



Fecha de presentación del Informe: Día Mes Año

Datos generales del Proyecto:

Código del proyecto: 1793			
Título del proyecto: Evaluación de los efectos antinociceptivos mediante modelos animales y ensayos electrofisiológicos de tres especies de plantas de uso tradicional en la localidad de Piangüita, Bahía de Buenaventura, Valle del Cauca, Colombia.			
Facultad o Instituto Académico: Facultad de Salud			
Departamento o Escuela: Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias Básicas			
Grupo (s) de investigación: Farmacología Univalle			
Investigadores ¹	Nombre	Tiempo asignado	Tiempo dedicado
Investigador Principal	Oscar Gutiérrez Montes	5hr/semana	5h/semana
Coinvestigadores	Silverio Garzón Gaviria	40h/semana	40h/semana
	Santiago Castaño	5h/semana	5h/semana
Otros participantes			

Resumen Ejecutivo:

En este trabajo de investigación se buscaba inicialmente evaluar el posible efecto antinociceptivo tres especies de plantas encontradas en la localidad de Piangüita; *Salvia aff. scutellarioides* (Lamiaceae), *Psychotria poeppigiana* (Rubiácea) y *Piper aff. Divaricatum* (Piperácea). Sin embargo, durante nuestras salida de campo, al realizar el estudio de estructura

¹ Todas las personas relacionadas en el informe y que participen en el proyecto deben haber suscrito el acta de propiedad intelectual de acuerdo con los formatos establecidos.

y composición vegetal en la localidad de Piangüita, no logramos encontrar las especies *Salvia aff. scutellarioides* y *Piper aff. Divaricatum*. Considerando que logramos encontrar la planta *Zanthoxylum rhoifolium* (rutáceae), esta última planta se incluyó en el presente estudio en remplazo de aquellas dos que no logramos encontrar.

Se recolectó el material botánico por triplicado para las dos especies incluidas en el presente estudio, para su identificación hasta especie en herbario CUVV de la Universidad del Valle y posteriormente se realizaron extracciones fitoquímicas conforme a lo reportado por la literatura. Para las extracciones fitoquímicas se emplearon varias técnicas como maceración, particionamiento y cromatografía de columna, de capa delgada, HPLC y GC-MASAS. Posteriormente, se realizaron los ensayos en biomodelos (ratas Wistar y ratones albinos Suizos) y por último se caracterizaron los efectos a nivel celular mediante ensayos en condiciones de cultivo primario, utilizando la técnica de patch-clamp.

El efecto antinociceptivo de *Psychotria poeppigiana* (Rubiácea) y *Zanthoxylum rhoifolium* (rutáceae) se evaluó con los extractos enteros de las dos especies de plantas mediante ensayos en un modelo murino *in-vivo*. Estos ensayos nos permitieron identificar y aislar las fracciones con mayor efecto antinociceptivo. En los ratas Wistar y ratones albinos Suizos *in-vivo* también se observaron efectos de algunas de fracciones de las plantas sobre la frecuencia cardiaca, la presión arterial, el sistema motor, así como a nivel del sistema nervioso central, empleando el equipo de tensión arterial no invasiva (IITC six channel NIBP), para la frecuencia cardiaca y la presión arterial, equipo rotarod para el sistema motor y test de Irwin para el sistema nervioso central.

Los extractos entero acuoso y metanólico de *Psychotria poeppigiana*, no mostraron diferencias significativas en los ensayos de analgesia en modelo murino, pero si se observaron cambios que conllevaron a pensar en posibles efectos a nivel de sistema nervioso central y del cardiovascular por lo que se evaluaron tres dosis diferentes (125, 250 y 500 mg/kg), lo cual no estaba contemplado en el proyecto inicial. Se concluyó que los extractos acuoso y metanólico

de *P. poeppigiana* no tienen efectos antinociceptivos pero si se evidenciaron efectos en el sistema nervioso autónomo y cardiovascular (hipotensor) en el modelo murino.

Los resultados antinociceptivos positivos confirmaron el uso popular de *Z. rhoifolium* como analgésico y mostraron además la alteración de la coordinación motora de los roedores. Lo anterior sugiere un posible efecto supresor a nivel de sistema nervioso central y periférico. Por los resultados obtenidos con la especie *Z. rhoifolium* se realizó el aislamiento e identificación de la presencia de familias de sanshool, el cuál ha sido reportado en para otras especies de *Zanthoxylum* en Asia y que ha sido señalado de tener un potente efecto antinociceptivo.

Se evaluó la modulación de corrientes iónicas de K^+ con 100 μM de hidroxí- α sanshool purificado en el presente estudio, en neuronas sensoriales de rata mediante la técnica de patch-clamp. Se encontró que el hidroxí- α sanshool no tiene actividad sobre canales K^+ rectificadores de entrada, ni sobre canales K^+ de la familia KCNK, que se expresan en las neuronas sensoriales de rata. Experimentos futuros se deben conducir para evaluar esta y otras fracciones de *Z. rhoifolium* en otros modelos celulares y preferiblemente en canales iónicos expresados en células inmortalizadas que crecen en condiciones de cultivo celular.

Palabras clave: Efecto antinociceptivo, Extractos fotoquímicos, Hemodinámica, Hipertensión, Medicina tradicional, Presión arterial no invasiva, Sistema nervioso autónomo, Test de Irwin.

Abstract

In this work, we initially sought to test the possible antinociceptive effect of three plant species found in the town of Piangüita; *Salvia aff. scutellarioides* (Lamiaceae), *Psychotria poeppigiana* (Rubiaceae) and *Piper aff. Divaricatum* (Piperaceae). However, during our field work, when studying the structure and plant composition in the town of Piangüita, we could not find the species *Salvia aff. scutellarioides* and *Piper aff. Divaricatum*. Considering that we were able to find the plant *Zanthoxylum rhoifolium* (rutáceae), this last plant was included in the present study in replacement of those two that we were not able to find.

The botanical material was collected in triplicate for the two species included in the present study we identify them up to species in the CUVV herbarium of the Universidad del Valle. Later phytochemical extractions were carried out according to what has been reported in the literature. For the phytochemical extractions several techniques were used such as maceration, partitioning and column, thin layer, and HPLC chromatography, and GC-MASS. Subsequently, the assays were performed on biomodels (Wistar rats and Swiss albino mice) and finally the effects were characterized at the cellular level by assays in primary cell culture conditions, using the patch-clamp technique.

The antinociceptive effect of *Psychotria poeppigiana* (Rubiaceae) and *Zanthoxylum rhoifolium* (rutáceae) was evaluated with the whole extracts of the two plants by assays with an *in-vivo* murine model. These trials allowed us to identify and isolate the fractions with the greatest antinociceptive effect. In Wistar rats and Swiss albino mice *in-vivo* effects of some plant fractions were also observed on heart rate, blood pressure, motor system, as well as at the level of the central nervous system, using the non-invasive blood pressure equipment (IITC six channel NIBP), for heart rate and blood pressure, rotarod equipment for the motor system and the Irwin test for the central nervous system evaluation.

The whole aqueous and methanolic extracts of *Psychotria poeppigiana* did not show significant effects in analgesia trials with murine models, but we observed changes that led to think about possible effects at the level of the central nervous system and the cardiovascular system. Three different doses were evaluated (125, 250 and 500 mg/Kg). It was concluded that the aqueous and methanolic extracts of *P. poeppigiana* do not have antinociceptive effects but it could have autonomic and cardiovascular (hypotensive) effects in the murine model.

The positive antinociceptive effects confirmed the popular use of *Z. rhoifolium* as an analgesic. It also showed alteration of the motor coordination of the rodents. The above suggests a possible suppressive effect at the level of the central and peripheral nervous system. The results obtained with *Z. rhoifolium* were used to isolate and identify the presence of sanshool families, which has been reported for other *Zanthoxylum* species in Asia and which has been reported to have a potent antinociceptive effect.

The modulation of K⁺ ionic currents in rat sensory neurons was assessed with 100 μM of the hydroxy-alpha sanshool purified in the present study by using the patch-clamp technique. It was found that hydroxy-alpha sanshool has no activity on K + channels of the KCNK family, which are expressed in rat sensory neurons. Future experiments should be conducted to evaluate this and other fractions of *Z. rhoifolium* in other cellular models and preferably in ion channels expressed in immortalized cells growing in cell culture conditions.

Key words: Antinociceptive effect, Autonomic nervous system, Hemodynamic, Hypertension, Irwin test, Noninvasive blood pressure, Phytochemistry extract, Traditional medicine.

1. Productos:

Tabla No. 1. **Cantidad y tipo de productos pactados en el *Acta de Trabajo y Compromiso* y productos finalmente presentados**

TIPO DE PRODUCTOS	No. de PRODUCTOS PACTADOS	No. de PRODUCTOS PRESENTADOS
Productos de nuevos conocimientos		
Artículo completo publicado en revistas A1 o A2	1	0
Artículo completo publicados en revistas B		
Artículo completo publicados en revistas C		
Libros de autor que publiquen resultados de investigación		
Capítulos en libros que publiquen resultados de investigación		
Productos o procesos tecnológicos patentados o registrados		

TIPO DE PRODUCTOS	No. de PRODUCTOS PACTADOS		No. de PRODUCTOS PRESENTADOS	
☐ Prototipos y patentes				
☐ Software				
Productos o procesos tecnológicos usualmente no patentables o protegidos por secreto industrial				
Normas basadas en resultados de investigación				
Formación de recursos humanos	No. de estudiantes vinculados	No. de tesis	No. De estudiantes Vinculados	No. De tesis
Estudiantes de pregrado	2	2	3	3
Semillero de Investigación				
Estudiantes de maestría				
Estudiantes de doctorado	1	1	1	1
Productos de divulgación				
Ponencias presentadas en eventos (congresos, seminarios, coloquios, foros)	No. de ponencias nacionales	No. de ponencias internacionales	No. de ponencias nacionales	No. de ponencias internacionales
	2	2	0	0
Propuesta de investigación				

TIPO DE PRODUCTOS	No. de PRODUCTOS PACTADOS	No. de PRODUCTOS PRESENTADOS	
Propuestas presentadas en convocatorias externas para búsqueda de financiación.	1	1	1

2. Impactos actual o potencial:

El presente proyecto contribuirá positivamente con el ecosistema de la localidad, pues mediante esta propuesta se reconocerá los usos de plantas de la región y su apropiación como recurso ecosistémico. Por otro lado mediante una evaluación ecológica rápida al momento de la colecta, se podrá determinar el grado de cambio en la cobertura vegetal en la época de iniciado este proyecto con el inventario florístico llevado a cabo por Vásquez y colaboradores en el 2006. La confirmación farmacológica del uso tradicional de estas especies deberá conllevar a futuros estudios bioprospectivos que contribuyan con la conservación de estas especies en sus ecosistemas y el uso racional de las mismas. La valoración del conocimiento tradicional y su fortalecimiento evita la pérdida de estos saberes y de paso es uno de los aspectos que permitirá la continuidad del saber tradicional por parte de la comunidad. Lo anterior puede llevar a que las comunidades locales revaloricen sus áreas de bosque.

El desarrollo de este proyecto permite mantener la continuidad de la investigación en productos naturales, del grupo de Farmacología de la Universidad del Valle y permitió financiar dos tesis de pregrado de biología de la Universidad del Valle. Cofinanciar una tesis de pregrado de biología de la Pontificia Universidad Javeriana Cali y parte de los objetivos de una tesis doctoral. Los resultados se socializaron con las comunidades locales en forma de talleres. La divulgación de sus resultados se realizará mediante dos artículos originales de investigación sometidos a revistas internacionales Q2 y se presentarán ponencias en Seminarios y Congresos de carácter nacional y al menos uno de carácter internacional, de igual manera se divulgarán los resultados en al menos un evento institucional y así contribuir de paso en el conocimiento de esta zona del pacífico vallecaucano.



VICERRECTORIA DE INVESTIGACIONES
División de Proyectos

**FORMATO PARA LA ELABORACIÓN
DE INFORMES FINALES -
PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN**

La presente versión del informe contiene las observaciones de los evaluadores:

Firma del investigador principal

VoBo. Vicedecano de Investigaciones

Por favor presente su informe impreso y en formato digital en hoja tamaño carta, letra arial 11, con espacios de 1 1/2