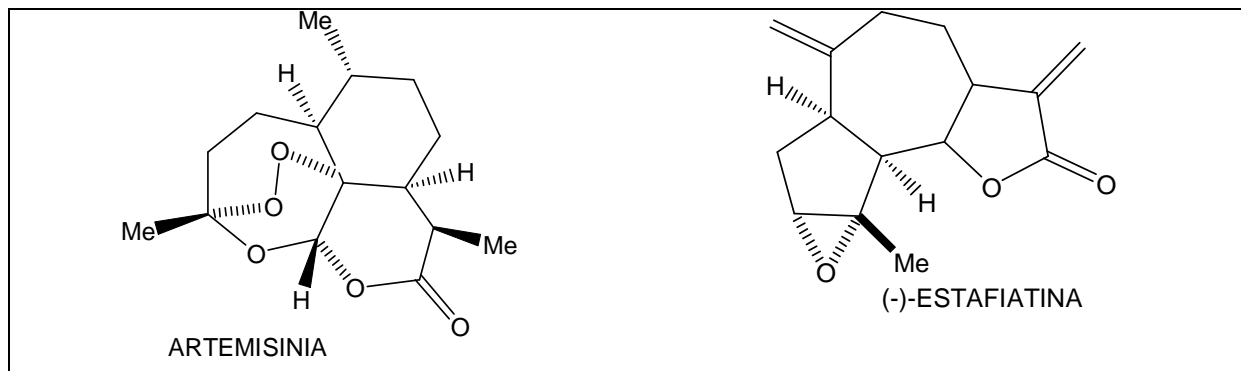


Figura 1 Lactonas sesquiterpénicas presentes en plantas de la familia *Compositae* con actividad antiinflamatoria.

²⁵ Obafemi C. Antimicrobial activity of extracts and a germacranolidetype sesquiterpene lactone from *Thithonia diversifolia* leaf extract. 1254.

²⁶ Quintero A. Antitumoral activity of new pyrimidine derivatives of sesquiterpene lactones. 108.

²⁷ Malarz J. Sesquiterpene Lactones in a Hairy Root Culture of *Cichorium intybus*. 994.

²⁸ Ly G. The Anti-inflammatory Sesquiterpene Lactone Helenalin Inhibits the Transcription factor NF-kB by Directly Targeting. 33508.

MATERIAL Y METODOS

Obtención del extracto metanólico de *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck

Material vegetal. La planta *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck (Familia: *Compositae*) fue recolectada en el mes de mayo del 2007 en la costa de Sonora. El material vegetal fue identificado taxonómicamente por el Sr. Fernando Ramos, integrante del grupo étnico de Los Yaquis, mismo que realizó la recolecta y procesa el material vegetal para comercializarlo como una emulsión para tratar las hemorroides.

Generación de EMAL. Se tomaron 180g de la parte aérea de la planta previamente deshidratada y pulverizada. El polvo obtenido se puso a macerar 3 veces con 3 litros de metanol durante 3 días cada maceración. Transcurrido este tiempo, el solvente fue removido a presión reducida. Una vez eliminado el solvente se obtuvo el extracto metanólico crudo. (**Esquema 1**).

El porcentaje de rendimiento se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ rendimiento} = (\text{gramos de exto. crudo} / \text{gramos de material seco}) (100)$$

Prueba de solubilidad

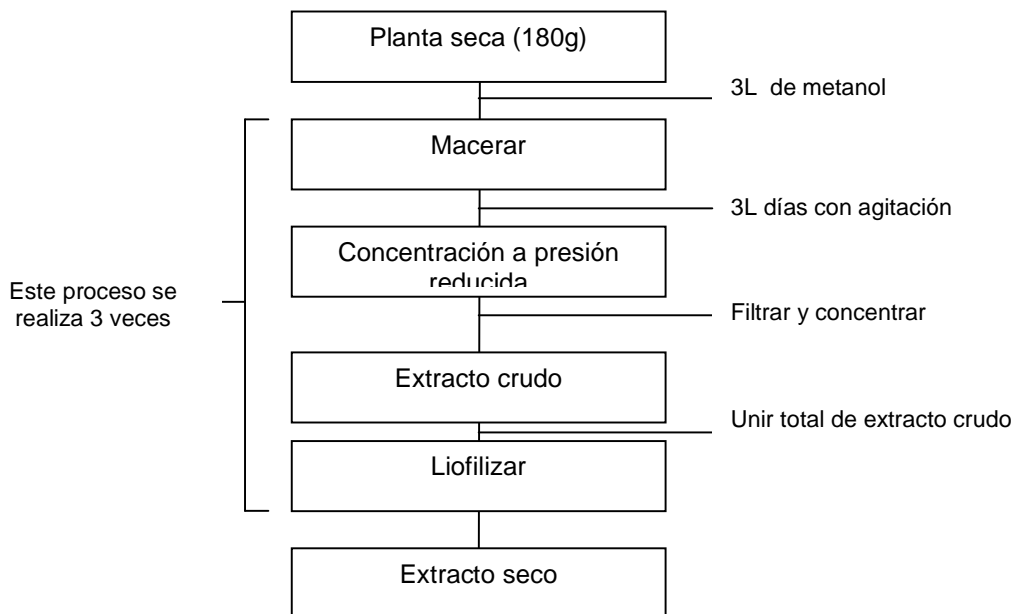
La prueba de solubilidad de EMAL se realizó con diversos solventes de distinta polaridad:²⁹ agua destilada, metanol, etanol, n-butanol, acetato de etilo, acetona, diclorometano, éter etílico y n-hexano.

Identificación preliminar de metabolitos

La detección de metabolitos secundarios del EMAL se realizó por medio de cromatografía en capa fina (CCF) utilizando diferentes reveladores.

²⁹ Bonilla-Rivera P. Estudio fitoquímico y efecto antiulceroso del extracto acuoso de hojas *Vallea stipularis* L. f. "chuillur" en ratas. 102.

Diagrama de trabajo



Esquema 1 Diseño experimental para la obtención del extracto metabólico de *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck (EMAL). Durante los días de maceración se mantuvo una agitación constante.

Identificación de compuestos

Se analizó el EMAL en un cromatógrafo de gases Agilent 6890, sobre una columna cromatográfica HP-5M5 (30mm x 0.25mm x 0.25 μ m). Se utilizó una temperatura de inyección de 250 °C y el detector iónico (ion sources) se mantuvo a 230 °C y el cuadrúpolo a 150 °C. Se usó helio como gas portador con un flujo de 1.0 ml/min. El horno se programó desde una temperatura inicial de 45 °C (2 min), hasta alcanzar 130 °C elevando la temperatura a razón de 35 °C/min, posteriormente aumentó 12 °C/min, finalmente se mantuvo durante 7.0 minutos la temperatura a 320 °C. Se inyectó una muestra de 1.0 μ L. La muestra se preparó diluyendo una mínima cantidad de EMAL en diclorometano.

Los espectros se realizaron con un detector selectivo de masas Hewlett Packard 5973 GC/MS (EI=70eV), equipado con un inyector automático, utilizando una columna capilar HP 5MS (30m, 0.25 mm, 0.25 μ m). El programa de temperatura utilizado fue el mismo que se indicó para el análisis cromatográfico. Se inyectó una muestra de 1.0 μ L de una solución del EMAL en diclorometano. Se utilizó una temperatura de inyección de 250 °C. La identificación de los componentes del EMAL se realizó mediante comparación computarizada de los espectros obtenidos con los espectros de una librería NIST 98.

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

El rendimiento de EMAL fue del 10.30 %.

Solubilidad

La prueba de solubilidad de EMAL se muestra en la **Tabla 1**. Se observa mayor solubilidad en etanol, este resultado confirma la mayor cantidad de componentes de naturaleza polar que se encuentra presentes en las plantas.

Solvente	Solubilidad
Agua destilada	+/-
Metanol	++
Etanol	+++
n-butanol	++
Acetato de etilo	+
Acetona	++
Diclorometano	++
Éter etílico	+
n-hexano	+

Tabla 1 Solubilidad de EMAL en solventes de distintas polaridades. (+/-) parcialmente soluble, (+) poco soluble, (++) soluble, (+++) muy soluble.

Estos resultados de solubilidad nos ayudarán a proponer la posible forma farmacéutica de EMAL como fitofármaco.

Identificación de grupos de metabolitos secundarios

La cromatografía en capa fina permite determinar cualitativamente los principales grupos de metabolitos secundarios de la planta. En la **Tabla 2** se muestran los resultados de la CCF de la especie *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck.

El análisis de las CCF realizadas al EMAL utilizando diferentes agentes específicos para la detección de grupos de metabolitos secundarios revelaron según las coloraciones obtenidas la presencia de flavonoides, esteroides, terpenoides, antronas y aceites esenciales en *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck.

Reactivo	Metabolitos secundarios	Coloración
Dragendorff	Alcaloides	Ninguna
Ac. P-toluensulfónico	Flavonoides Catequinas Esteroides	Gris Verde Olivo
Hidróxido de sodio 10%	Terpenoides	Amarillo claro
Borntrager	Antraquinonas Antronas Coumarinas	Amarillo Anaranjado
Libermann-Burchard	Terpenoides	Ninguna
Ac. Sulfúrico-Vainillina	Aceites esenciales	Verde Rosa Violeta Azul

Tabla 2 Marcha fitoquímica del EMAL.

Identificación de compuestos

El extracto metanólico del material vegetal seco y pulverizado de *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck fue analizado por cromatografía de gases acoplado a un detector de masas. La composición química de EMAL se presenta en la **Tabla 3**. Se logró identificar 24 componentes mediante comparación computarizada de los espectros de masas de los componentes eluidos de la columna cromatográfica con los espectros de la librería NIST 89, encontrándose en su mayoría monoterpenos, aldehídos de cadena larga, esteroides, sesquiterpenos, tocoferoles, ácidos grasos y un tetraterpeno. En la **Figura 2** se presentan las estructuras de algunos compuestos identificados.

Esta evaluación fitoquímica, mostró la presencia de aceites esenciales y un sesquiterpeno oxigenado, que coincide de acuerdo a reportes previos en la literatura, donde encontraron aceites esenciales en *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck incluyendo el alcanfor que también fue identificado en nuestro estudio.

Debido a que no se realizó una evaluación fitoquímica completa por no ser el objetivo principal de este trabajo, en los estudios no se detectó la presencia de lactonas sesquiterpénicas, esto pudiera deberse a múltiples factores, por ejemplo, la época del año en que se colectó la planta, forma de cosecha y secado, variedad de la especie, método analítico de detección, etc., sin

embargo, cabe mencionar que pudo identificarse un precursor de las lactonas sesquiterpénicas conocido como espatulenol. En el **anexo I** se pueden apreciar los espectros obtenidos.

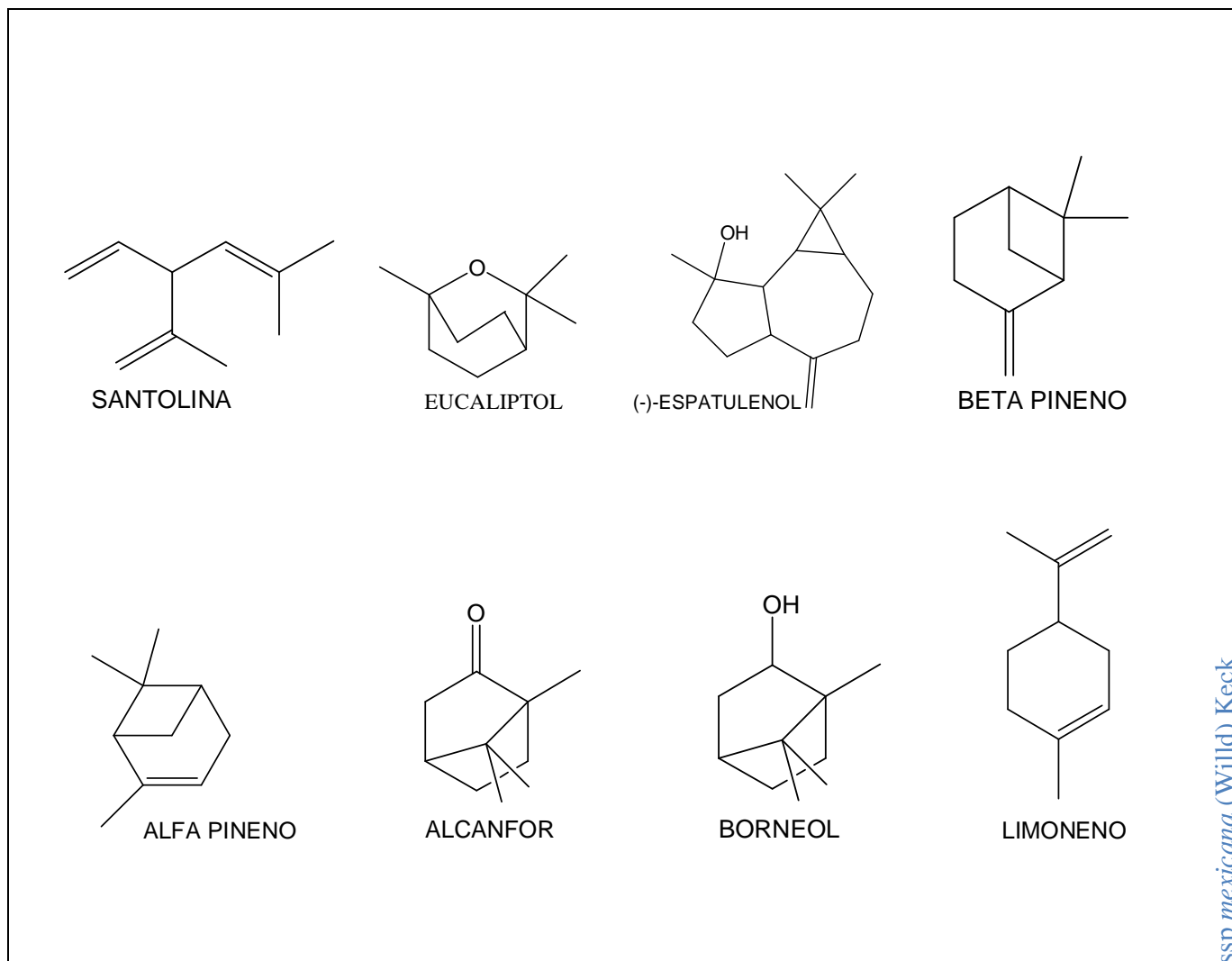


Figura 2 Estructuras de algunos metabolitos secundarios encontrados en EMAL

No.	Compuesto
1	2-Octeno
2	Santolina
3	α -Pino
4	2-Heptenal
5	β -Pino
6	2,4 heptadienal
7	Limoneno
8	Eucaliptol
9	1,3-ciclopentadieno-5-(1,1-dimetil)etil
10	Alcanfor
11	Borneol
12	2-decenal
13	2,4-decadienal
14	1,4-Benzenediol,2-(1,1-dimetil)etil
15	Espatulenol
16	Ácido-9,12-octadecadienoico
17	9,17-Octadecadienal
18	Escualeno
19	Benzopirano
20	G-Tocoferol
21	Vitamina E
22	Campesterol
23	Estigmasterol
24	β -Sitosterol

Tabla 3 Compuestos identificados en EMAL por medio de cromatografía de gases.

Estos resultados obtenidos también nos llevaron a conocer la presencia de compuestos con diversos usos en la industria cosmética, alimenticia y farmacéutica, dentro de estos compuestos los más mencionados son: los monoterpenos santolina, α y β pineno, limoneno, eucaliptol, alcanfor y borneol; el sesquiterpeno espatulenol; el caroteno escualeno; el τ -tocoferol y vitamina E; y los esteroides campesterol, estigmasterol y β -citosterol. De los metabolitos mencionados existe evidencia en la literatura que cada uno de ellos o como mezclas, presentan actividad antibacteriana, antifúngica, antiparasitaria, citotóxica, antiviral, analgésica y antiinflamatoria.

CAPÍTULO II

DOLOR

ANTECEDENTES

Generalidades del dolor

La definición del dolor según la Asociación Internacional para el estudio del Dolor (IASP) es: “Una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada con una lesión presente o potencial o descrita en términos de la misma”.³⁰

A diferencia de otras sensaciones, el dolor es una señal o una advertencia de que algo malo está sucediendo, y tiene prioridad sobre otras señales, es un mecanismo que protege al organismo ya que se presenta cada vez que se lesiona cualquier tejido y hace que el sujeto reaccione eliminando el estímulo doloroso, siempre está relacionado con algo desagradable. Para poder comprender los diferentes tipos de dolor que se han clasificado es importante conocer para su análisis los componentes que están involucrados en el dolor como son: nocicepción, percepción del dolor, sufrimiento y comportamiento del dolor; cada una de las cuales posee un factor anatómico, fisiológico y psicológico.³¹

Nocicepción: es la detección de un estímulo nocivo o de daño a un tejido, la nocicepción es esencial para la supervivencia de los organismos en un ambiente posiblemente hostil.³²

Percepción del dolor: frecuentemente desencadenada por un estímulo nocivo, como puede ser una enfermedad o por lesiones que afectan al sistema nervioso central o periférico.

Sufrimiento: es una sensación experimental emocional negativa, puede ser producida por el dolor. El adjetivo *desagradable* de la definición de dolor, incluye un conjunto de sentimientos entre los que se encuentra el sufrimiento.

Comportamiento del dolor: corresponde a todas las acciones que el paciente hace o deja de hacer con relación a la presencia de daño tisular. Estos comportamientos pueden estar influidos por las condiciones del entorno de cada paciente.

³⁰ IASP. Pain terms: a current list with definitions and notes on usage. S215.

³¹ Gomezese-Ribero O. Dolor: una mirada introductoria. 2

³² Scholz J. Can we conquer pain? 1062.

Clasificación del dolor

Sin duda existe una gran variedad de clasificaciones del dolor, por su cronología, origen anatómico o causa. En la clínica, el dolor se ha clasificado en dos grupos principales: dolor agudo y dolor crónico, existe una diferencia considerable entre los factores que están involucrados en ellos (**Tabla 4**), como etiológicos, fisiológicos, psicológicos, etc., estos elementos nos permiten poder discernir entre estas dos clases de dolor.

Dolor	Agudo	Crónico
Causa	Estímulo nociceptivo Lesión tisular	Multifactorial
Características	Temporal/Limitado	Persistente/Mal localizado
Incidencia	Frecuente	Poco frecuente
Sensación	Rápida y precisa	Lenta y difusa
Propósito	Útil	No útil
Objetivo terapéutico	Curación	Alivio y adaptación
Duración	Menos de un mes	Más de tres meses
Vía tratamiento	Parenteral, oral	Oral, rectal, transdérmica
Dosis analgésicos	Estándar/Responde bien al tratamiento	Individualizada/Responde mal al tratamiento habitual
Estímulo-Intensidad	Relacionados	No relacionados
Equivalencia	Síntoma	Enfermedad
Tratamiento	Etiológico	Multidisciplinar
Estado emocional	Ansiedad	Depresión

Tabla 4. Diferencias entre el dolor agudo y el dolor crónico.

El dolor agudo es el que se percibe alrededor de 0.1 segundos después de aplicado el estímulo doloroso. Este no se percibe en casi ningún tejido profundo del cuerpo, mientras que el de tipo crónico tarda más de un segundo en aparecer después del estímulo doloroso y después aumenta su intensidad con el tiempo, generalmente suele acompañarse de destrucción de tejido y es la causa principal por la que el paciente busca ayuda médica.³³

³³Guyton AC. Tratado de fisiología médica. 669.

El dolor agudo indica la existencia de una lesión tisular, mediante mecanismos nociceptivos, por tal motivo se considera útil, tiene una duración en general menor a un mes, su localización³⁴ es mucho más exacta que la del dolor crónico.

Nociceptores

Hace aproximadamente un siglo Sherrington propuso la existencia de receptores sensitivos especializados de las células nerviosas, aquellos que inician con la sensación de dolor, los cuales se encuentran en algunos tejidos y son activados por estímulos nocivos capaces de provocar una lesión en los tejidos periféricos, a dichos receptores se les conoce con el nombre de nociceptores. Sin embargo la nocicepción no necesariamente conduce a una experiencia dolorosa.^{35, 36}

Estímulos dolorosos, ya sean de la piel o de tejido subcutáneo son capaces de activar distintas clases de terminaciones periféricas de neuronas sensitivas primarias, las cuales sus cuerpos celulares están en los ganglios de la raíz dorsal y del trigémino.³⁷

A consecuencia de que los axones de los nociceptores tienen “terminaciones libres” no especializadas, los nociceptores se clasifican dependiendo del tipo de conducción que tengan según las propiedades de los axones asociados a ellos y las fibras por las cuales sean activados. Dicho en otras palabras, existen varios tipos de nociceptores para diversas clases y variedades de dolor.^{38,39}

Las células de diámetros más grandes dan origen a fibras sensoriales primarias mielinizadas A β de conducción rápida, las cuales detectan estímulos inocuos aplicados a la piel, músculos y articulaciones, estos no producen dolor. Por el contrario las células de diámetros pequeños y medianos dan origen a la mayoría de los nociceptores, incluyendo a las fibras C no mielinizadas de conducción lenta y a fibras A δ ligeramente mielinizadas de conducción más rápida.⁴⁰ Por lo tanto, aún cuando la conducción de toda información nociceptiva sea relativamente lenta, existen vías rápidas y lentas para el dolor.⁴¹

³⁴ Guyton AC. *Op cit.* 699.

³⁵ Kandel ER. Principios de neurociencia. 472.

³⁶ Purves D. Invitación a la neurociencia. 181.

³⁷ Kandel E. *Op. Cit.* 473.

³⁸ Purves D. *Op. cit.* 182.

³⁹ Julios D. Molecular mechanisms of nociception. 203.

⁴⁰ *Ibid.*

⁴¹ Purves D. *Op. Cit.* 182.

Se conocen tres clases principales de nociceptores; térmicos, mecánicos y polimodales.

Nociceptores térmicos: Activados por temperaturas extremas (mayores a 45 °C o menores a 5 °C) y contienen fibras rápidas A δ .

Nociceptores mecánicos: activados por presiones intensas aplicadas a la piel y también contienen fibras rápidas A δ .

Nociceptores polimodales: activados principalmente por estímulos químicos, pero también por estímulos mecánicos o térmicos de gran intensidad y contienen fibras lentas C.

En resumen el dolor agudo y rápido es transmitido por fibras A δ con información de nociceptores térmicos y mecánicos, mientras que el dolor crónico y lento es transmitido por fibras C con información de nociceptores polimodales.⁴²

Estructuras centrales y vías del dolor

El dolor es transmitido al SNC por dos vías diferentes, vías que corresponden a las dos categorías de dolor mencionada anteriormente: una para el dolor agudo y rápido transmitido a través de los nervios periféricos hasta la médula espinal y otra vía para el dolor lento y crónico. Este doble sistema de transmisión provoca que al momento de percibir un dolor brusco se origina con frecuencia una doble sensación de dolor, el primero será un dolor rápido y agudo, seguido por un segundo dolor, lento y sordo, de esta manera el dolor agudo nos estará avisando de la presencia de un estímulo capaz de provocar lesión tisular, por lo cual reaccionamos y nos alejamos de dicho estímulo, mientras que el dolor crónico tiende a elevar su intensidad al paso del tiempo, dando como resultado el sufrimiento del paciente, quien se ve obligado a buscar ayuda y tratamiento. Una vez que ha penetrado a la médula espinal, las fibras del dolor terminan en las neuronas de las astas dorsales.⁴³

⁴²Kandel ER. *Op. Cit.* 474.

⁴³Guyton AC. *Op cit.* 671.

Características del dolor

Dependiendo de las características del dolor que se presenta pueden existir diferentes clasificaciones, dentro de estas clasificaciones podemos mencionar a las de origen anatómico como es el dolor visceral y otra clasificación según la causa que lo provoca como son el dolor nociceptivo y el dolor inflamatorio.

Dolor Nociceptivo: es el resultado al daño a estructuras somáticas y viscerales, incluso el resultado de la activación de los nociceptores.

Dolor visceral: un tipo de dolor muy frecuente causado por diversas patologías, la activación de los nervios aferentes sensoriales que inervan los órganos internos tales como el estómago, el riñón, la vejiga, los intestinos, y otros. Es característico por presentar lesiones a causa de tumores, isquemias, inflamación, etcétera. Generalmente va acompañado de náusea,⁴⁴ otra de sus características es que se refleja en la pared corporal,⁴⁵ el paciente lo define como un dolor inespecífico, mal definido y de localización difusa.

Dolor inflamatorio: es el resultado de una lesión mayor, éste se mantiene hasta que la lesión sana. Se manifiesta en el área que sufrió la lesión con la liberación de diferentes citocinas y factores de crecimiento (sopa inflamatoria) liberadas por diferentes fuentes (**Tabla 5**). Este tipo de dolor es el responsable de que un dolor menor provoque una respuesta exagerada (hiperalgesia), y de que estímulos inofensivos como el tacto produzcan dolor (alodinia).

Sustancia	Fuente
Bradicinina	Plasma
Serotonina	Plaquetas
Histamina	Mastocitos, granulocitos basófilos
Iones potasio	Células dañadas
Prostaglandinas	Células dañadas
Sustancia P	Fibras aferentes
Linfocinas	Células T sensibilizadas
Leucotrienos	Células dañadas

Tabla 5. Sustancias liberadas después del daño celular.

⁴⁴ Al-Chaer E. Biological basis of visceral pain: recent developments. 222.

⁴⁵ Laird J. Un Nuevo modelo de dolor visceral e hiperalgesia referida en ratón. 292.

Tratamiento farmacológico del dolor

En la actualidad existe una gran variedad de fármacos con propiedades analgésicas, los que se pueden administrar solos o con coadyuvantes para determinados dolores, la base del tratamiento farmacológico esta constituida por dos grandes grupos de fármacos:

1. Fármacos opiáceos (analgésicos mayores),
2. Fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), existen en grado variable (analgésicos menores).

Terapia con fármacos opiáceos. Fármacos caracterizados por poseer afinidad selectiva por los receptores opioides, causando analgesia elevada producida por el SNC. Este grupo de fármacos causa efectos en la conducta de autoadministración conocida como farmacodependencia.⁴⁶ El alivio del dolor por los opioides del tipo de la morfina es selectivo, ya que no afecta otras modalidades de la sensibilidad, pero a menudo persiste algún dolor. Este tipo de fármacos es más efectivo para el dolor crónico que para el dolor agudo, pero con una dosis suficiente de opioides se pueden aliviar los síntomas de cólicos renales o biliares, característicos del dolor visceral. Pueden ser de origen natural (morfina, codeína), semisintético (heroína, hidromorfona) y sintético (metadona, fentanilo).⁴⁷

Terapia con fármacos AINE. Una de las terapias utilizadas con mayor frecuencia para controlar el dolor en pacientes con diferentes patologías son los AINE, fármacos que tienen su principal efecto terapéutico gracias a que inhiben la actividad de las ciclooxigenasas (COX),⁴⁸ enzima que cataliza a partir del ácido araquidónico la síntesis de prostaglandinas (PG's), sustancias endógenas relacionadas con procesos inflamatorios y álgicos,⁴⁹ esta relación se debe a que las PG's sensibilizan terminaciones nerviosas para estímulos nocivos. Los AINE se pueden clasificar en diferentes grupos según su estructura, dentro de este grupo de fármacos se encuentran los derivados del ácido acético como el diclofenaco un fármaco antiinflamatorio con diversas presentaciones y que tienen su máxima indicación en procesos dolorosos en los que predomina la inflamación. Al igual que el resto de los AINE, el diclofenaco inhibe la síntesis de PG's, además de disminuir la concentración de ácido araquidónico en leucocitos.⁵⁰ A pesar de que el diclofenaco es un fármaco muy efectivo para el tratamiento del dolor, sólo está indicado

⁴⁶ Flores J. Farmacología humana.

⁴⁷ Fernández P. Tratamiento farmacológico del dolor. 208.

⁴⁸ Flores J. *Op. Cit.*.

⁴⁹ Raber A. Comparación farmacoeconómica de aceclofenaco con otros aines.287.

⁵⁰ Flores J. *Op. Cit.*

en tratamientos de corta duración⁵¹ debido a que éste presenta severos efectos adversos, entre los más frecuentes se encuentran las hemorragias, úlcera o perforación de la pared intestinal.⁵²

⁵¹ Busquets J. Tratamiento farmacológico del dolor. 129.

⁵² Organización mundial de la propiedad intelectual. 4

MATERIAL Y MÉTODOS

Actividad antinociceptiva

Animales.

Se utilizaron ratones hembra de la cepa Swiss Webster de 25 a 30 gramos de peso. Los animales se dividieron de forma aleatoria en grupos de 6 a 8 ratones cada uno. Se mantuvieron en cajas de plástico transparente y en ayuno de 12 horas con libre acceso a agua. Cada animal se utilizó sólo para un experimento y fue sacrificado, inmediatamente, después por el método de dislocación cervical.

Preparación y administración de soluciones.

El vehículo fue de solución salina y tween 80 al 1%, el diclofenaco (referencia) y EMAL fueron disueltos en el vehículo para obtener dosis de 1.0, 3.0, 10.0 y 30.0 mg/Kg y 1.0, 1.41, 1.77, 2.31, 2.81, 3.0, 10.0, 30.0 y 100.0 mg/Kg respectivamente. El vehículo fue administrado por vía oral y el diclofenaco y EMAL por vía intraperitoneal (i. p.). La solución algésica utilizada fue de ácido acético al 0.6%.

Modelo de estiramiento abdominal.

La prueba nociceptiva utilizada fue la de estiramientos o calambres abdominales (*writhing test*). El modelo de estiramiento abdominal es un estudio animal de dolor visceral ampliamente utilizado, consiste en la inyección i. p. de un irritante que induce un síndrome de estiramiento (*writhing*), el cual consiste en la contracción abdominal, distensión exagerada del abdomen combinada con el estiramiento de las patas traseras y arqueado de la espalda.⁵³ Otra de las respuestas habituales que se pueden observar en el animal durante la práctica de este modelo es el lamido del abdomen⁵⁴ y aumento del acicalamiento.

Los animales se dividieron de forma aleatoria en grupos de 6 ratones cada uno, cada animal recibió una inyección i. p. (**Imagen 2**) de 0.1ml/10g de ácido acético al 0.6% en solución salina para provocar los calambres abdominales. Los animales se colocaron, individualmente, en cajas de plástico transparente 30 minutos antes de la administración de la solución algésica para que se ambientaran a condiciones de laboratorio (**Imagen 3**). Inmediatamente después de la

⁵³ Marcil J. Antinociceptive effects of tetrodotoxin in rodents. *British journal of Anesthetic*. 762.

⁵⁴ Laird J. *Op. cit.* 293.

administración de la solución algésica, dentro de la caja de experimentación se observó y contabilizó el número de estiramientos. Los calambres abdominales se definieron como una distensión exagerada del abdomen combinada con el estiramiento de las patas traseras. Se registró el número total de calambres durante los 30 minutos después a la inyección del ácido acético (**Esquema 2**).

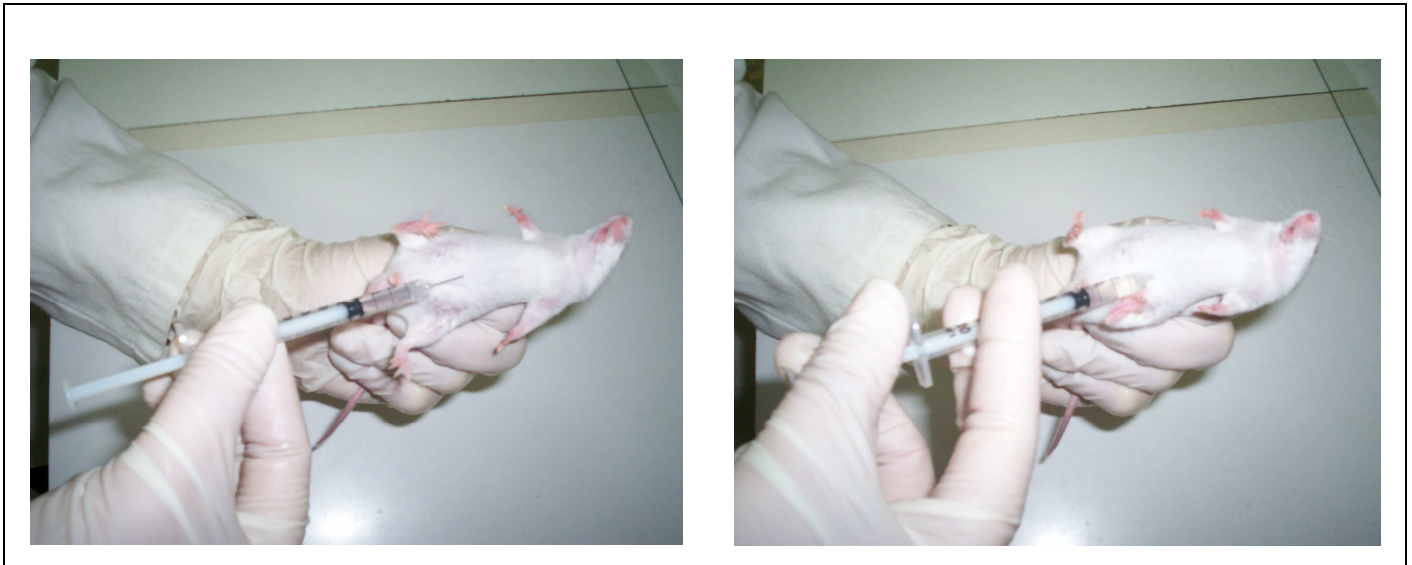


Imagen 2. Administración i. p. de ácido acético 0.6% para provocar calambres abdominales.

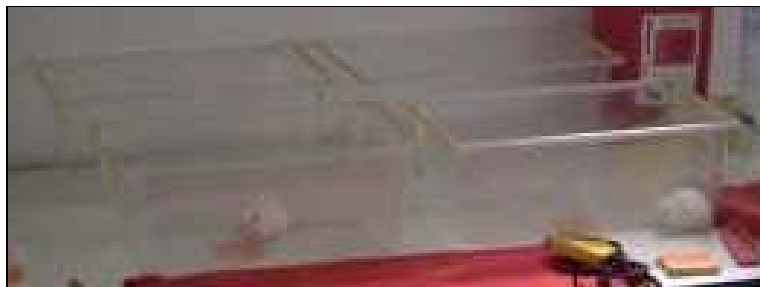
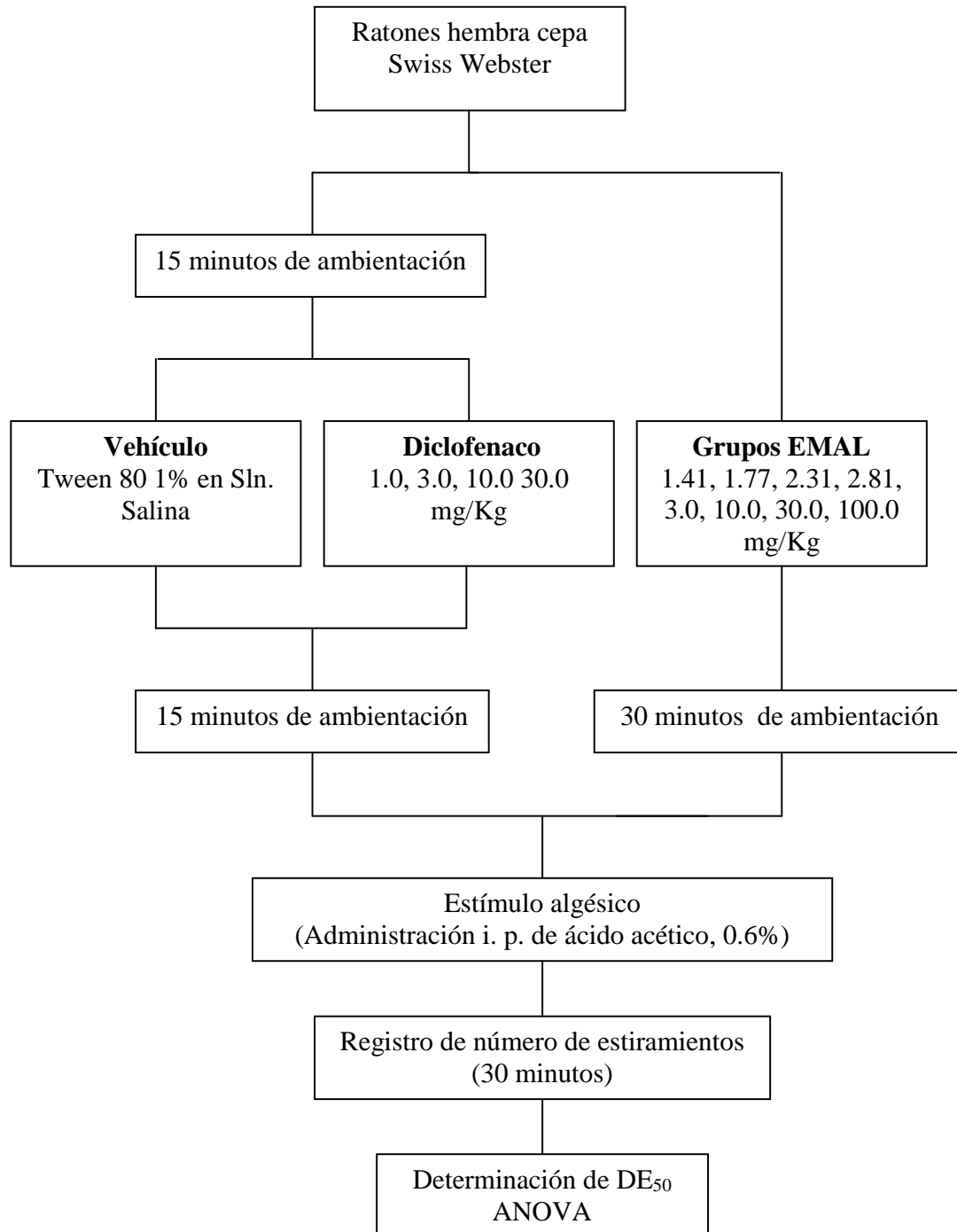


Imagen 3. Ambientación de ratones a condiciones de laboratorio

Análisis estadístico Se evaluó el efecto de las diferentes dosis de EMAL, administradas antes del ácido acético, sobre el número de estiramientos, utilizando un análisis unilaterial de la varianza (ANOVA).

Diseño experimental



Esquema 2. Diseño experimental para determinar el % de antinocicepción de EMAL. El vehículo (Tween 80, 1% en Sln. Salina) y diclofenaco fueron administrados 15 minutos antes de la administración de la solución algésica (ácido acético, 0.6%), mientras que EMAL fue administrado 30 minutos antes. Posteriormente se determinó la DE_{50} de diclofenaco y EMAL.

Antinocicepción preventiva.

Para determinar si EMAL producía antinocicepción preventiva, se administró un tratamiento diferente a cada grupo de ratones 30 minutos antes de la inyección i. p. de ácido acético. Se registró el número total de estiramientos abdominales en los 30 minutos siguientes.

Determinación de DL₅₀

Para determinar la toxicidad de EMAL se realizó una modificación de un método estandarizado.⁵⁵ La toxicidad se evalúa mediante bioensayos que consisten en exponer organismos vivos a sustancias tóxicas a diferentes concentraciones y registrar los efectos sobre los mismos. Finalmente se determina para cada concentración el número de organismos afectado, con este dato se puede calcular la CL₅₀ de un extracto. La CL₅₀ es la concentración de determinada sustancia que es capaz de matar al 50% de los organismos en el ensayo, cuanto menor sea el valor de DL₅₀ mayor es su grado de toxicidad.

Es de gran importancia conocer los efectos fitotóxicos de las plantas ya que esto nos permitirá valorar y determinar los factores de riesgo asociados a su exposición, el grado de tolerancia o sensibilidad de la planta estudiada. Existen métodos cualitativos y cuantitativos para conocer el efecto tóxico de una planta, uno de ellos es el bioensayo de toxicidad de *Artemia salina*.

El bioensayo de letalidad de larvas de *Artemia salina*, es un método estandarizado para la búsqueda de extractos de plantas con actividad farmacológica que determina la CL₅₀. *Artemia salina* es un pequeño camarón de mar (crustáceo que habita la bahía de San Francisco) cuyas larvas (nauplios) son sensibles a gran variedad de sustancias.

Preparación de soluciones Para preparar agua de mar artificial se hizo una disolución de agua mariana en agua embotellada (30.5g/L). Para las muestras se realizó una solución madre de EMAL tomando 20mg del extracto y se disolvió en 2mL de metanol, el mismo procedimiento se realizó con diclofenaco sódico.

⁵⁵ Meyer BN. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. 52.

Eclosión de quistes.

Para obtener los nauplios, se pusieron a eclosionar los quistes. Se colocó un aproximado de 20 μg por litro de solución de mar artificial, en un recipiente especial para la eclosión de *Artemia* (**Imagen 4**), en un ambiente controlado durante 48 horas con agua de mar artificial e iluminación constante.

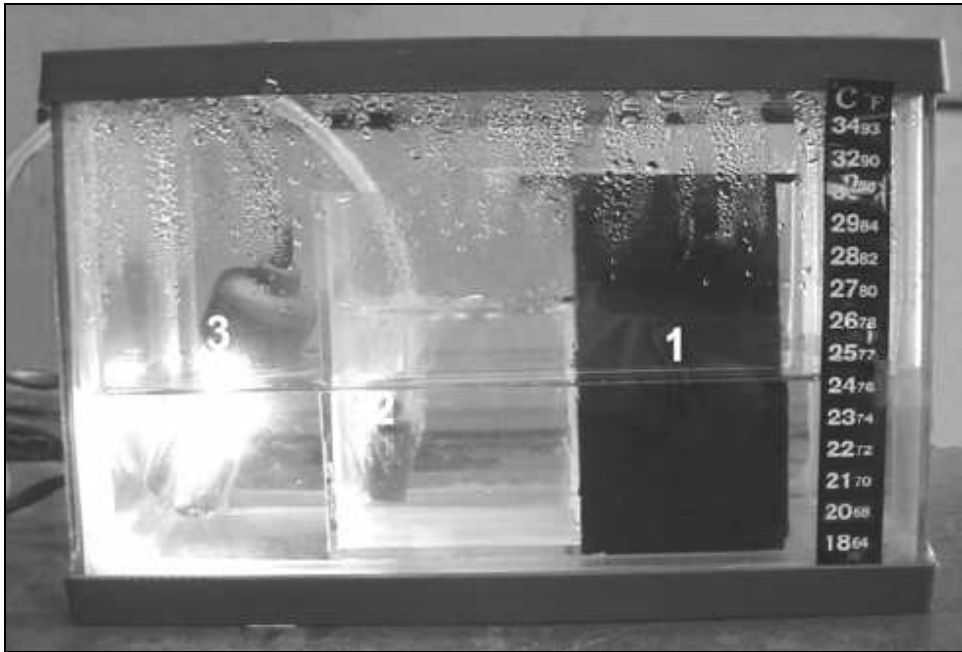


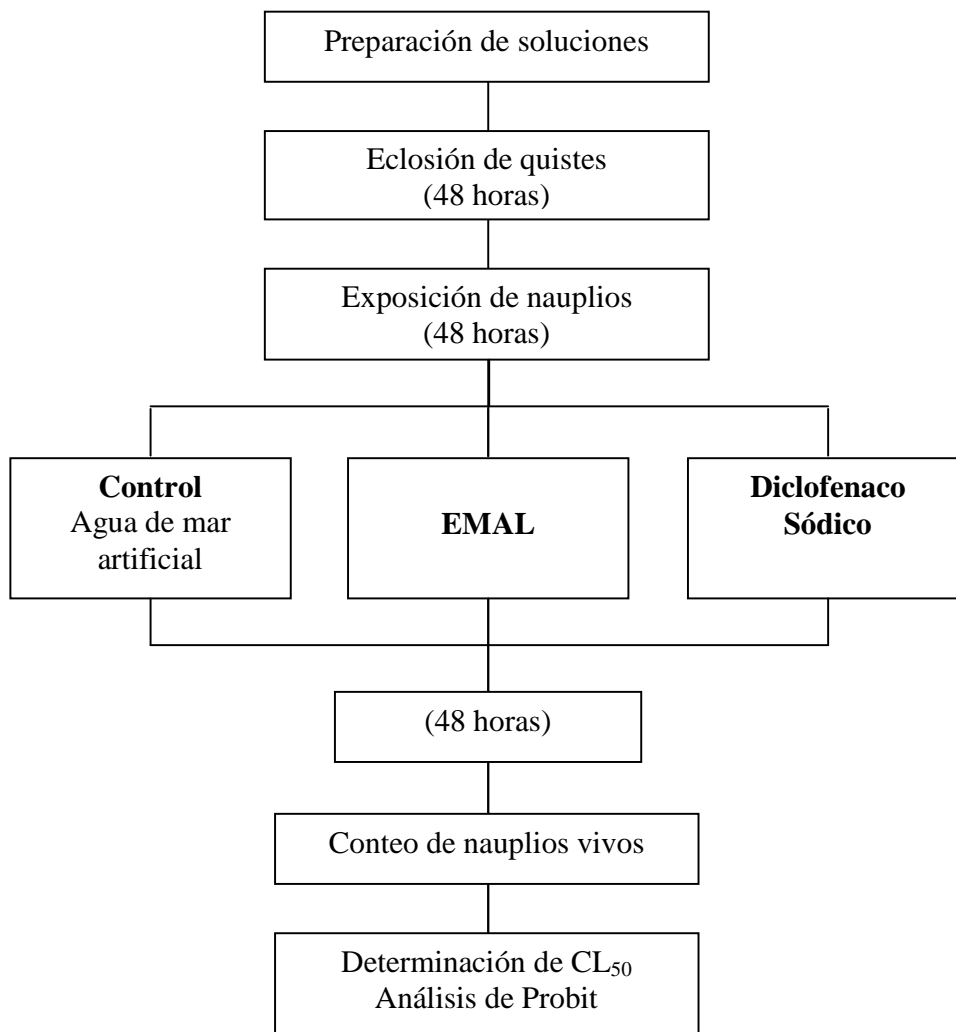
Imagen 4. Sistema utilizado para la eclosión de *Artemia salina*. Pecera con dispositivos de incubación (1), aeración (2) e iluminación (3). Fotografía proporcionada por Dra. Myrna Déciga Campos.

Bioensayo de toxicidad.

Los nauplios obtenidos fueron expuestos a distintas concentraciones de las muestras. De la solución madre de EMAL se tomaron 2, 20 y 200 μL y se vertieron en viales, se dejó evaporar el metanol, una vez evaporado el metanol se agregaron 1000 μL de agua de mar artificial y después se colocaron 10 nauplios en un volumen de 1000 μL en cada vial de las diferentes concentraciones (por triplicado) teniendo así al final concentraciones de 10, 100, 1000 ppm, y el mismo procedimiento se llevó a cabo con diclofenaco. Como control se utilizó agua de mar artificial. Los nauplios muertos fueron contados a las 48 horas de exposición a los diferentes extractos y fueron calculados los porcentajes de mortalidad para obtener la CL_{50} (**Esquema 3**).

Análisis estadístico El cálculo de la CL_{50} se determinó por medio del análisis de Probit.

Diseño experimental



Esquema 3. Diseño experimental para determinar la CL_{50} del EMAL.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Conducta nociceptiva inducida por ácido acético

La inyección intraperitoneal de ácido acético al 0.6% produjo la conducta típica de estiramiento abdominal acompañado de hiperextensión de las extremidades traseras y arqueado de la espalda (**Imagen 5**).

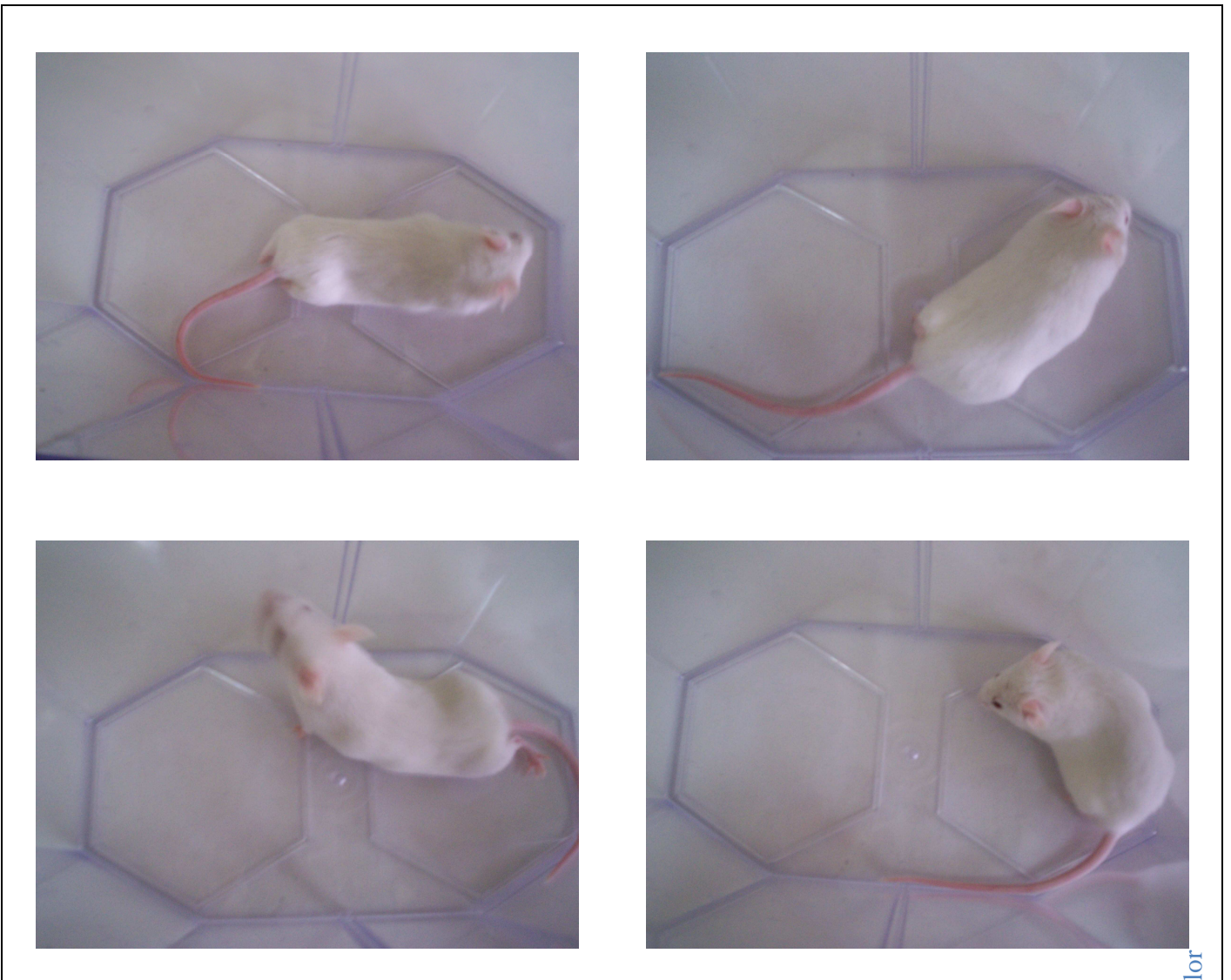


Imagen 5. Conducta característica de dolor abdominal provocado por la inyección i. p. de la solución algésica de ác. acético 0.6%

El modelo experimental writhing en ratones, provoca una conducta característica de estiramiento abdominal (estiramiento del tordo, acompañado de hiperextensión de las extremidades inferiores y arqueado cóncavo de la espalda).⁵⁶ Estas características del modelo experimental dan validez a su aplicación para evaluar la actividad antinociceptiva del EMAL de acuerdo al uso que se le da en la medicina tradicional para tratar los cólicos, dolor estomacal,⁵⁷ entre otros de tipo visceral.

El dolor visceral inducido en este modelo se considera que una parte importante es el proceso inflamatorio, provocado por la i. p. de ácido acético,⁵⁸ y ese dolor es controlado por agentes antiinflamatorios.

⁵⁶ Laird J. A new model of visceral pain and referred hyperalgesia in the Mouse. 292.

⁵⁷ Bye R. Medicinal plants of the Sierra Madre: comparative study of Tarahumara and Mexican market plants. 108.

⁵⁸ Laird J. *Op. cit.* 299.

Evaluación del efecto antinociceptivo del EMAL

De los cursos temporales contruidos graficando en el eje X el tiempo de evaluación y en el eje Y el número de estiramientos (**Figura 3**) se obtuvo el área bajo la curva (ABC) utilizando la regla de los trapezoides. La disminución del ABC de cada grupo en comparación con el vehículo representa el efecto antinociceptivo de cada dosis del EMAL evaluados. Cada dato en las gráficas está representado por el promedio +/- el error estándar (e. e.) de seis animales por grupo.

Las curvas dosis respuesta se expresan como el porcentaje de antinocicepción (porcentaje de inhibición de estiramientos abdominales) representado como el ABC con respecto al grupo vehículo. El porcentaje de antinocicepción (%AN) se calculó con la siguiente fórmula:

$$\%AN = \frac{X - xi}{X} \times 100$$

Donde:

X = promedio de estiramientos abdominales registrados en el grupo que solo recibió el vehículo.

xi = promedio de estiramientos registrado de grupo de tratamiento respectivo.

Para el análisis de los datos se realizó una comparación múltiple de los diferentes grupos contra el que solo recibió el vehículo.

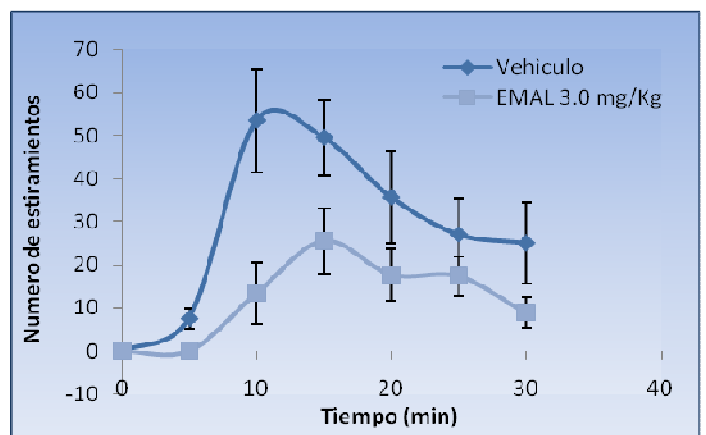
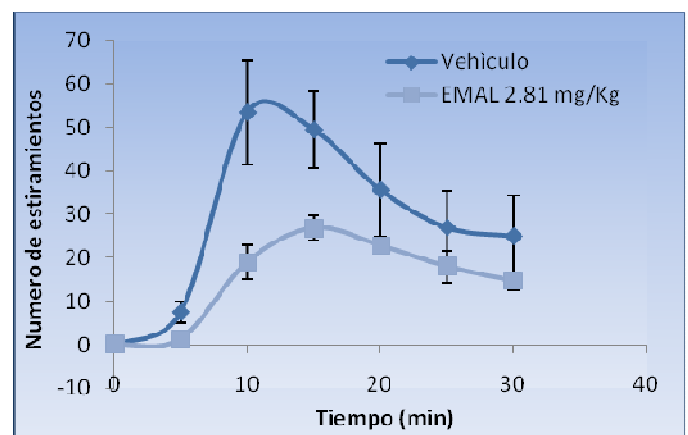
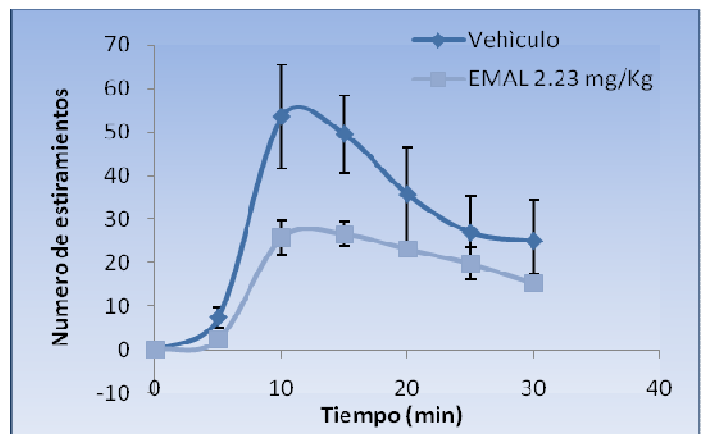
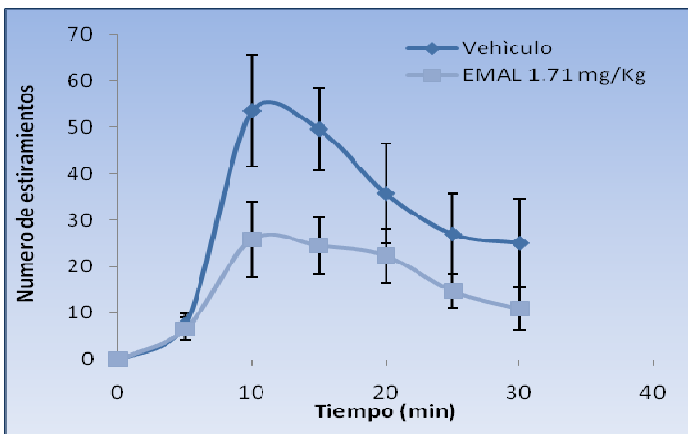
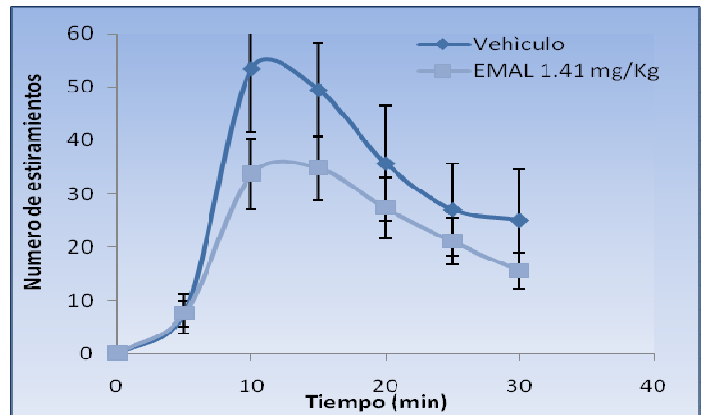
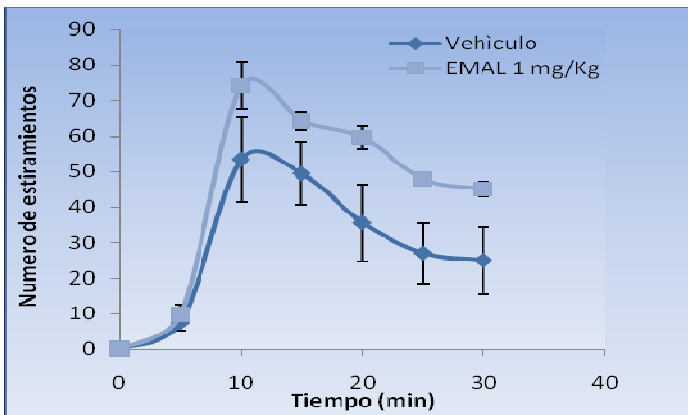


Figura 3. Curso temporal del efecto antinociceptivo de diferentes dosis de EMAL con respecto al vehículo. Los datos son el promedio de seis ratones +/- el error estándar.

El efecto antinociceptivo inducido por las diferentes dosis de EMAL y de diclofenaco en el modelo de estiramiento abdominal se muestran en la **Tabla 6**. La DE₅₀ de antinocicepción fue de 2.53 mg/Kg. La antinocicepción fue calculada contando el número de estiramientos abdominales después de la inyección de ácido acético durante 30 minutos. El estiramiento se describió como contorciones y distensión exagerada del abdomen combinada con el estiramiento de las patas traseras. La dosis de 1mg/Kg del EMAL no presentó efectos antinociceptivos significativos, por el contrario mostró una mayor cantidad de contorciones que las observadas con la administración del vehículo, motivo por el cual no fue utilizado para determinar la DE₅₀ del EMAL.

	Dosis (mg/Kg)	n	Promedio de número de estiramientos abdominales en 30 minutos	ABC	% AN
Control negativo	Vehículo	6	198	928	
EMAL	1.00	6	301	1390	-84.31
	1.41	6	140	660	28.86*
	1.77	6	105	496	46.54*
	2.23	6	113	528	43.18*
	2.81	6	103	477	48.65*
	3.00	6	83	391	57.86*
	10.00	6	173	801	13.69
	30.00	6	125	478	48.56
Diclofenaco sódico	100.00	6	127	583	37.12
	1.00	6	33	665	13.27
	3.00	6	184	843	9.11
	10.00	6	153	689	25.72
	30.00	6	77	351	62.16

Tabla 6. Efectos de EMAL en el modelo de estiramiento abdominal en ratones. n= número de animales por grupo. El porcentaje de inhibición se obtuvo comparándolo con el control. El EMAL fue disuelto en una solución de Tween 80 al 1% en solución salina. Los animales del grupo control recibieron esta solución como vehículo. El diclofenaco sódico también fue disuelto en el vehículo. Todos los tratamientos fueron administrados por vía intraperitoneal, EMAL 30 minutos antes de la administración intraperitoneal de ácido acético 0.6% y diclofenaco sódico y el vehículo 15 minutos antes. * Datos utilizados para determinar la dosis a la que se alcanza el 50% del efecto máximo posible (P>0.05 o P>0.01).

La inyección i. p. de EMAL (1.41-100.00mg/Kg) produjo antinocicepción. En la **Figura 3** se muestra que EMAL disminuyó significativamente el número de estiramientos después de la inyección de ácido acético. El efecto antinociceptivo de EMAL se observó con mayor claridad cuando se calculó el ABC y se comparó con el vehículo. En la **Figura 4** se presenta el efecto antinociceptivo dependiente de la inyección intraperitoneal de EMAL en el modelo de estiramiento abdominal, en el que se obtuvo una DE_{50} 2.53mg/Kg. La dosis de 3.00mg/Kg muestra mayor efecto antinociceptivo (57.86%) comparado con la administración del vehículo.

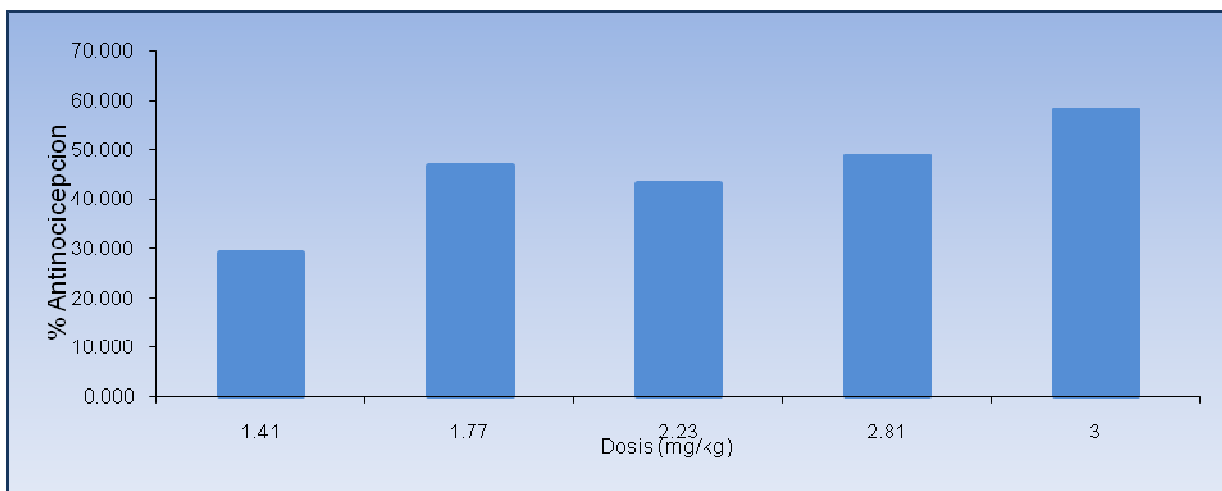


Figura 4. Efecto antinociceptivo de la administración de EMAL sobre la conducta nociceptiva inducida por ácido acético (0.6%). Los datos se encuentran expresados como ABC de los cursos temporales +/- el e. e. de 6 animales. DE_{50} 2.53mg/Kg. La DE_{50} obtenida de EMAL fue de 2.53mg/Kg, calculada utilizando los resultados obtenidos con las dosis de 1.41 (28.86%), 1.77 (46.55%), 2.23 (43.18%), 2.81 (48.65%) y 3.00 (57.86%) mg/Kg.

Como se ha mencionado anteriormente, uno de los usos de *Artemisa ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck en la medicina tradicional es para tratar la diarrea, cólicos, para evitar el aborto, incluso para infecciones de la sangre. En la clínica los fármacos que se utilizan generalmente para tratar este tipo de dolor son los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Sin embargo, considerando que el modelo de estiramiento abdominal también ha sido útil en la evaluación de sustancias que pueden ejercer una acción antiinflamatoria, los efectos antinociceptivos producidos por el EMAL pudieron ser comparados con los que produjo el diclofenaco, un fármaco que se utiliza para tratar el dolor moderado o moderadamente severo. El hecho de que el EMAL atenuó la respuesta nociceptiva por la prueba del ácido acético, nos da una señal de que en la acción antinociceptiva que este presenta se pueden encontrar involucrados

mecanismos periféricos, pero el objetivo del estudio no fue encaminado a determinar los mecanismos de acción antinociceptivos.

Una posible respuesta para la actividad antinociceptiva observada es el contenido de lactonas sesquiterpénicas que presentan las especies de la familia *Compositae*, misma a la que pertenece *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck.

Se utilizó una prueba estadística para validar los resultados obtenidos en la determinación de la actividad antinociceptiva de *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck, observándose en la **tabla 6** de este capítulo que el tratamiento con el EMAL es efectivo a dosis de 1.41 hasta 100 mg/Kg. El tratamiento con diclofenaco (control positivo) disminuyó el número de estiramientos abdominales. Se observa que entre el tratamiento de EMAL y diclofenaco ambos a dosis de 3 mg/Kg hay una diferencia significativa del efecto, mientras EMAL disminuye un 57.86%, diclofenaco disminuye un 9.11% (**Tabla 6 y Figura 5**).

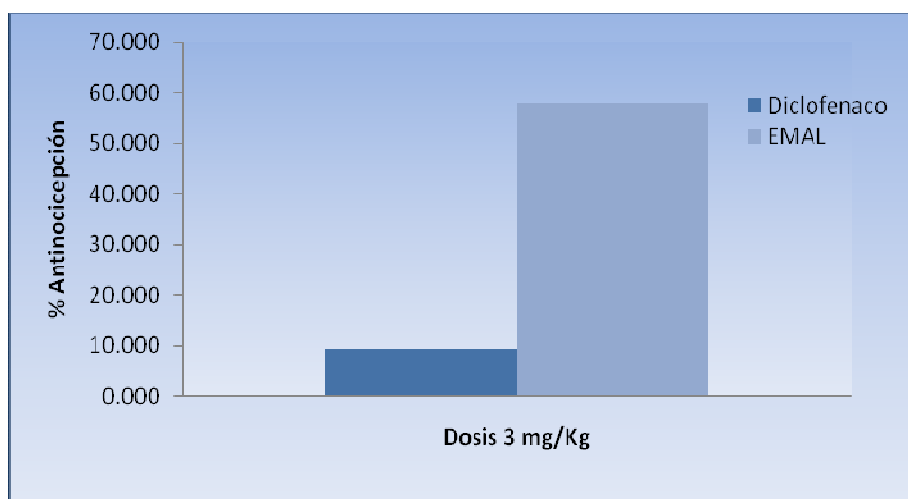


Figura 5. Comparación del efecto antinociceptivo de EMAL con diclofenaco ambas muestras a dosis de 3 mg/Kg.

El efecto antinociceptivo podría explicarse por la presencia de β -sitosterol, estigmasterol y campesterol como se muestra en la **tabla 3** del capítulo I, que de acuerdo a la literatura, la combinación de estos se utilizan como agentes antiinflamatorios y analgésicos, inhibiendo factores de inflamación inducida. Anexando a este último dato la afirmación de que en EMAL existe la presencia de flavonoides (**tabla 2** del capítulo I), compuestos que pueden llegar a interferir en el metabolismo de las prostaglandinas, especialmente PGE_2 , que son responsables de

la inflamación y el dolor, inhibición de la secreción de ácido clorhídrico, elevan la temperatura corporal cuando se incrementan las concentraciones de estas en ciertas áreas del cerebro, en seleccionadas líneas celulares de cáncer de colon incrementan el crecimiento, migración e invasión de las células e incrementa su resistencia a las apoptosis, llevándonos esta información a nuevas hipótesis.

Toxicidad

La toxicidad de EMAL y diclofenaco fue investigada por medio de un bioensayo con *A. salina*. Se utilizó el análisis de Probit para los experimentos realizados con las diferentes dosis de EMAL (triplicado) y así se determinó la CL_{50} . La CL_{50} de EMAL y de diclofenaco sódico frente a *A. salina* después de 24 horas de exposición presentaron una toxicidad <1000ppm.

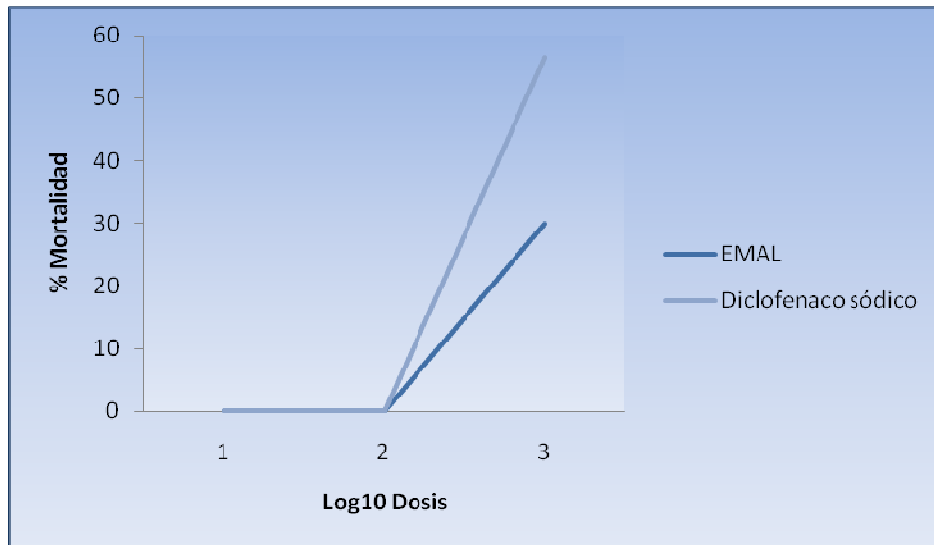


Figura 6. Toxicidad de EMAL y diclofenaco sódico frente a nauplios de *A. salina*. La regresión lineal de probit $y = 15x - 20$ fue utilizada para determinar la CL_{50} de EMAL (46,415.88 ppm). La regresión lineal de probit $y = 28.3x - 37.7$ fue utilizada para determinar la CL_{50} de diclofenaco sódico (1,259.27ppm).

De los resultados obtenidos después de la evaluación antinociceptiva del EMAL, se obtuvo una DE_{50} baja, dato que nos permite proponer la hipótesis que si a dosis bajas del extracto se logra tener un efecto terapéutico, de igual forma, a dosis bajas se puede llegar a un nivel tóxico y no poder ser empleado como medicamento. Por este motivo se realizó la prueba de toxicidad frente a *A. salina*.

Obtenidos los datos del EMAL estos fueron comparados con los de diclofenaco, resultando en ambos casos con una CL_{50} mayor a 1000 ppm, resultado que nos lleva a sugerir que al no administrar dichas dosis en humanos su uso como fitofármaco puede ser seguro.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

En el estudio fitoquímico preliminar (CCF) al EMAL fueron detectados los grupos de metabolitos secundarios: antronas, aceites esenciales, esteroides, flavonoides y terpenos. En el análisis de datos obtenidos por cromatografía de gases masas se logró detectar a 24 compuestos, entre los que destaca: espatulenol, por ser precursor de las lactonas sesquiterpénicas

El presente trabajo demuestra las propiedades antinociceptivas del EMAL, el cual se evaluó en un modelo animal que induce dolor de tipo visceral.

De los resultados obtenidos en la evaluación antinociceptiva del EMAL, se obtuvo una DE₅₀ de 2.53 mg/Kg, información que nos permite proponer que el extracto presenta una eficiencia antinociceptiva. Además los resultados respaldan el uso tradicional de *Artemisia ludoviciana* Nutt. ssp *mexicana* (Willd) Keck en el tratamiento sintomático de problemas relacionados con el dolor visceral (espasmos, cólico, dolor intestinal, estomacal, parasitosis etc.). Además el estudio comparativo con los efectos producidos por diclofenaco, establecen la importancia y eficacia antinociceptiva del extracto.

Finalmente de acuerdo al estudio de toxicidad, EMAL puede ser utilizado como un producto natural seguro, ya que se demostró que para alcanzar niveles tóxicos se debe consumir una gran cantidad de este extracto.

SUGERENCIAS

SUGERENCIAS

En el presente trabajo se demostró la actividad antinociceptiva de la administración i. p. de EMAL, en un ensayo algesiométrico químico agudo, que alivia muy efectivamente el dolor de tipo visceral.

Para complementar el estudio se sugiere:

1. Evaluar el efecto de EMAL por otras vías de administración y en otros estudios de dolor, para determinar si la vía del dolor es de tipo central o periférica.
2. Realizar la separación fitoquímica de compuestos, evaluarlos de forma independiente y combinada para así saber si es un compuesto, la combinación de ellos o en sí toda la planta lo que presenta el efecto antinociceptivo.

GLOSARIO

GLOSARIO

Ac. Araquidónico	Ácido grado insaturado, es el punto de partida de una serie de mediadores químicos importantes para las funciones corporales (prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, eicosanoides). Sintetizado en el hígado a partir del ácido linoleico.
Acido linoleico	Ácido graso esencial que debe ser aportado por la dieta en cantidades mínimas de 10 gramos por día.
Acetilcolina	Producto resultante de la acetilación de la colina con acetilcoenzima A, reacción catalizada por la colinesterasa o colinoacetiltransferasa. La acetilcolina es el transmisor nervioso en el sistema nervioso parasimpático, en los ganglios vegetativos y en la placa motora del músculo esquelético, y también en diferentes áreas del sistema nervioso central.
Acicalamiento	Acción que presentan los ratones para su aseo esmerado.
Algesia	Sensibilidad al dolor; hiperalgesia.
Alodinia	Desplazamiento de la sensopercepción dolorosa al lugar homólogo del otro lado del cuerpo.
Analgesia	Abolición de la sensibilidad al dolor, sin pérdida de los restantes modos de la sensibilidad.
Anestésicos	Agente o sustancia que produce anestesia.
Ansiedad	Término utilizado habitualmente para designar el temor de un sujeto ante un peligro real o imaginario.
Antiinflamatorio	Fármaco que detiene o impide la inflamación.
Artemisia	Género de plantas compuestas, con varias especies medicinales.
Axón	Cilindroeje de una célula nerviosa.
Bradicinina	Polipéptido endógeno formado por nueve aminoácidos, contenido en las plaquetas y liberado por la acción de la tripsina o ciertos venenos de serpiente. Provoca la permeabilidad capilar y descenso tensional.
Codeína	Alcaloide cristalino blanco, del opio; metilmorfina; analgésico, su acción hipnótica es menos que la de la morfina, no deprime la excitabilidad refleja ni la peristalsis intestinal; tampoco produce hábito.
Cólico	Dolor abdominal agudo intermitente, característico de las vísceras abdominales huecas.
Cromatografía	Proceso de separación que, por medios físicos, permite llevar a nivel macroscópico las diferencias que existen en el molecular entre los constituyentes de una disolución.
Depresión	Condición emocional caracterizada básicamente por alteraciones del humor, tristeza, disminución de la autoestima, inhibición, fatigabilidad, insomnio, etc.
Diclofenaco	Fármaco perteneciente al grupo de los antiinflamatorios no esteroideos, que se utilizan en la terapéutica de las enfermedades reumáticas.
Dolencia	Achaque, enfermedad de carácter crónico comúnmente.
Dolor	Impresión penosa experimentada por un órgano o parte y transmitida al cerebro por los nervios sensitivos.

Enzima	Sustancia capaz de acelerar o provocar ciertos procesos químicos sin sufrir ninguna modificación. Son complejos orgánicos que catalizan las reacciones bioquímicas y están compuestos por un grupo prostético o coenzima, que tiene especificidad funcional, y un grupo proteico o apoenzima, con especialidad de sustrato.
Etiología	Parte de la medicina que tiene por objeto el estudio de las causas de la enfermedad.
Étnico	Relativo a las raza y a sus caracteres.
Fármaco	Droga, medicamento.
Fentanilo	Analgésico central opiáceo de síntesis. Empleado en la neuroleptoanalgesia y otras técnicas anestésicas en las cuales la analgesia tiene un importante papel.
Fiebre	Síndrome complejo integrado por hipertermia, taquicardia, taquipnea, estado saburral, quebrantamiento e intranquilidad o estupor.
Gripe	Nombre vulgar de la bronquitis febril. Influenza, enfermedad infecciosa aguda, epidémica o pandémica causada por un virus, <i>influenzavirus</i> .
Hemorragia	Salida de más o menos copiosa de sangre de los vasos por rotura accidental o espontánea de éstos.
Hemorroides	Hemorroides Tumores vasculares formados por dilataciones varicosas de las últimas raíces de las venas hemorroidales; pueden motivar un flujo sanguíneo anal.
Heroína	Éter diacético de la morfina, diacetilmorfina; polvo cristalino, amargo, blanco. Anodino y sedante; se emplea el clorhidrato al interior para combatir la tos espasmódica de tipo irritativo. Produce un hábito de iguales o peores consecuencias que el de la morfina, por lo que en ciertos países se ha prohibido o regulado su empleo.
Hiperalgnesia	Sensibilidad excesiva al dolor; hiperalgnesia dolorosa.
Histamina	Amina depresora que se encuentra en el cornezuelo del centeno y en el organismo animal, donde se produce por descarboxilación de la histidina. Se le considera la hormona hística que produce vasodilatación y aumento de la permeabilidad capilar y participa en las reacciones inflamatorias y de hipersensibilidad. Es una sustancia muy activa, aún en cantidades mínimas, que se libera en el colapso anafiláctico y se halla presente, en pequeña concentración, en determinadas células y tejidos.
Inflamación	Estado morbozo complejo con fenómenos generales, diversamente definido, que en sustancia se reduce a la reacción del organismo contra un agente irritante o infectivo y que se caracteriza esencialmente, desde los tiempos de Celso, por los cuatro síntomas cardinales: <i>rubor, tumor, calor y dolor</i> , a los que Galeno añadió el de <i>functio laesa</i> (trastorno funcional), que se produce histológicamente por vasoconstricción primitiva, seguida de vasodilatación, lentitud de la corriente sanguínea, acumulación y emigración de leucocitos, exudación de líquido y fase de cicatrización.
Infusiones	Operación farmacéutica de verter agua hirviendo sobre drogas vegetales para obtener sus principios activos medicamentosos, o de echar la droga en un vaso con agua hirviente.

Leucocitos	Glóbulos blancos de la sangre formados en las porciones linfoidea, mielopoyética y reticular del sistema reticuloendotelial. En la sangre circulante se encuentran dos variedades principales: <i>granulocitos</i> (eosinófilos, basófilos, neutrófilos) y <i>agranulocitos</i> o <i>linfocitos</i> y <i>monocitos</i> .
Linfocito	Célula sanguínea mononucleada que tiene un papel fundamental en la respuesta inmunológica del organismo y que se encuentra habitualmente en el torrente circulatorio y en los llamados órganos linfoides (ganglios linfáticos, bazo, timo). Existen dos tipos denominados T y B, morfológicamente idénticos y con origen común en la médula ósea. Os linfocitos T (timo dependientes), intervienen fundamentalmente en la inmunidad celular; durante su desarrollo pasan obligatoriamente por el timo, donde sufren un proceso de diferenciación funcional. Los linfocitos B (bursodependientes) se encargan de la inmunidad humoral (elevación de anticuerpos).
Mastocito	Célula cebada.
Metadona	Dimetilaminodifenilhepamona; sustancia analgésica sintética de efectos analgésicos similares a los de la morfina, ala que puede sustituir. Se ha empelado en la cura de desmorfinización por ser más leves los síntomas de carencia a los que da lugar la supresión de la administración.
Mielina	Sustancia blanca refringente, que en el tubo nervioso incluye el cilindroeje y está rodeada por la vaina de Schwann.
Morfina	Alcaloide del opio, el más importante y activo, cristales brillantes, amargos, alcalinos. Tiene las propiedades del opio, pero es más analgésico y menos narcótico. Por su escasa solubilidad se emplean preferentemente sus sales: <i>clorhidrato</i> , <i>sulfato</i> , <i>acetato</i> , <i>tartrato</i> , etc., todas con iguales indicaciones y dosis semejantes a las del clorhidrato, que es la sal más usada, tanto al interior como en inyecciones hipodérmicas.
Nervio	Órgano en forma de cordón, conductor o transmisor de impulsos o sensaciones. Los nervios están compuestos de fibras nerviosas o tubos nerviosos reunidos en fascículos, cada uno de éstos rodeado por una envoltura propia, <i>perineurio</i> , separados unos de otros por tabiques de tejido conjuntivo, <i>endoneutio</i> , y reunidos por una vaina común, <i>epineurio</i> .
Neurona	Elemento constituido por la célula nerviosa y sus prolongaciones, considerado como la unidad histológica y fisiológica del sistema nervioso.
Nociceptor	Terminación nerviosa o neurona receptora de estímulos ofensivos o de dolor.
Organismo	Conjunto de partes organizadas. Todo ser vivo, animal o vegetal.
Parasitosis	Enfermedad o infección parasitaria.
Parenteral	Efectuado por vía distinta a la digestivo o intestinal.
Plaqueta	Uno de los elementos constituyentes de la sangre, en forma de discos ovoides o circulares, de 2 o 3 micrómetros de diámetro, muy alterables, que existen en número de 250000 por mm ³ . Contribuyen a la coagulación de la sangre.
Plasma	Parte líquida de la sangre en la que están suspendidos los elementos figurados.

Poción	Preparación magistral líquida que se administra al interior a cucharadas y suele contener, en un volumen de 120 a 200 ml, la dosis de medicamento activo para un día.
Quistes	Tumor formado por un saco cerrado, normal o accidental, especialmente el que contiene líquido o una sustancia semisólida.
Receptor	Término de Sherrington para el aparato u órgano periférico que recibe un estímulo denominado distintamente.
Serotonina	Sustancia que se produce en el organismo en el curso del metabolismo del triptófano, por oxidación y descarboxilación. Se forma en las células argentafines y enterocromafines del tubo intestinal, y transportada dentro de las plaquetas, circula por sangre. Vasoconstrictora y favorecedora del peristaltismo intestinal.
Subcutáneo	Situado, que ocurre o se practica debajo de la piel; hipodérmico.
Sufrimiento	Sensación penosa, padecimiento.
Tos	Expulsión súbita, ruidosa, más o menos repetida y violenta, de aire de los pulmones.
Toxicidad	Dosis mortal mínima o cantidad menor de una sustancia capaz de matar a un animal de 1 Kg.
Transdérmica	A través de la dermis o de la piel; transcutáneo.
Trigémico	Nervio trigémico, trifacial o quinto par.
Úlcera	Solución de continuidad con pérdida de sustancia de cualquier superficie epitelial del organismo, con escasa o nula tendencia a la cicatrización espontánea.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFIA

- Al-Chaer E.D., Traub R.J. Biological basis of visceral pain: recent developments. *Pain* 2002; 96: 221-225.
- Alcom JB. 1984. Huastec Mayan Ethnobotany. Austin, TX: Univ. Texas Press. 982 pp.
- Backhouse N, Rosdes L, APalolaza, Goity L, Erazo S, Negrete R, Theodoloz C, Rodríguez J, Delporte C. Analgesic, antiinflammatory and antioxidant properties of *Buddleja globoda*, Buddlejaceae. *J Ethnopharmacol* 2008; 116(2); 262-9.
- Baik JS, Kim SS, Lee JA, Oh TH, Kim JY, Lee NH, Hyun CG. Chemical composition and biological activities of essential oils extracted from Korean endemic citrus species. *J Microbial Biotechnol* 2008; 18(1):74-9.
- Beyra A, León MA, Iglesias E, Ferrándiz D, Herrera R, Volpato G, Godínez D, Guimaraes M, Álvarez R. Estudios etnobotánicos sobre las plantas medicinales en la provincia de Camagüey (Cuba). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 2004; 61 (2):185-204.
- Bonilla-Rivera P, Arroyo-Acevedo J, Chávez-Flores J. Estudio fitoquímico y efecto antiulceroso del extracto acuoso de hojas *Vallea stipularis* L. f. "chuillu" en ratas. *Rev Acad Peru* 2007; 14(2):102-107.
- Bork PM, Schmitz ML, Kuhnt M, Escher C, Heinrich M. Sesquiterpene lactone containing Mexican Indian medicinal plants pure sesquiterpene lactone as potent inhibitors of transcription factor kB (NF-KB). *FEBS Lett* 1997; 402:85-90.
- Bork PM, Schmitz ML, Waimann C, Kist M, Heinrich M. Nahua Indian medicinal plants (Mexico): inhibitory activity of NF-kB as an anti-inflammatory model and antibacterial effects. *Phytomedicine* 1996; 3(2):263-69.
- Butler M. The role of the natural product chemistry in drug discovery. *J. of Nat. Prod.* 2004; 67:2141-2153.
- Bye R. Medicinal plants of the Sierra Madre: comparative study of Tarahumara and Mexican market plants. *Econ. Bot* 1986; 40:103-24 pp.
- Campos-Miño S. DOLOR Un enfoque fisiopatológico, biomolecular y terapéutico. *Rev Ec Ped*; 37-40.
- Chao LK, Hau KF, Hsu HY, Cheng SS, Liu JY, Chang ST. Study on the anti-inflammatory activity of the essential oil from leave of *Cinnamomum osmophloeum*. *Phytochemistry* 2005; 57(18): 7274-8.
- Crotti AE, Cunha WR, Lopes NP, Lopes JL. Sesquiterpene Lactones from *Minasia alpestris*. *J. Braz. Chem. Soc* 2005; 16(3B): 677-680.
- Exarchou V. Hyphenated chromatographic techniques for the rapid screening and identification of antioxidants in methanolic extracts of pharmaceutically used plants. *J. Chromatogr. A* 2006; 1112:293-302.
- Exharchou V. LC-NMR coupling technologies; recent advancements and applications in natural products analysis. *Magn. Reson. Chem.* 2005; 43:681-687 pp.
- Fernández PL. Tratamiento farmacológico del dolor. *Clínicas urológicas de la Complutense* 1996; 4: 207-241.
- Fernández-Said S, Ramos-Guerra MC, Cadenas-Mata BD, Villarreal-Vargas J, Villarreal-Treviño L. In vitro antiprotozoal activity of the leaves of *Artemisia ludoviciana*. *Fitoterapia* 2005; 76(5); 466-468.
- Flores J. Farmacología humana. Masson, tercera edición, Barcelona, 1999.

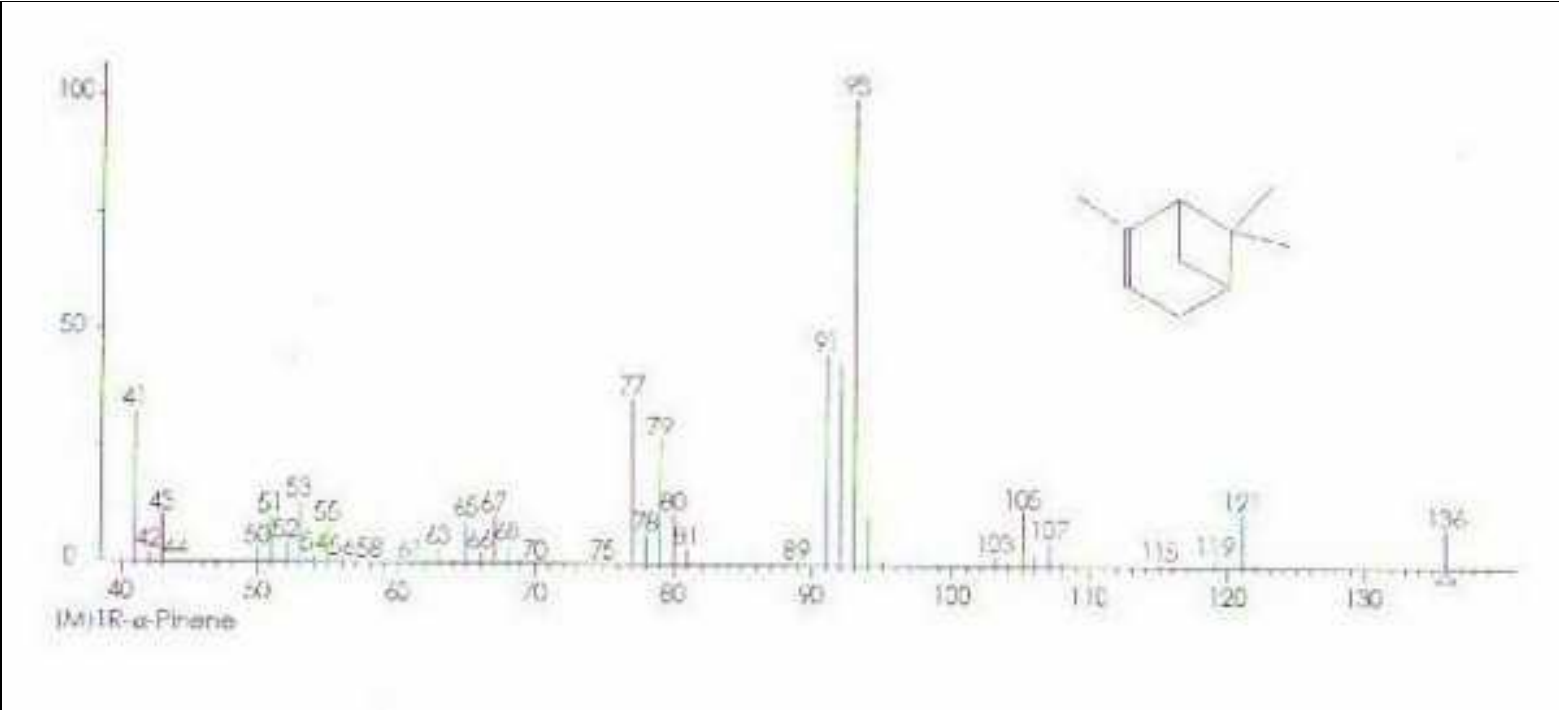
- Gomezese-Ribero OF, González-Olaya HL. Dolor: una mirada introductoria. *MEDNAB*, 2001; 4:1-6.
- Guyton AC, Hall JA. Tratado de fisiología médica. McGraw-Hill, décima edición, 2001.
- Heinrich M, Robles M, West JE, Ortiz-deMontelano BR, Rodríguez E. Ethnopharmacology of Mexican Asteraceae (Compositae). *Ann Rev Pharmacol, toxicol.* 1998, 38; 539-65.
- Hernández Fr. 1984. Comentarios a la obra de Francisco Hernández. UNAM, México D. F. 1984; Vol. 7.
- IASP. Pain terms: a current list with definitions and notes on usage. *Pain*, 1989; supp 3: S215-S221.
- Ji J, Zhan L, Wu YY, Zhu XY, Lu SQ, Sun XZ. Induction of apoptosis by de limonene is mediated by a caspase dependent mitochondrial death pathway in human leukemia cells. *Leuk Lymphoma* 2006; 47(12): 2617-24.
- Julius D, Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 2001; 413:203-210.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. Principios de neurociencia. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, cuarta edición, 2001.
- Kotan R, Kordali S, Cakir A. Screening of antibacterial activities of twenty-one oxygenated monoterpenes. *Naturforsch* 2007; 62(7-8): 507-13.
- Laird JMA, Martínez-Caro L, García-Nicas E, Cervero F. Un Nuevo modelo de dolor visceral e hiperalgesia referida en ratón. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 2002; 9: 291-300.
- Laird JMA, Martinez-Carol L, García-Nicas E, Cervero F. A new model of visceral pain and referred hyperalgesia in the Mouse. *Rev Soc Esp Dolor* 2002; 9: 291-300.
- Lee KH, Geissman TA. Sesquiterpene Lactones of *Artemisia* constituents or *A. ludoviciana ssp. mexicana*. *Phytochemistry*, 1970; 9: 503-408.
- Linares D, Bye R, Flores B. Plantas medicinales de México usos, remedios y tradiciones. Instituto de Biología. UNAM. México 1999; 155.
- Liu K, Rossi PG, Ferrar B, Beiti L, Casanova J, Tomi F. Composition irregular terpenoid, chemical variability and antibacterial activity of the essential oil from *Santolina corsica* Jordan et Fourr. *Phytochemistry* 2007; 68(12): 1698-705.
- Loizzo MR, Saab AM, Tundis R, Statti GA, Menichini F, Lampronti I, Gambari R, Cinatt J, Doerr HW. Phytochemical analysis and in vitro antiviral activities of the essential oils of seven Lebanon species. *Chem Biodivers* 2008; 5(3): 461-70.
- López-Luengo MT. Plantas medicinales antiinflamatorias utilizadas en el tratamiento del reumatismo. *OFFARM* 2003; 22: 118-122.
- Ly G, Knorres A, Schmidt TJ, Pahl HL, Merfort I. The Anti-inflammatory Sesquiterpene Lactone Helenalin Inhibits the Transcription factor NF- κ B by Directly Targeting p65. *J. of Biol. Chem.* 1998; 273: 50; 33508-33516.
- Malarz J, Stojakowska A, Kisiel W. Sesquiterpene Lactones in a Hairy Root Culture of *Cichorium intybus*. *Z Naturforsch* 2002; 57: 994-997.
- Marcil J, Walczack JS, Guindon J, Ngoc AH, Lu S, Beauliea P. Antinociceptive effects of tetrodotoxin in rodents. *British journal of Anesthesis.* 2006; 96(6): 761-8.
- Martins FT, Doriquetto AC, de Souza TC, de Souza KR, Dos Santos MH, Moreira ME, Barbosa LC. Composition and antiinflammatory and antioxidant activities of the volatile oil from the fruit peel of *Gorcinia brasiliensis*. *Chem Biodivers* 2008; 5(2): 251-8.

- McLaughlin J.L., Chang Ch y Smith D.L. Simple bioassays for the detection and isolation of bioactive natural products. Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy, School of Pharmacy and Pharmacol Science Purdue University, West Lafayette, In. 47907, USA . 1998.
- Melo MM, Habermehl GG, Castro V, Merfort I. Tepic utilization of sesquiterpene lactone from *Milleria quinqueflora* on the treatment of bothropic envenomation in rabbits. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec* 2005;57(4):548-552.
- Mizrahi B, Shapiro L, Domb AJ, Hourri-Haddad Y. Citrus oil and MgCl₂ as antibacterial and anti-inflammatory agents. *J Periodontol* 2006; 77(6): 963-8.
- Musa-Ozcan M, Chalchat JC. Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) oil from Turkey. *Int J Food Sci Nutr* 2008; 25: 1-8.
- Newman D. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. Journal of Natural Products and combinatorial chemistry: bach to the future. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2003; 66:1022-1037.
- Obafemi CA, Sulaimon TO, Akinpelu DA, Olugbade TA. Antimicrobial activity of extracts and a germacranolidetype sesquiterpene lactone from *Thithonia diversifolia* leaf extract. *African Journal of Biotechnology* 2006; 5:12; 1254-1258.
- Organización mundial de la propiedad intelectual. WO2007/083985 A1, 26 de julio de 2007.
- Pulido-Salas MT. Plantas útiles para consume familiar en la Región de la Frontera México-Belice. *Caribbean Journal of Science* 1993; 29(3-4): 235-249.
- Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaManta AS, McNamara JO. Invitación a la neurociencia. Editorial médica panamericana, Argentina, 2001.
- Quintero A, Pelcastre A, Solano JD. Antitumoral activity of new pyrimidine derivates of sesquiterpene lactones. *J Pharm Pharmaceut Sci* 1999; 2 (3): 108-112.
- Raber A, Garrido R, Peris F. Comparación farmacoeconómica de aceclofenaco con otros aines. *Rev Esp Econ Salud* 2003; 2(6):286-292.
- Ruiz-Cancino A, Cano AE, Delgado G. Sesquiterpene lactones and flavonoids from *Artemisia ludoviciana ssp. mexicana* *Phytochemistry* 1993; 33(5): 1113-115.
- Ruiz-Salazar C. 1989. Contribución al estudio de las plantas medicinales de las Delegaciones de Xochimilco. PhD thesis. México D. F. MEXU, Herbario nacional (UNAM) 1989.
- Rzedowski J, Calderón-Rzedowski. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Instituto de Ecología, A. C. Centro Regional del Bajío Pátzcuaro, Michoacán. 1997;60.
- Scholz J, Wolf CJ. Can we conquer pain? *NPG* 2002; 5:1062-67.
- Waizel-Bucay J, Waizel-Haiat S. Algunas plantas utilizadas popularmente en el tratamiento de enfermedades respiratorias Parte I. *AN ORL MEX* 2005; 50(4):76-87.
- Wagner H, Blandt S, Zgainski EM. Plant drug Analysis. A thin layer chromatography atlas. Springer-Verlag Heidelberg, New York 1984.
- Yousefzadi M, Sonboli A, Ebrahimi SN, Hashemi DH. Antimicrobial activity of the essential oil and major constituents of *Salvia chloroleuca*. *Phytochemistry* 2008; 63(5-6): 337-40.

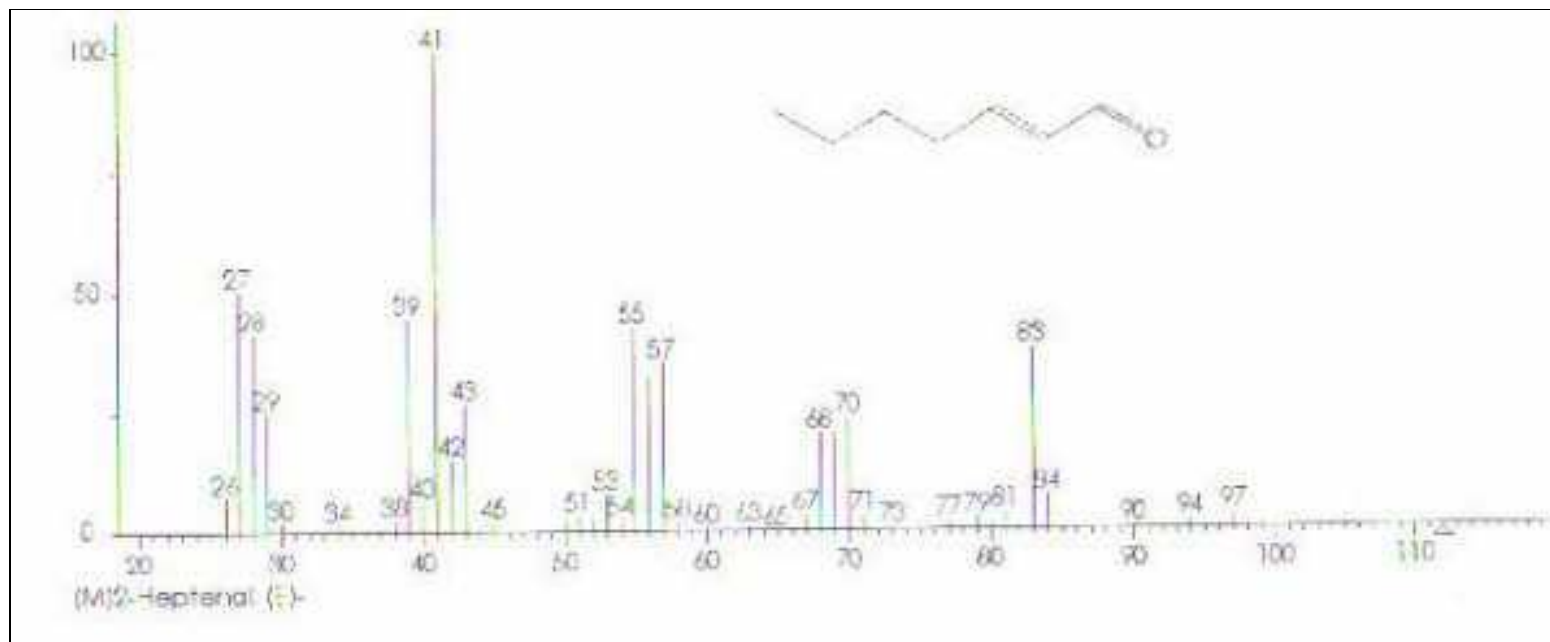
ANEXO

Espectros

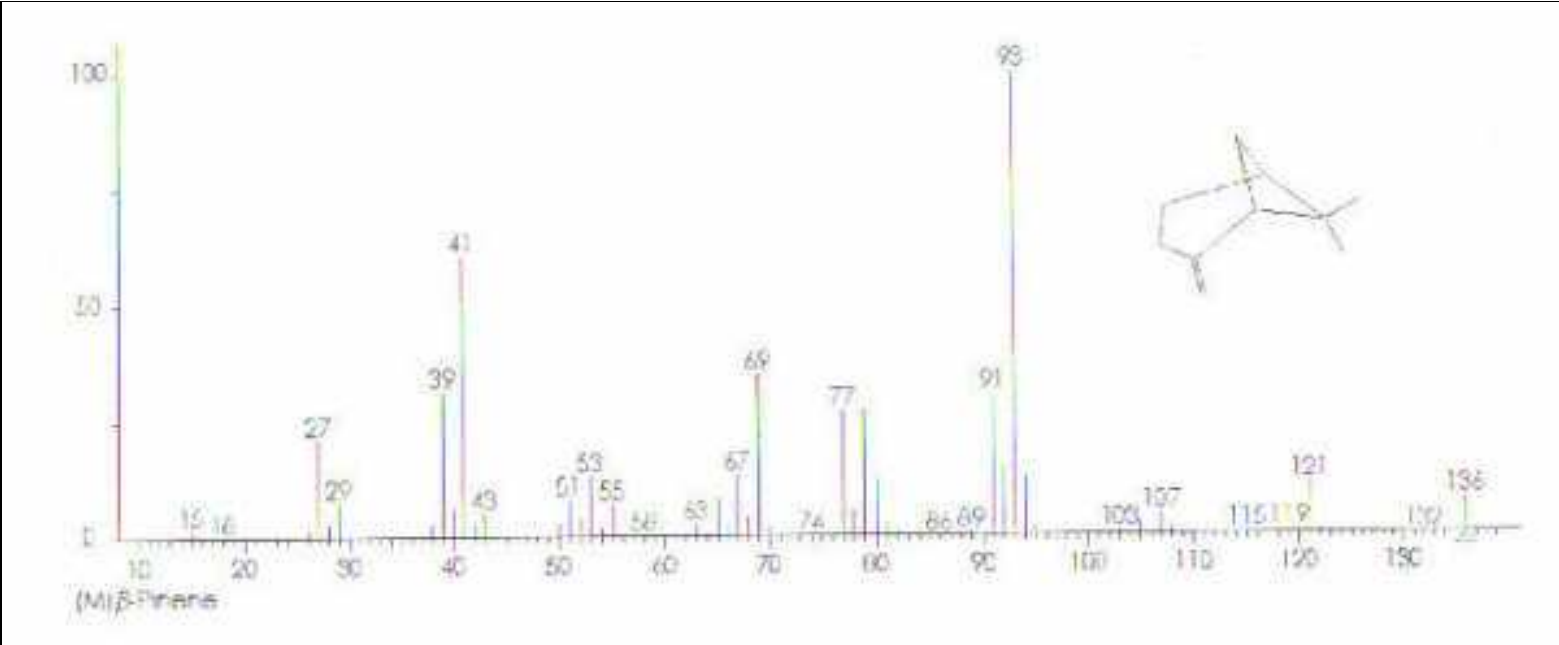
α -Pino



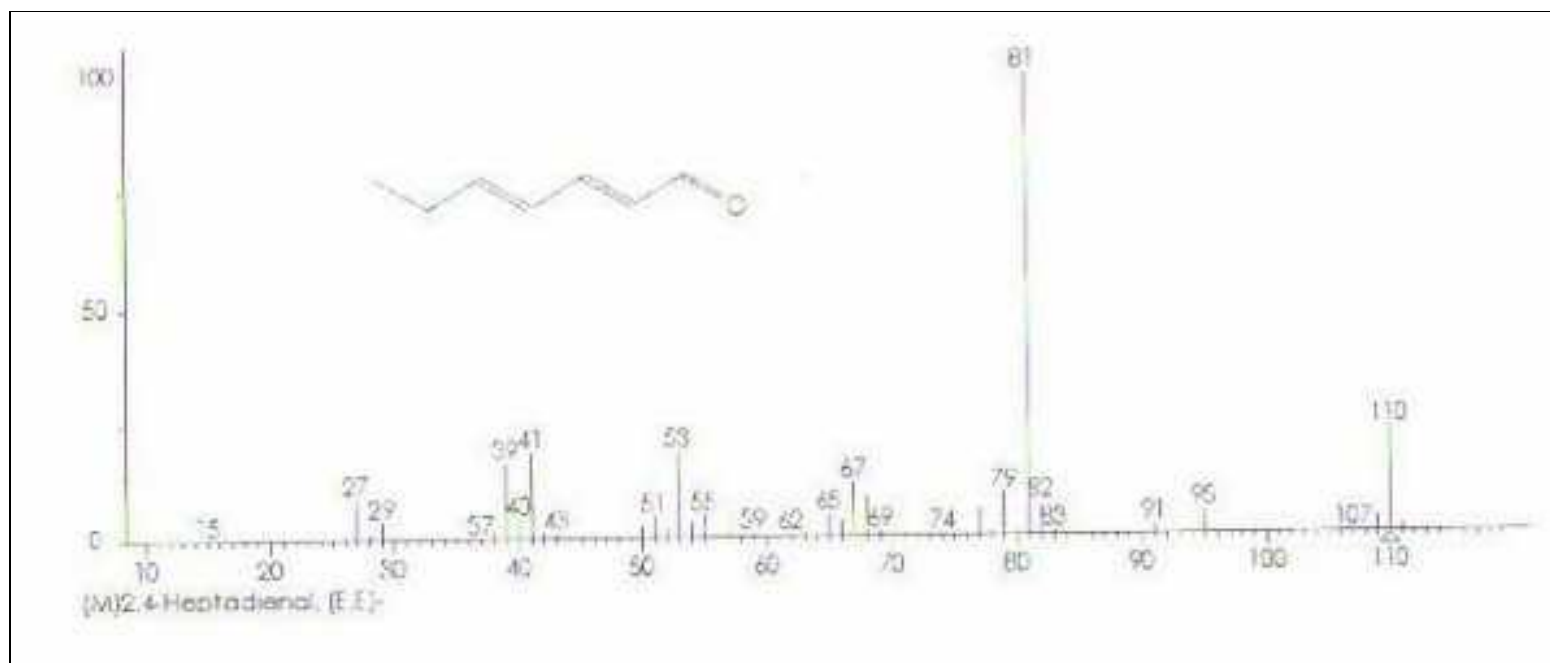
2-Heptanal



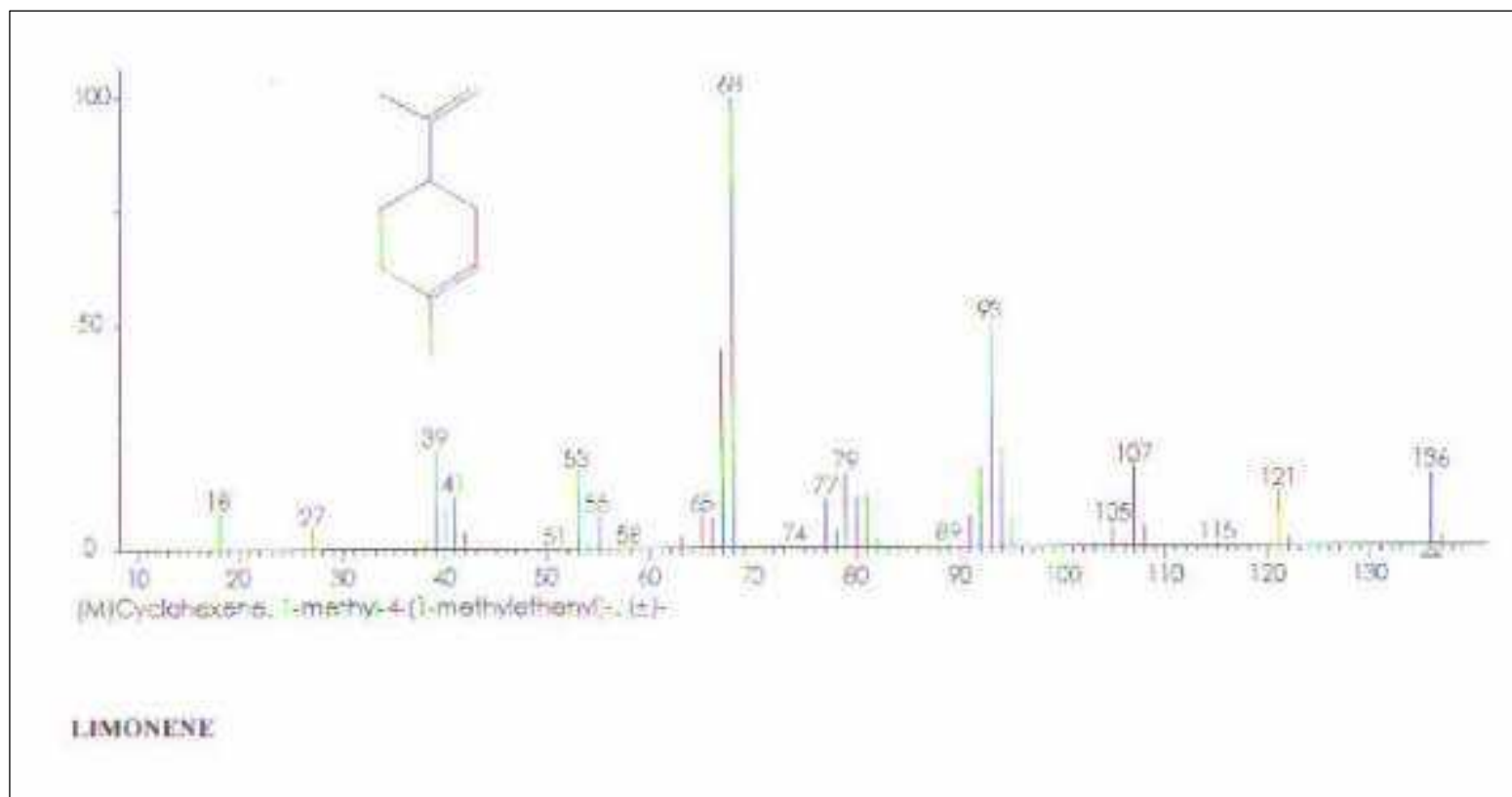
β-Pineno



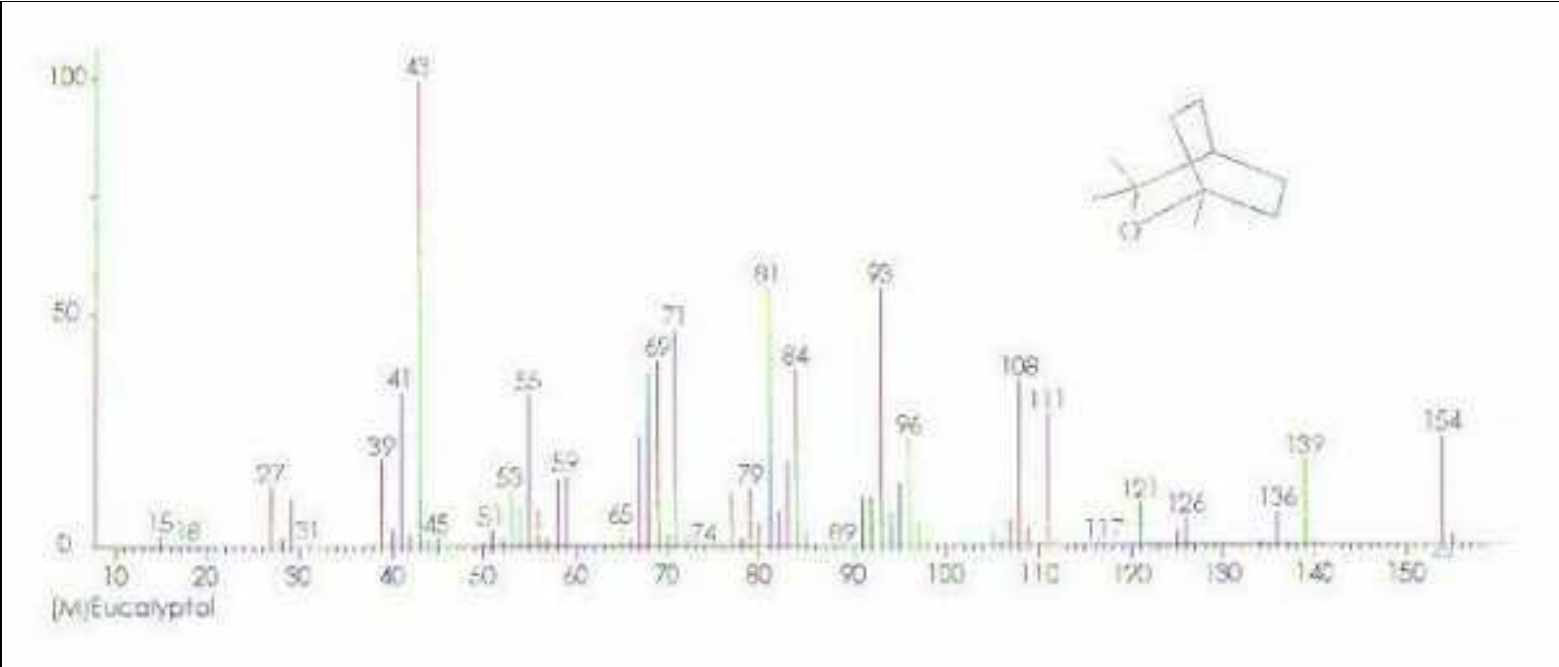
2,4-Heptadienal



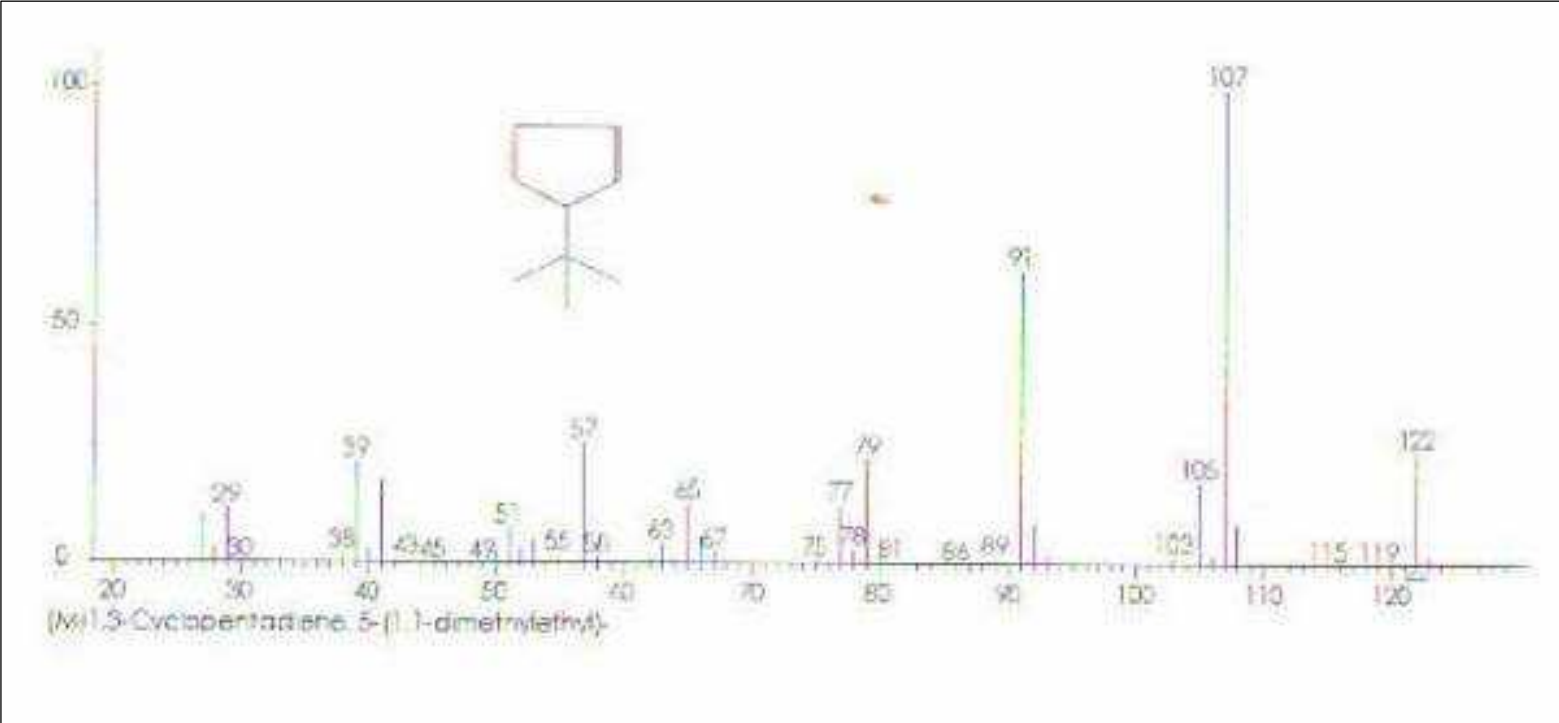
Limoneno



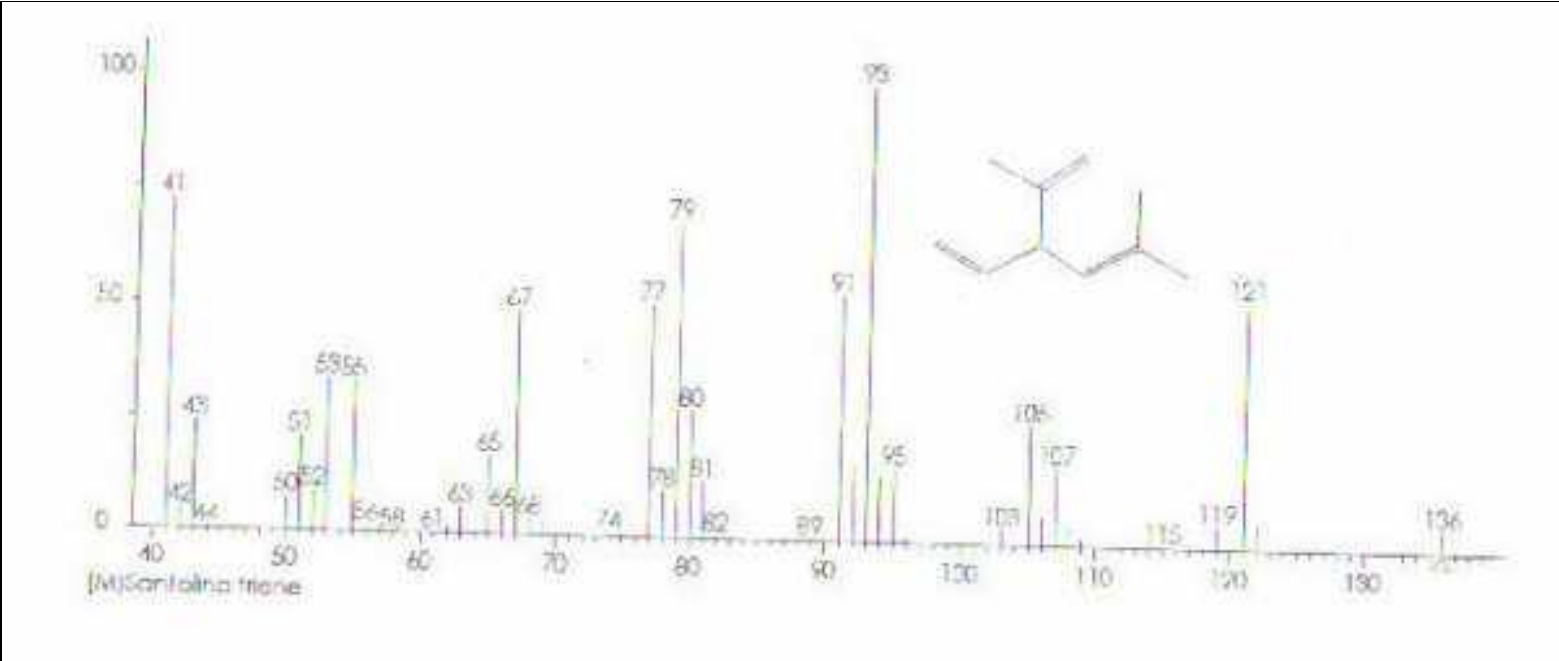
Eucaliptol



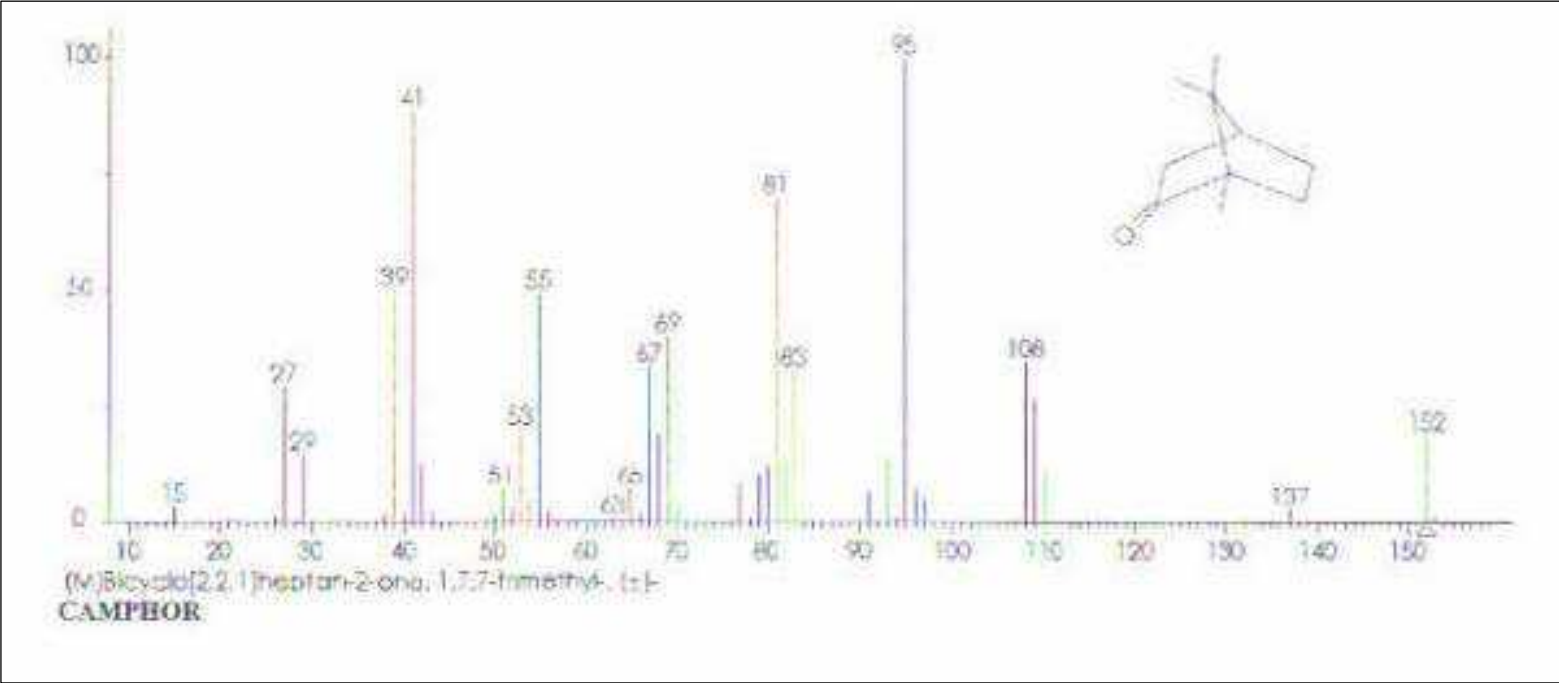
1,3-ciclopentadieno-5-(1,1-dimetiletil)



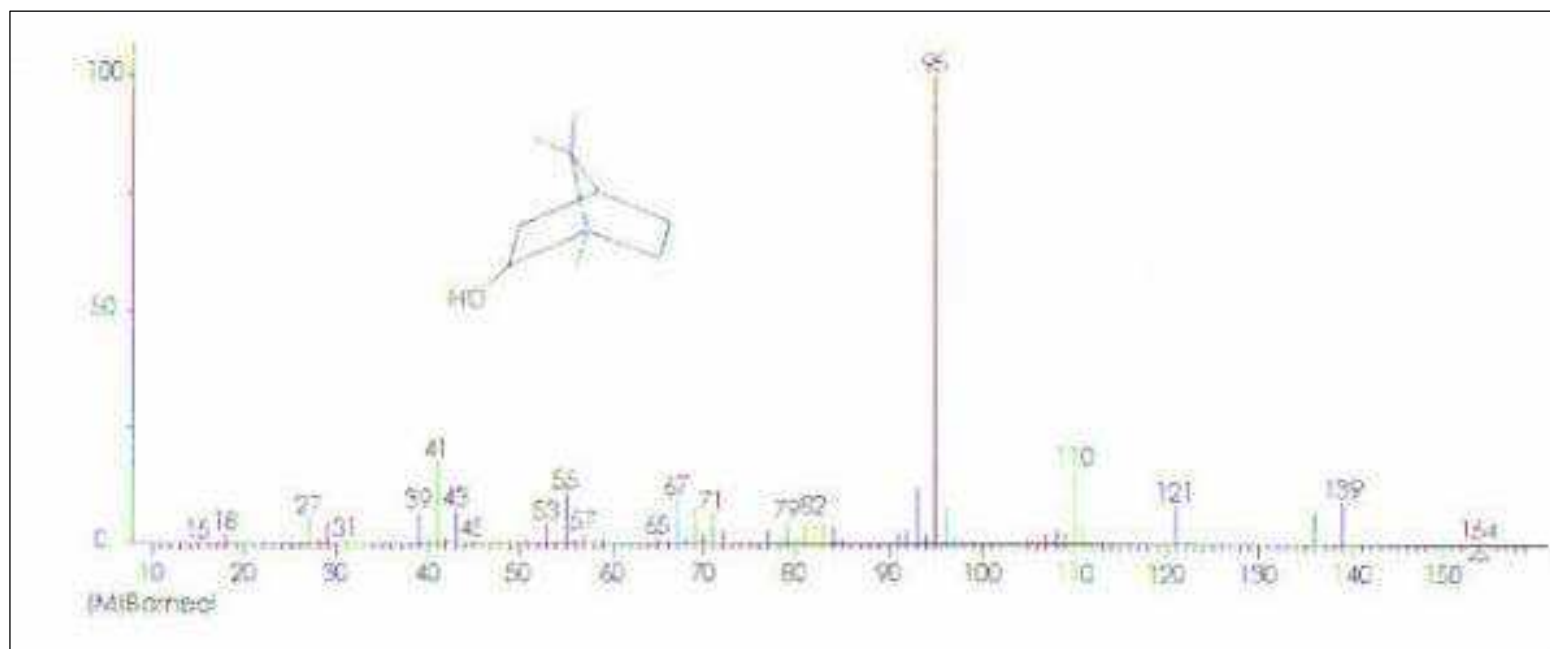
Santolina



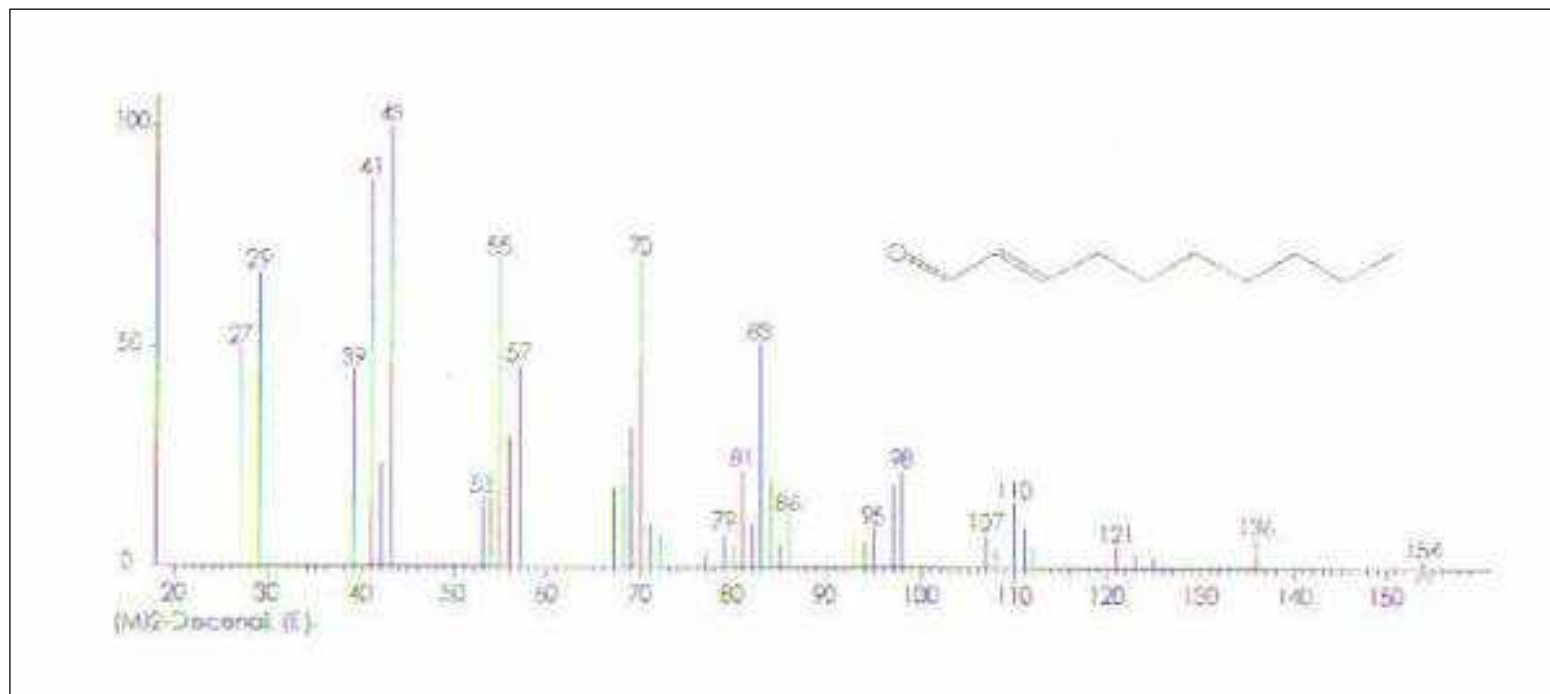
Alcanfor



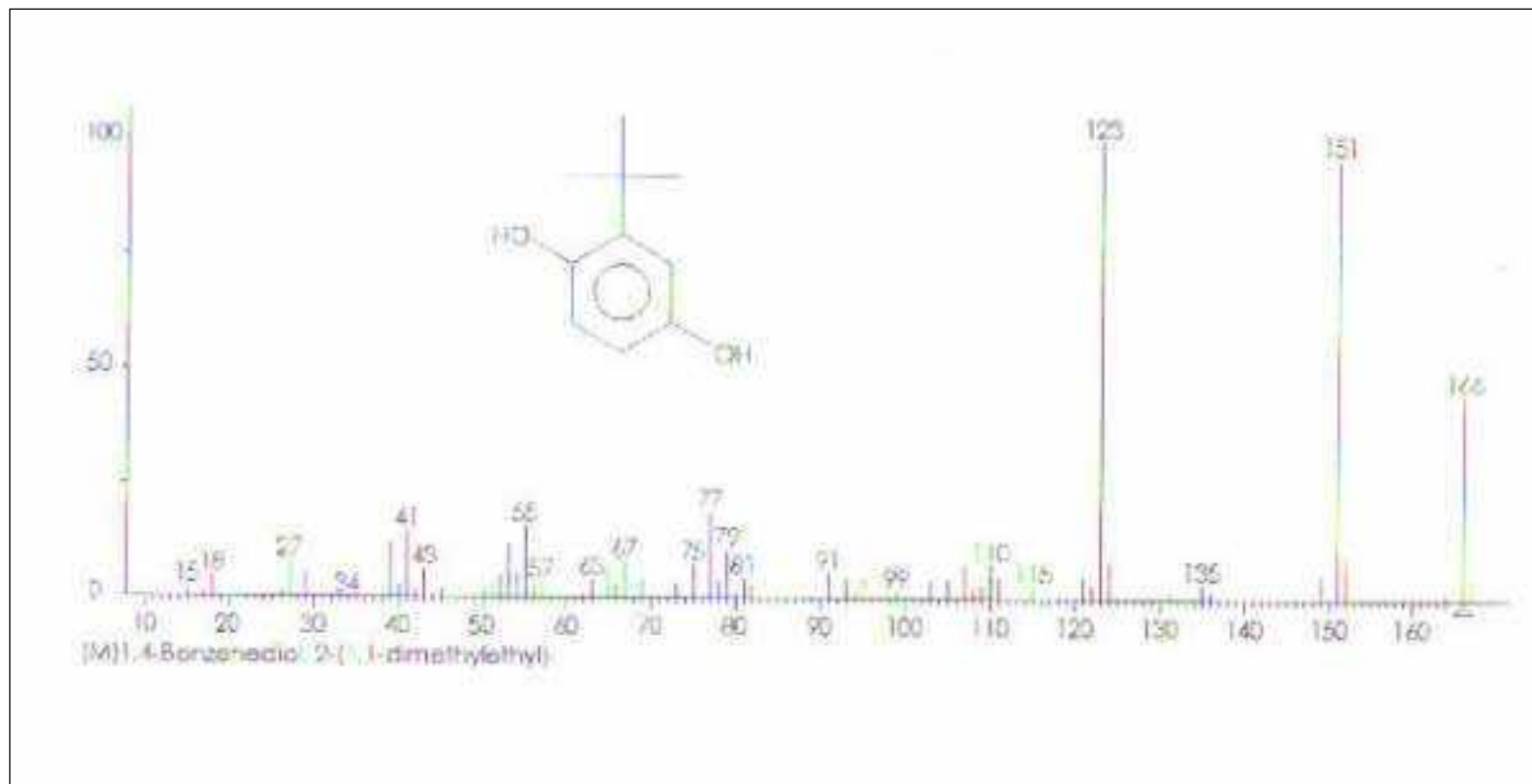
Borneol



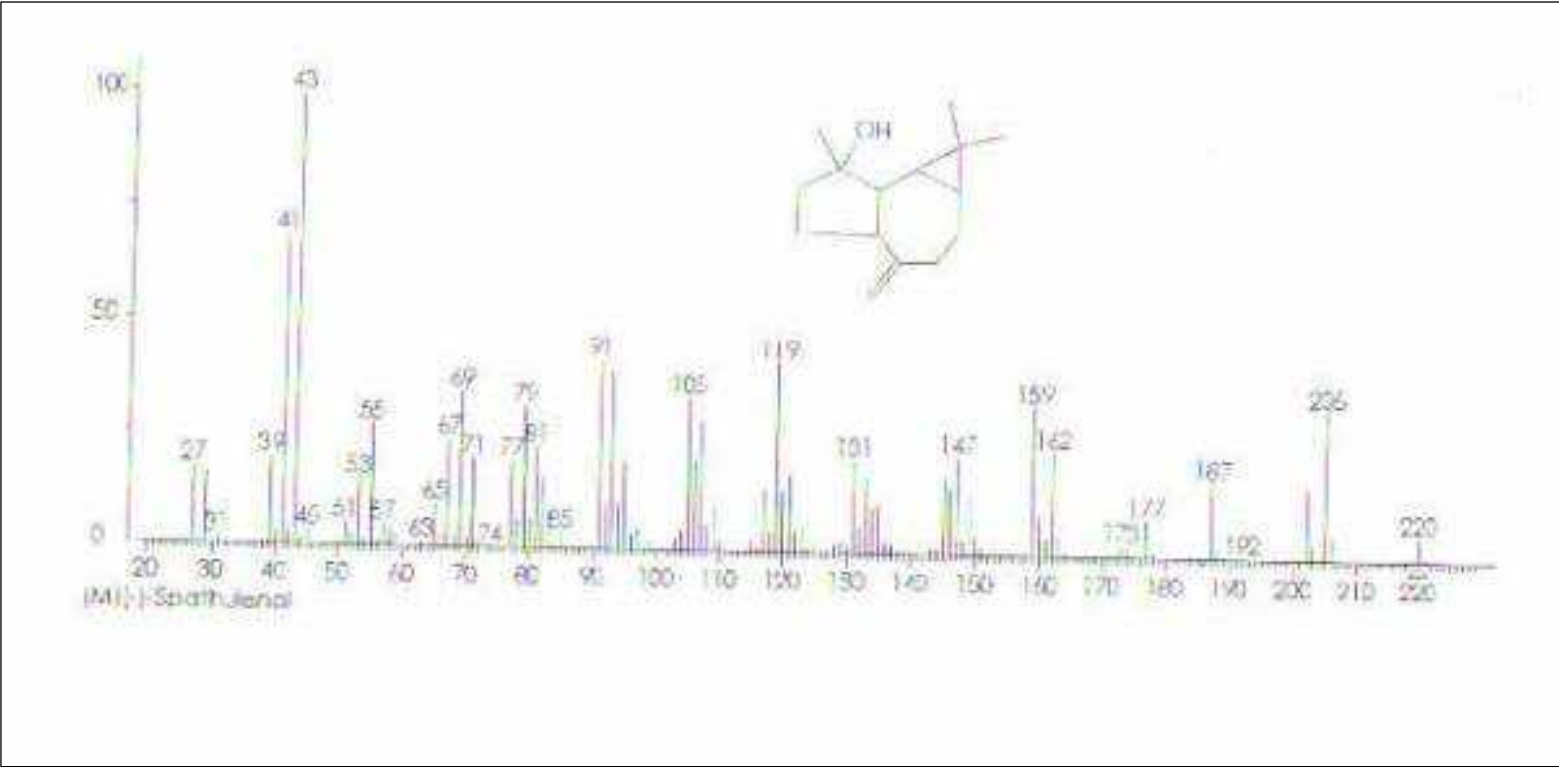
2-Decenal



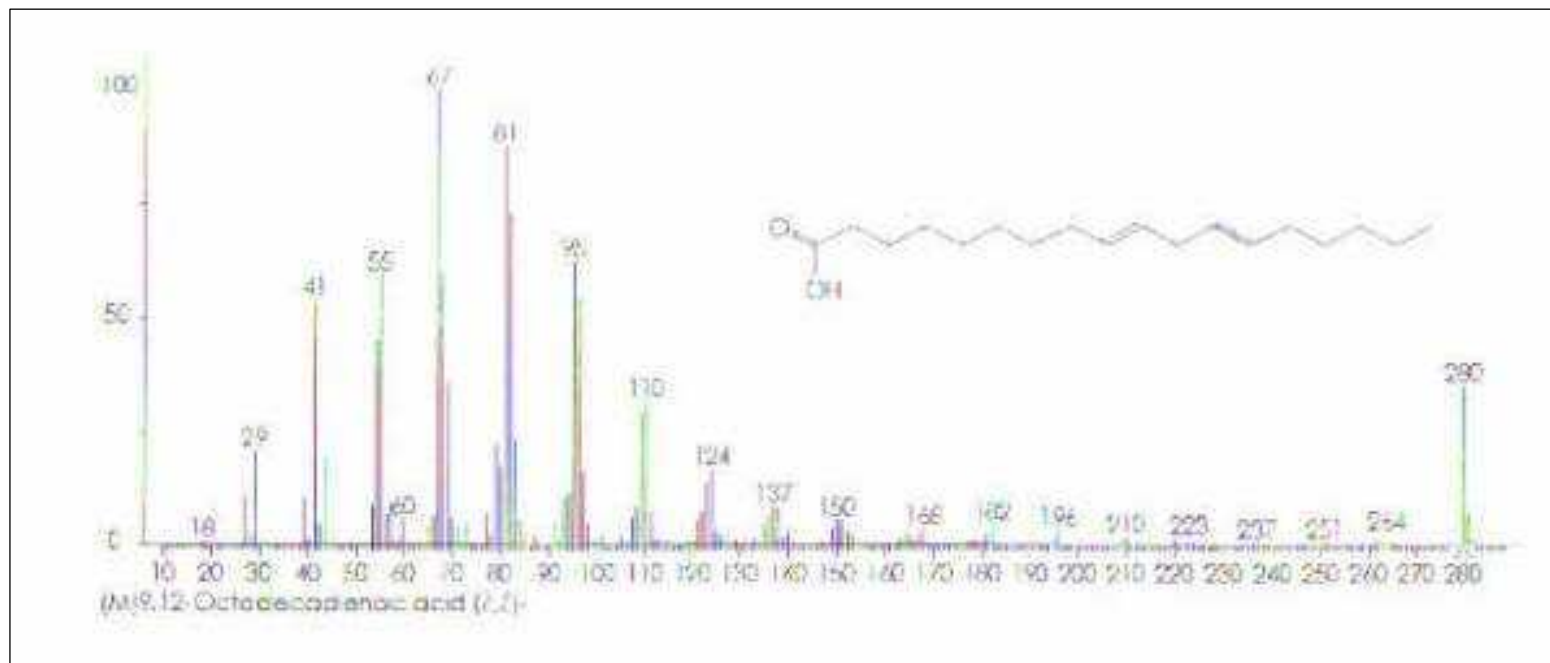
1,4-Benzenediol,2-(1,1-dimetilètil)



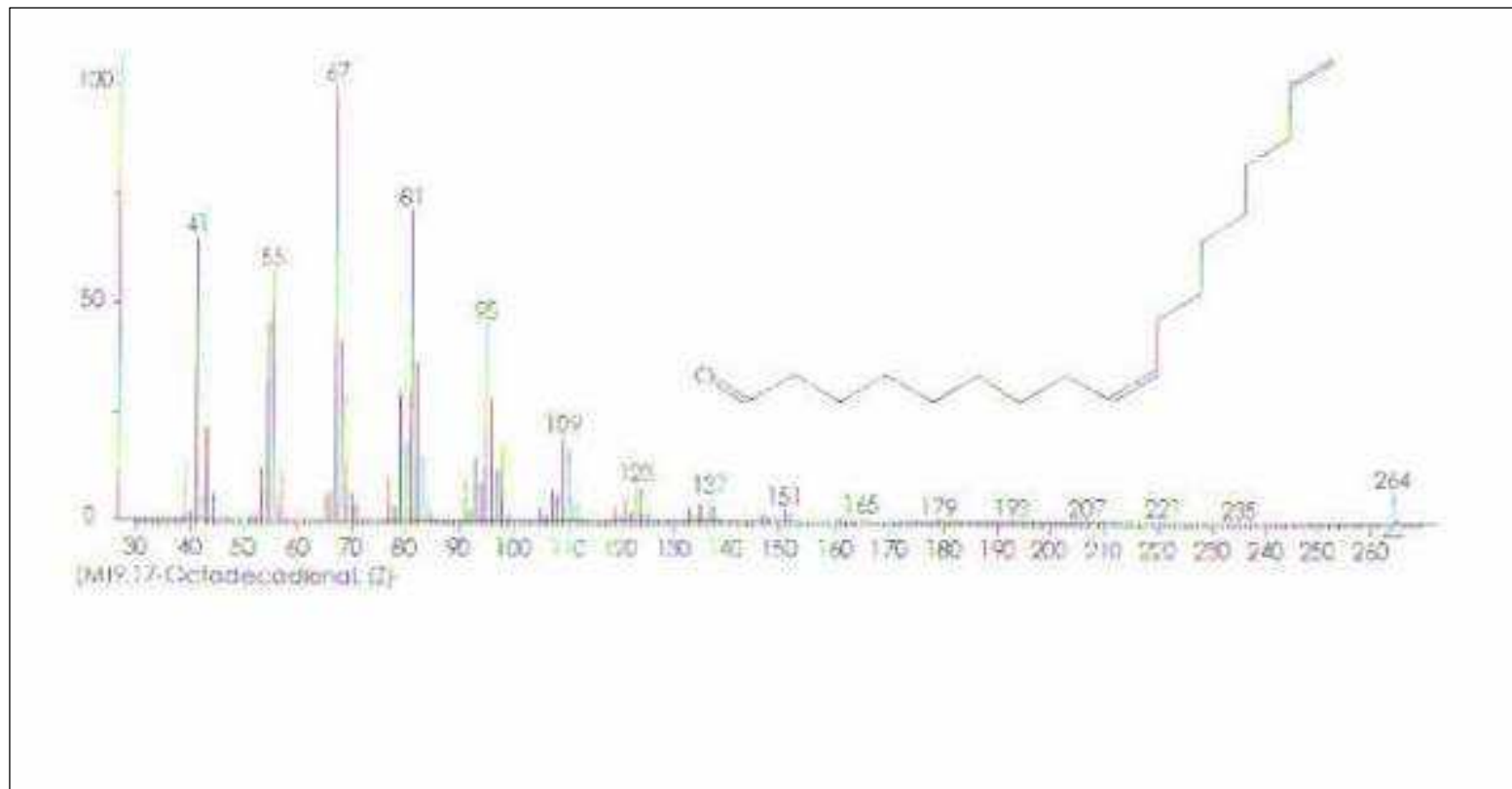
Epatulenol



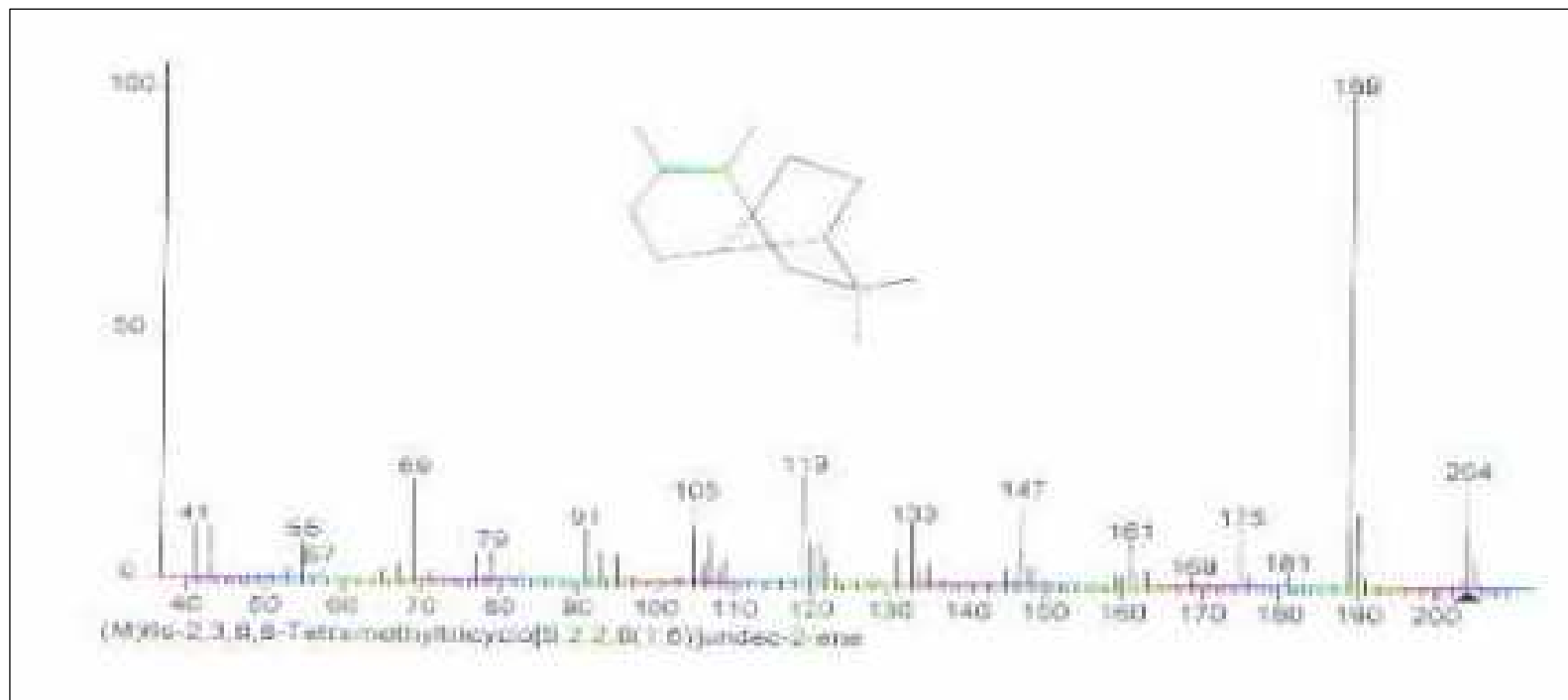
Ácido-9,12 octadecadienoico



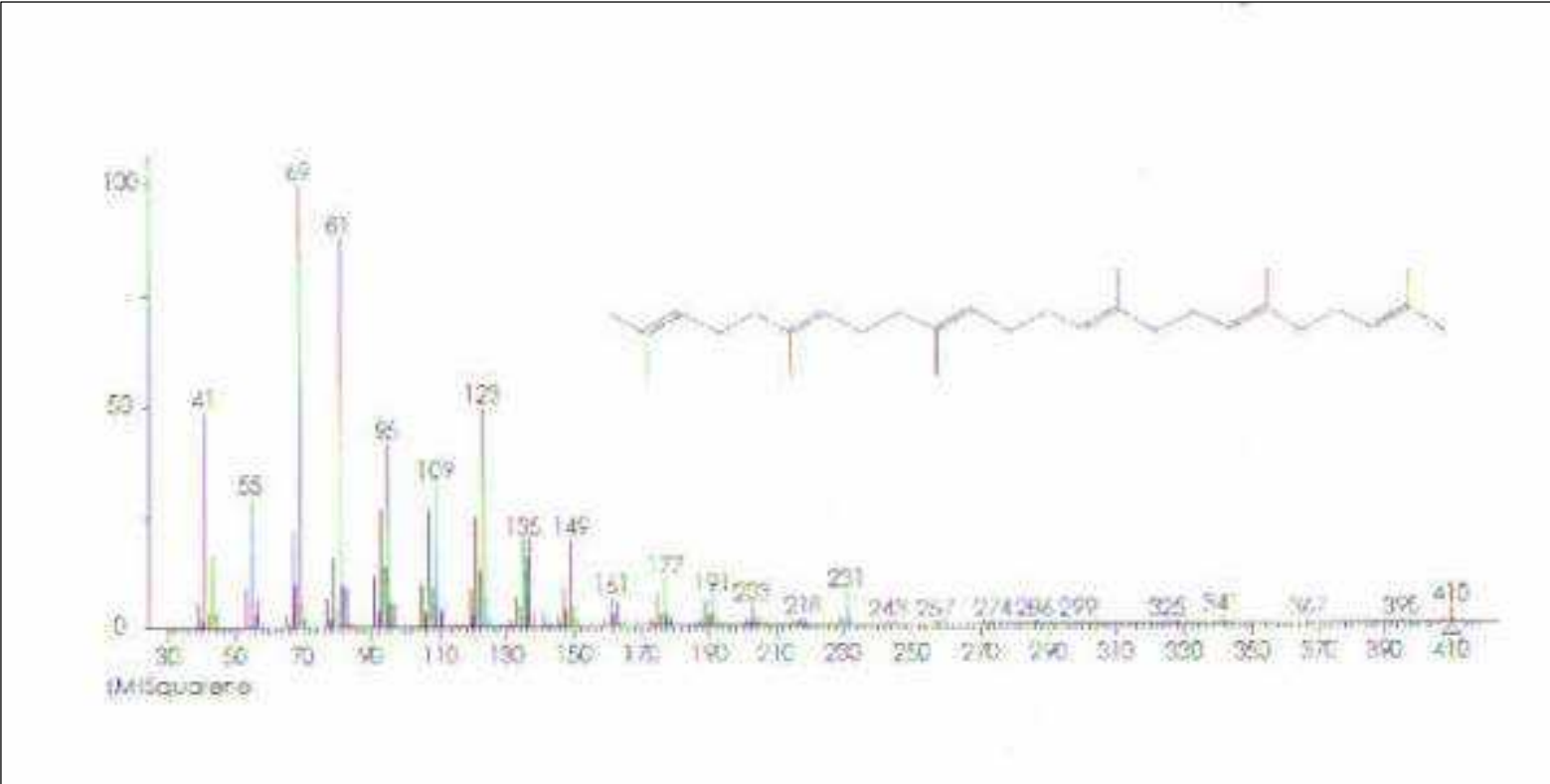
9,17-Octadecadienal



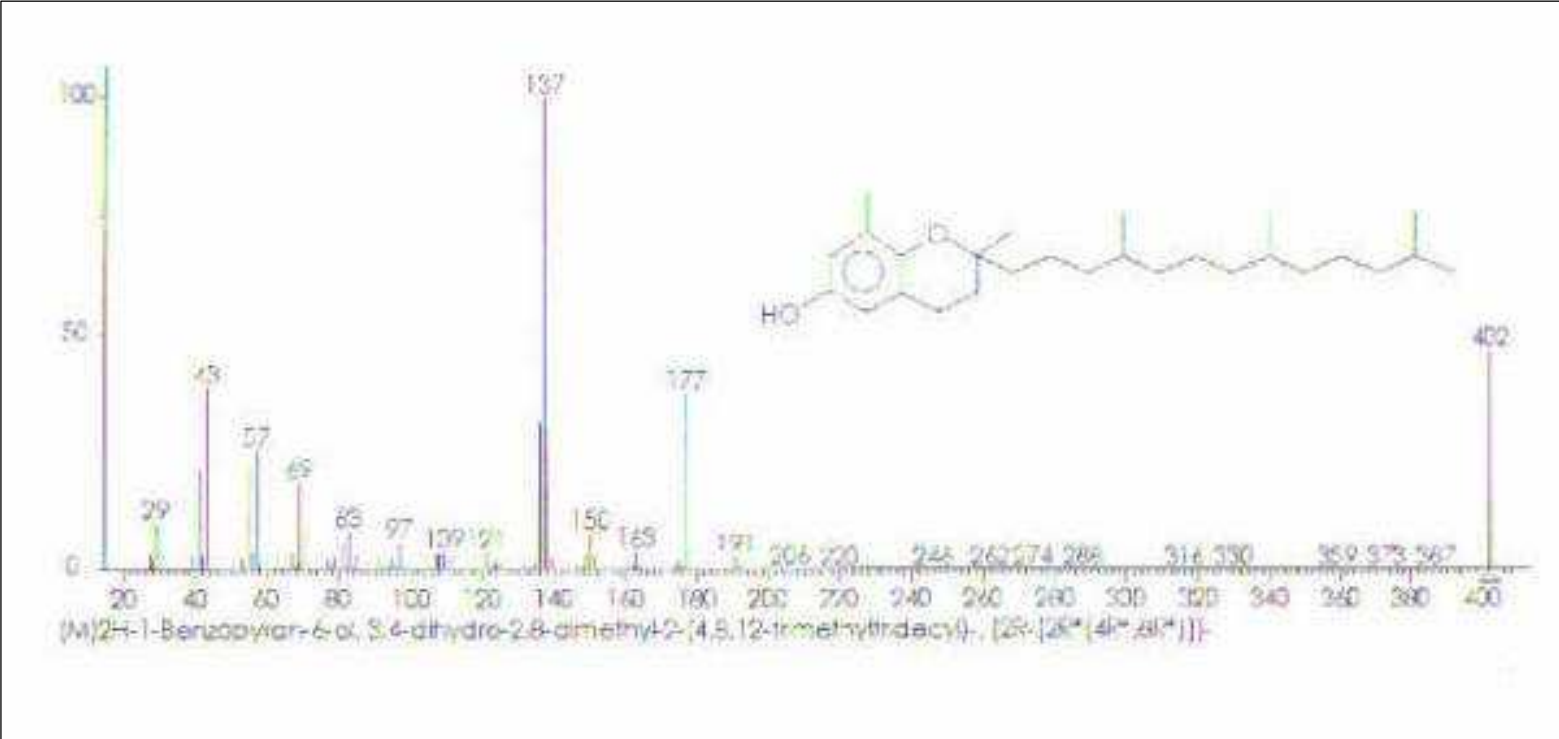
6s-2,3,8,8-Tetrametiltriciclo[5.2.2.0(1,6)]undec-2-ano



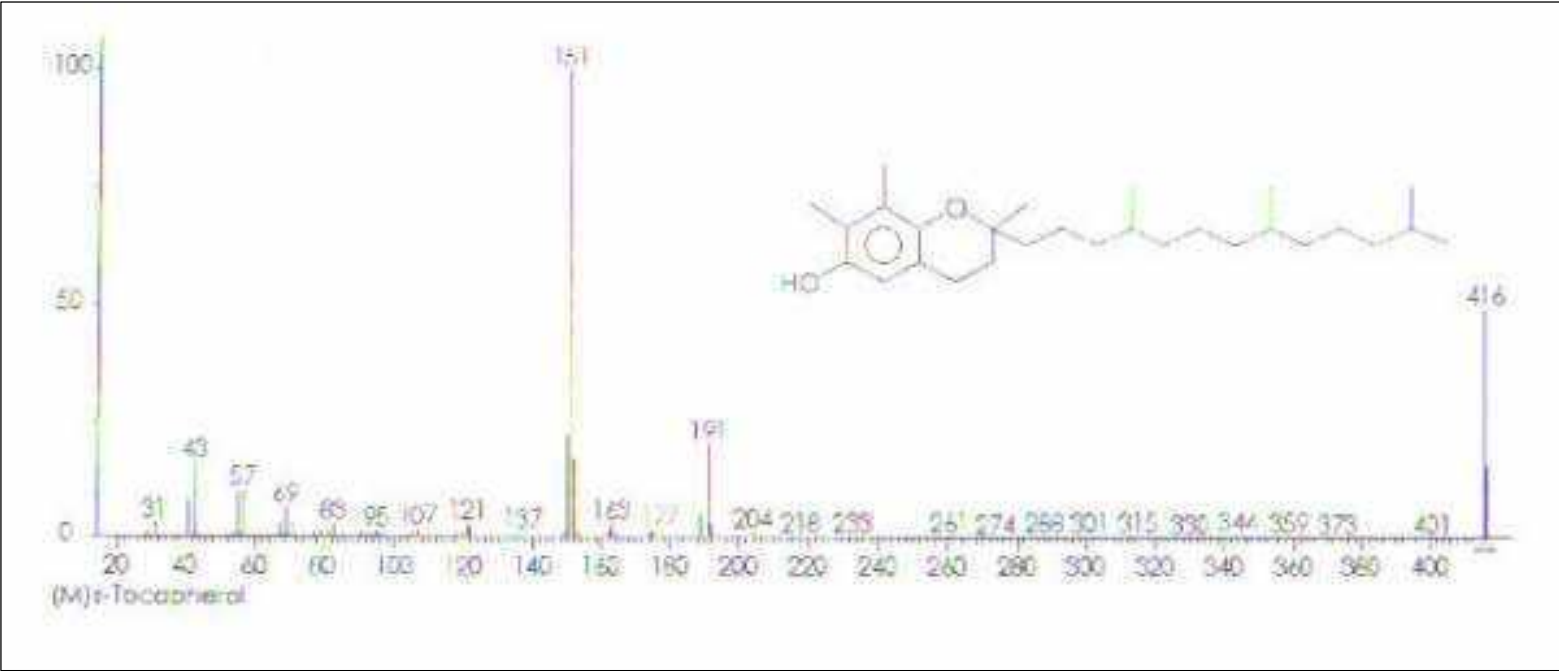
Escualeno



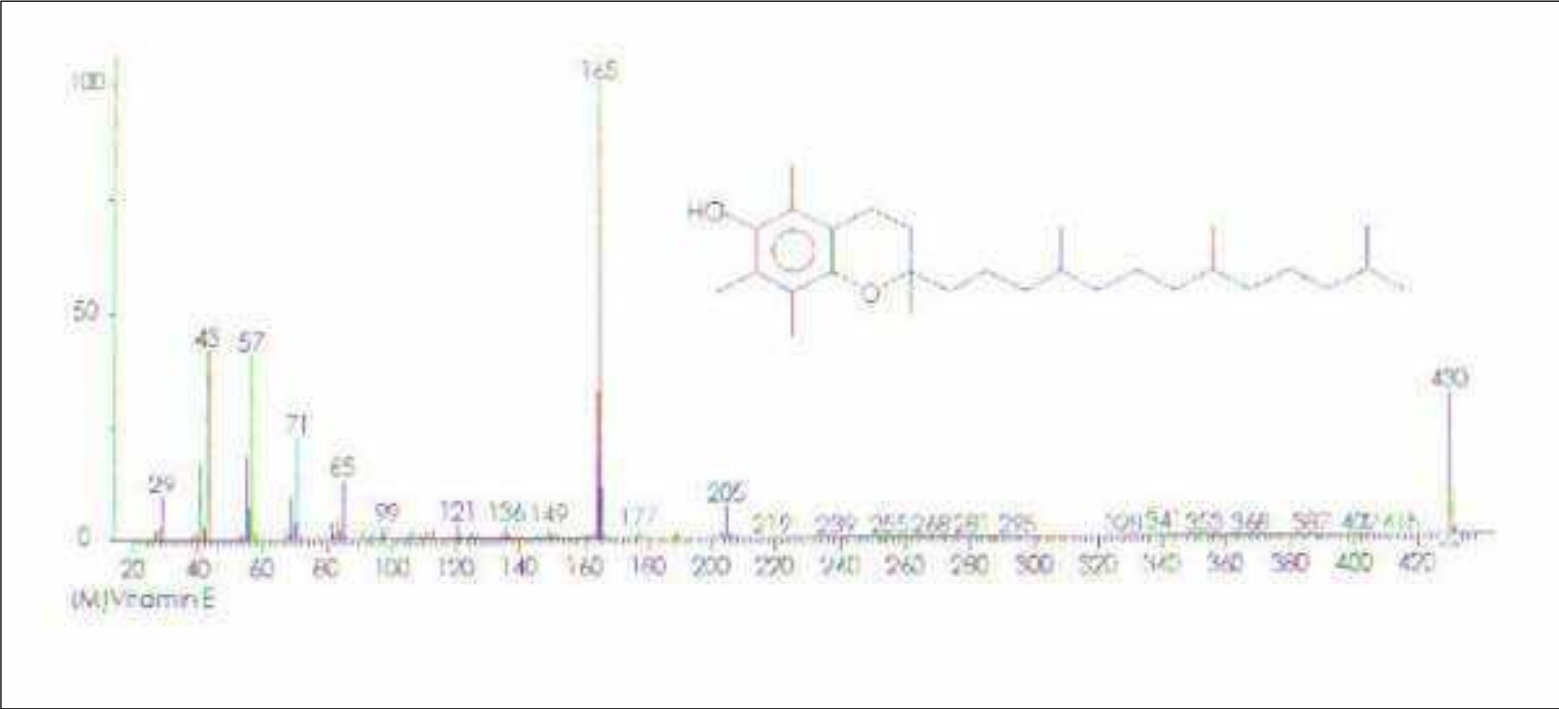
Benzopirano



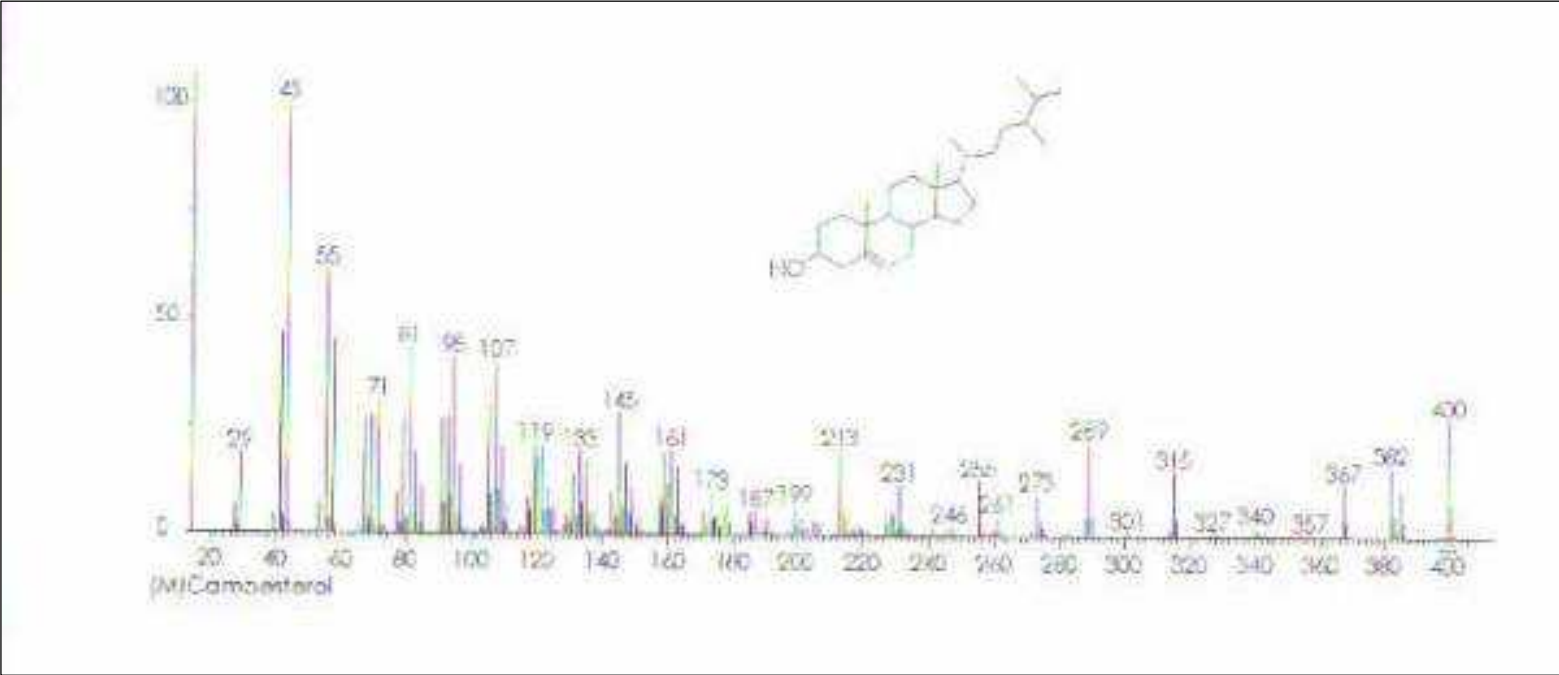
τ -Tocoferol



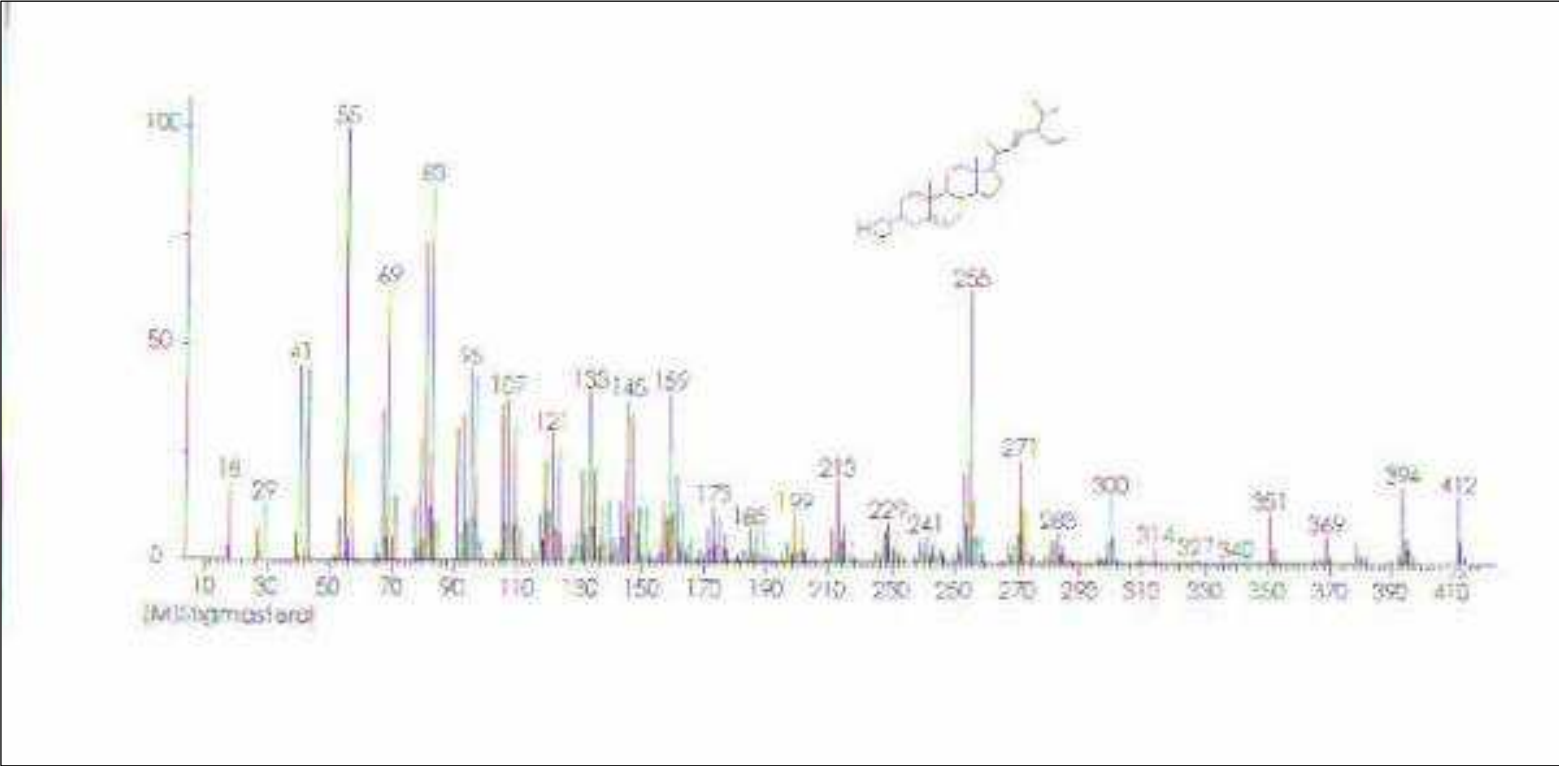
Vitamina E



Campesterol



Estigmasterol



β -Sitosterol

