

ACTIVIDAD ANALGESICA Y ANTIHISTAMINICA DE *Uncaria tomentosa* (Willd) D.C. "UÑA DE GATO"

Silvia Klinar B., Artemio Chang C. (Instituto de Productos Naturales IPRONA. Ica - PERU)
Antonio Lapa, Artur Da Silva, Salete De Abreu y Sonia Mesía (Escola Paulista de Medicina. U. F. de Sao Paulo - BRASIL)

ABSTRACT.- Se ha probado el efecto analgésico periférico de un extracto hidroalcohólico de corteza de *Uncaria tomentosa* (Willd) D. C. "uña de gato", mediante el ensayo de contorsiones abdominales en ratones inducidas por ácido acético. El ensayo de formalina no dió resultados positivos en el test t-student. A una concentración de 100 mg/kg, el extracto reduce el edema de pata inducido por dextrano en 34% en los primeros 30 min., frente a la difenhidramina que disminuye el edema en 63.5%; lo que indica una probable acción antihistamínica. Con las dosis ensayadas, no se observó resultados significativos en las pruebas de actividad antiinflamatoria: edema de pata inducido por carragenina, edema de oreja inducido por aceite de croton, granuloma inducido por aceite de croton en bolsa de aire subcutánea, y peritonitis en ratones inducido por carragenina

La *Uncaria tomentosa* (Willd) DC (RUBIACEAE), conocida comunmente como "uña de gato"; es una liana de unos 20 m de altura que crece en bosques altos con abundante luz solar, a 500-600 msnm. Presenta frutos pubescentes de color pardo y sus hojas primarias son color pardo rojizo. La *U. tomentosa* también llamada "garabato amarillo" se utiliza en la medicina tradicional peruana en el tratamiento de artritis, reumatismo, gastritis, cáncer y como antiinflamatorio **(1, 2, 3)**.

De su composición química, Wagner y col. **(4)** reportan 6 alcaloides tipo oxindólicos pentacíclicos: pteropodina, isopteropodina, mitrafilina, isomitrafilina, rinchofilina e isorinchofilina. Aquino y col. **(5, 6, 7)** reportan 7 glicósidos del ácido quinóvico con diferentes patrones de glicosidación; 4 triterpenos polihidroxiados: 3 con grupo ácido y 1 como éster metílico; ácido oleanólico y ácido ursólico y el alcaloide 5-carboxiestrictosidina.

Los ensayos farmacológicos han demostrado que los alcaloides producen un considerable aumento de la fagocitosis **(4)**, que los extractos polares de la corteza presentan actividad citostática, anticonceptiva y antiinflamatoria **(8)**. Investigaciones con glicósidos del ácido quinóvico 7 frente a probable actividad antiviral contra dos virus RNA (vesicular stomatitis virus VSV y rinovirus tipo 1B, HRB 1B) dieron como resultado un efecto inhibitorio contra la infección de VSV pero en concentraciones altas en relación a la dosis tóxica; en cambio resultó inactivo contra la infección rinovirus tipo 1B. Ensayos en la fracción esteroideal **(9)** determinaron presencia de B-sitosterol, estigmaterol y camfesterol; posteriormente se sometió la fracción a ensayos farmacológicos preliminares encontrándose una moderada actividad antiinflamatoria atribuida por los autores a la gran cantidad de B-sitosterol presente (60 %)

EXPERIMENTAL

El material vegetal empleado, corteza de *Uncaria tomentosa* (Willd) DC, fue identificado en la Facultad de Ciencias de la UNICA. Una muestra se encuentra almacenada en el herbario de dicha Facultad. Se preparó un extracto hidroalcohólico (1:1) por reflujo a partir de la corteza pulverizada (1 kg) obteniéndose 6.4 g. de extracto seco. La preparación e identificación del material se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la U.N. San Luis Gonzaga de Ica **(10)**. Los animales utilizados en las diferentes pruebas farmacológicas fueron: Ratones Swiss, albinos, adultos, de ambos sexos, con peso de 20-35 g. Ratas Wistar, albinas, hembras, adultas con peso de 180-250 g. Los animales fueron mantenidos en el Bioterio del Departamento de Farmacología de la Escuela Paulista de Medicina, en condiciones controladas de temperatura e iluminación con libre acceso a agua y ración; permaneciendo en ayunas antes de la administración de las drogas.

Contorsiones abdominales en ratones inducidas por ácido acético.- Para este test fue empleada la metodología descrita por Koster y col. **(11)**. Grupos experimentales de 7 ratones fueron tratados con el vehículo o con extracto de *Uncaria tomentosa* (3, 10, 30, 100 y 300 mg/kg v. o.). Después de 1 hora, todos los animales fueron inyectados con ácido acético 1,2% en salina (0,1 ml/10 g, i.p.). Las contorsiones del abdomen seguidas de torsiones del tronco y extensión de los miembros posteriores (Vacher y col. **12**) producidas por el ácido acético fueron contadas durante 20 minutos. Los resultados se expresan como la media del número de contorsiones abdominales acumuladas durante los 20 minutos.

Test de formalina (13, 14).- Para este test se utilizaron grupos experimentales de 10 ratones tratados con vehículo o con extracto de *Uncaria tomentosa* (100 mg/kg v.o.). Después de 1 hora, todos los animales fueron inyectados en la región subplantar con solución de formalina 3% en PBS glicosado (50 l, independiente del peso). Se cronometra el tiempo, en segundos, que el ratón pasa lamiendo o mordiendo la pata. La primera fase empieza inmediatamente después de la inyección de formalina y dura hasta 5 minutos. La segunda fase empieza a los 15 minutos después de la inyección de formalina y dura aprox. 15 minutos. Los resultados se expresan como las medias de los tiempos en las 2 diferentes fases.

Edema de pata inducido por dextrano (15).- Se emplearon cinco ratas por grupo experimental. Después de 1 hora de los tratamientos, con vehículo o con EHA de *Uncaria tomentosa* (100 mg/kg) por vía oral (v.o.); las patas traseras fueron inyectadas en la región subplantar con 0,1 ml de dextrano (1%) o con igual volumen de salina en la pata contralateral. Un grupo tratado con difenidramina (60 mg/kg v.o.) fue utilizado como control positivo. Los volúmenes de las patas fueron medidos en los tiempos cero, 30, 60 y 120 minutos después de la inyección del agente flogístico.

La actividad antiinflamatoria se estudió mediante los siguientes ensayos:

Edema de pata inducido por carragenina (16).- Para este ensayo fueron utilizadas cinco ratas por grupo

experimental. Los animales fueron administrados por vía oral (v.o.) con vehículo, con el extracto hidroalcohólico de *U. tomentosa* (30, 100 y 300 mg/kg) o con Indometacina (10 mg/kg) utilizada como control positivo.

Edema de oreja de ratón inducido por aplicación tópica de aceite de croton (17).- Para este test fueron utilizados 8 ratones por grupo experimental.

Granuloma inducido por aceite de croton en bolsa de aire subcutánea de ratas (17, 18) .- Se utilizaron 3 grupos de 6 ratas en ayuno, de peso entre 150 y 250 g. Los animales fueron tratados por vía oral durante 8 días consecutivos con el vehículo; con EHA de *Uncaria tomentosa* (100 mg/kg/día) o con Indometacina (1,5 mg/kg /día) control positivo del test. La inflamación crónica fue inducida por la inyección de 0,5 ml de óleo de croton (2% v/v) en aceite de maíz.

Peritonitis en ratones inducido por Carragenina (19).- Para este ensayo fueron utilizados 10 ratones por grupo experimental. Los animales fueron tratados por vía oral con vehículo o con EHA de *Uncaria tomentosa* (300 mg/kg). Después de 60 minutos del tratamiento; la inflamación fue inducida por la inyección intra peritoneal de 0,25 ml de carragenina (1% en salina).

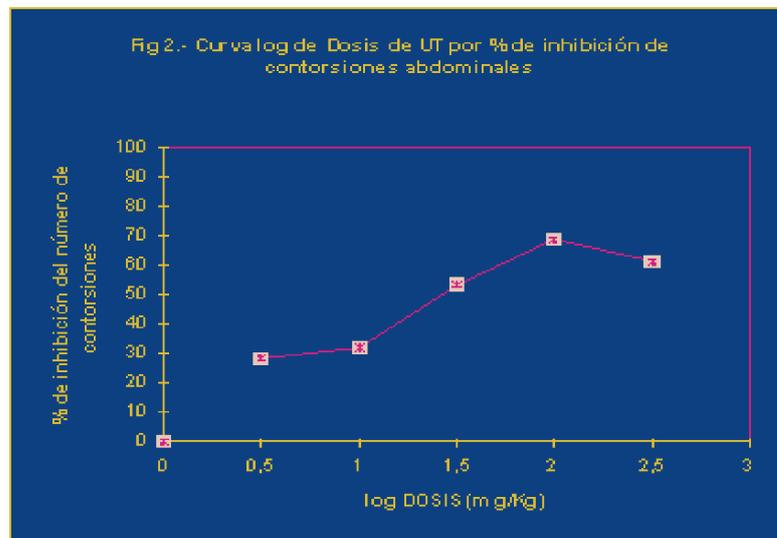
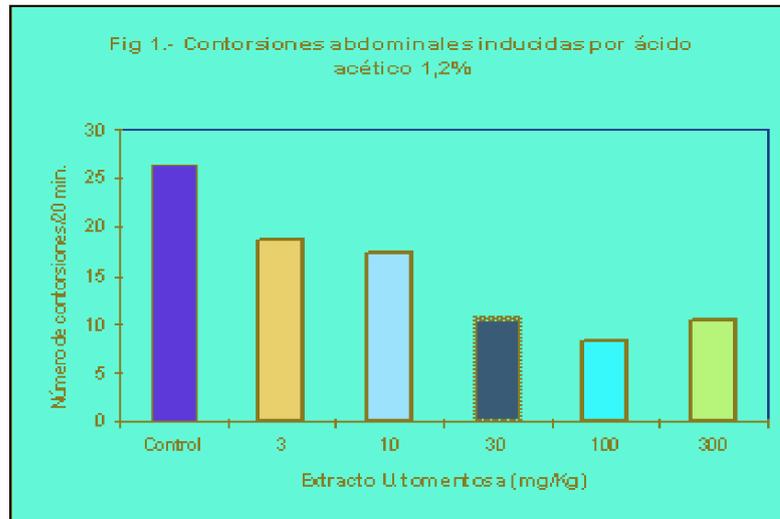
Los resultados se expresan como las medias error padrón de la media. Las diferencias estadísticas entre los grupos experimentales y controles se determinan por el test t-student, considerándose como significativos valores de $p < 0,05$

RESULTADOS

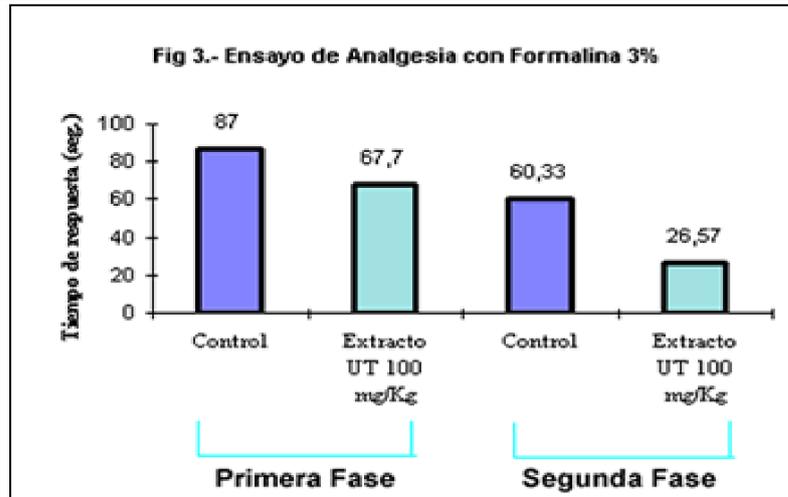
La actividad analgésica se probó mediante los ensayos de contorsiones abdominales provocadas por ácido acético (1,2%, 0,1 ml /10g, i..p) y el test de formalina (3%).

En el primer ensayo el grupo de animales control presenta 26,38 \pm 1,5 contorsiones/20 min. después de la inyección de ácido acético. En los animales tratados con extracto de *U. tomentosa* a las concentraciones de 3, 10, 30 , 100 y 300 mg/kg, el número de contorsiones abdominales disminuyó en 29,2%, 31,8%, 52,24%, 68,42% y 60,5% respectivamente.

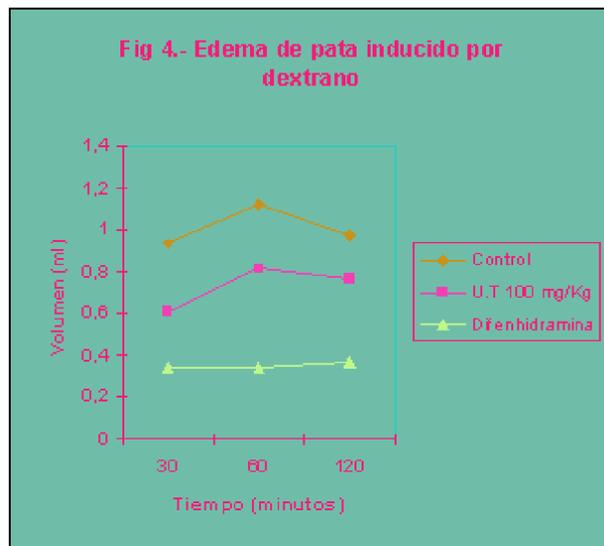
Las concentraciones de 100 y 300 mg/kg no fueron estadísticamente diferentes entre si ($p > 0,05$). Fig. 1 y 2



En el ensayo de formalina, por el test t-student, los resultados no presentan mayor diferencia entre el grupo control y el grupo tratado con extracto de U. tomentosa (100 mg/Kg). En la primera fase el grupo control presenta 87,0 10,16 y el grupo tratado con extracto 67,7 7,10 ; en la segunda fase 60,33 15,56 y 26,57 9,88 respectivamente. Fig 3



Se realizó el ensayo del edema en pata de ratas inducido por dextrano, que produce una reacción edematogénica de latencia pequeña, pero de gran intensidad. En el grupo control, el edema en las patas inyectadas con dextrano, en relación con las no inyectadas, fue de 1,27 0,0796 ml después de 1 hora. A una concentración de 100 mg/Kg v.o., el extracto de U. tomentosa reduce el edema en 34% en relación al grupo control a los 30 min. La difenhidramina (60 mg/Kg v.o.) reduce en 63,5%. Fig 4



INTERPRETACION DE RESULTADOS

En el ensayo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético (1,2%, inyección i.p. 0,1ml/10g) , los resultados en las concentraciones de 3 y 10 mg/kg son significativos en el test t-student presentando una actividad de 29,2% y 31,8% respectivamente. En las concentraciones de 30, 100 y 300 mg/kg los resultados fueron altamente significativos teniendo una actividad de 52,24%, 68,42% y 60,5% respectivamente. La diferencia entre los resultados de las concentraciones de 100 y 300 mg/kg no tiene valor significativo , lo que indica que la dosis de 100 mg/kg ya es la dosis máxima. Estos resultados indican actividad analgésica.

El test de formalina no dió resultados significativos en el test t-student

En los ensayos de edema de pata inducido por dextrano, potente agente liberador de histamina y serotonina de los mastocitos de ratas, el extracto de *U. tomentosa* (100 mg/kg) disminuyó el edema en los primeros 30 min. en un 34% frente a la acción del antihistamínico difenhidramina que en el mismo tiempo disminuyó el edema en 63,5%. Los resultados indican una probable acción antihistamínica, para definir si el extracto de *U. tomentosa* actúa en la liberación de histamina o en la inhibición de la activación de sus receptores específicos se debe testar edema de pata inducido por histamina.

Los estudios de la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico se iniciaron con modelos de inflamación aguda; así los inducidos por carragenina: exudación de líquidos plasmáticos (edema) y la migración leucocitaria predominante de neutrófilos hacia un lugar inflamado.

Además de los ensayos descritos, se realizó:

Edema de pata inducido por carragenina, después del tratamiento crónico (5 días) a la concentración del extracto de 0,40mg/ kg y en concentración 50 veces mayor. Los resultados no dieron valor significativo en el test t-student cuando se comparó con el grupo control. Se testó en modelo de Reversión de edema inducido por carragenina después de 4horas y después de 24 horas; en este último tiempo había revertido completamente, por lo que se sugiere repetir el ensayo pero en períodos más cortos.

La actividad antiinflamatoria también fue ensayada en edema de oreja inducido por aceite de croton, agente flogístico altamente irritante, que dependiendo de la dosis puede producir una reacción inflamatoria débil. Este modelo de inflamación es utilizado para demostrar la acción tópica de drogas antiinflamatorias.

Los resultados en todos los ensayos de actividad antiinflamatoria no fueron significativos en el test t-student, por lo que se sugiere repetir los ensayos con dosis mayores de extracto.

REFERENCIAS

- 1.- **Chang A.** (1995) *Uncaria tomentosa* (Willd) DC RUBIACEAE . Uña de gato. Instituto de Productos Naturales .IPRONA. ICA-PERU.
- 2.- **S. Klinar B., P.Castillo, A. Chang, G. Schmeda, S. Reyes, C. Theodoluz, I. Razmilic** (1995) Biological activity of medicinal plants of Ica (Perú). *Fitoterapia* Vol. LXVI. Nº 4: 341-345
- 3.- **Lock de Ugaz, O.** (1994) Revisión del género *Uncaria*. *Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*. Las uña de gato". *Boletín Sociedad Química del Perú*.
- 4.- **Wagner H., Kreutzkamp B., Jurcic K.** (1985) Die alkaloid von *Uncaria tomentosa* und ihre phagozytose-stegernde wirkung . *Planta Médica* 51: 419-422.
- 5.- **Aquino R., De Feo V., De Simone F., Pizza C. and Cirino G.** (1991) Plant metabolites. New compounds and antiinflammatory activity of *Uncaria tomentosa*. *Journal of Natural Products*. Vol 54 N 2: 453-459.
- 6.- **Aquino R., De Simone F., Vincieri F., Pizza C.** (1990). New polyhydroxylated triterpenes from *Uncaria tomentosa*. *Journal of Natural Products*. vol 53 N 3: 559-564.
- 7.- **Aquino R., De Simone, Pizza C, Conti C., Stein M.** (1989) Plant metabolites. Structure and in vitro antiviral activity of quinovic acid glycosides from *Uncaria tomentosa* and *Guertarda Platypoda*. *Journal of Natural Products* 52: 679-685.
- 8.- **Keplinger et al** (1989).
- 9.- **Senatore A., Cataldo A., Iacarino FF., Elberti MG.** (1989). Ricerchi fitochimiche e biologiche sull *Uncaria tomentosa*". *Boll. Soc. It. Biol. Spec.* LXV 575-580.
- 10.- **IPRONA. Informe Anál. Lab.** (1994). Ica - Perú.
- 11.- **Koster R., Anderson M., De Beer E.J.** (1959). Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.* 18: 412
- 12.- **Vacher P.J., Duchene-Marullaz P.J., Barbot P.** (1964). A propos de quelques produits usuels-comparaison de deux methods etudes analgésiques . *Med. Exp.* 11: 51-58.
- 13.- **Seyle H.** (1953). Use of "granuloma pouch"technic in the study of antiphlogistic corticoids. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 82: 328-333.
- 14.- **Steinar Hunskaar and Kjell Hole** (1987) The formalin test in mice: dissociation between inflamatory and non inflamatory pain. *Pain* 30: 103-114. Elsevier.
- 15.- **Parrat, J.R. and West G.B.** (1958). Inhibition by various substances of edema formation in the hind-paw of the rat induced by 5-hydroxytryptamine, histamine, dextran, egg white and compound 48/80. *Br. J. Pharmacol.* 13: 65-70.
- 16.- **Winter C.A., Risley E.A., Nuss G.W.** (1962). Carrageenan induced oedema in hind paw of de rats as an assay for antiinflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 111: 544-547.
- 17.-. **Tubaro A., Dri P., Melato M., Mulas G., Bianchi P., Del Negro P. and Della Loggia R.** (1986) In the croton oil test the effects of non steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) are dependent on the dose of the irritant. *Agents and Actions*. Vol. 19: 5-6.
- 18.- **Sedgwick A.D., Sin Y.N., Edwards J.C.W., Willoughy DA.** (1983). Increased inflamatory reactivity in newly formed lining tissue. *J. Path.* 141: 483-495.
- 19.- **Ferrándiz M.L. and Alcaraz M.J.** (1991). Antiinflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. *Agents and Actions*. Vol 32: 3-4.