



UNIVERSIDAD DE CHILE

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas

Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica

Laboratorio de Productos Naturales

**ESTUDIO QUÍMICO Y FARMACOLÓGICO DE DISTINTOS GENOTIPOS DE
Ugni molinae TURCZ. (MURTILLA), MYRTACEAE.**

**INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA DE ASPECTOS BIOÉTICOS EN LA
EXPERIMENTACIÓN CON MODELOS ANIMALES**

PROFESOR PATROCINANTE

DRA. CARLA DELPORTE V.

Depto. de Química Farmacológica y
Toxicológica

DIRECTORES DE MEMORIA

DRA. XIMENA SILVA A.

Unidad de Pruebas Biológicas
Instituto de Salud Pública

DRA. LORENA GARCÍA N.

Departamento de Bioquímica y
Biología molecular

Memoria para optar al título de Químico Farmacéutico

DANIELA PAZ JARA MORENO

SANTIAGO, CHILE

2012

Circulación restringida 2012 - 2014

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
INDICE DE FIGURAS.....	III
INDICE DE TABLAS.....	IV
INDICE DE ANEXOS.....	V
ABREVIATURAS.....	VII
RESUMEN.....	IX
SUMMARY.....	X
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Sapogeninas triterpénicas pentacíclicas.....	2
1.2. Antecedentes de la especie <i>Ugni molinae</i> , Turcz.....	3
1.3. Estudios químico-farmacológicos anteriores de <i>U. molinae</i>	4
1.4. Otros estudios.....	7
II. HIPÓTESIS.....	8
III. OBJETIVOS.....	9
1. OBJETIVOS GENERALES.....	9
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	9
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
1. Reactivos y materiales.....	10
2. Material vegetal.....	10
3. ESTUDIOS QUÍMICOS.....	12
3.1. Determinación de ácido asiático en extractos de distintos genotipos de murtila..	12
3.1.1. Preparación de muestras a analizar.....	12
3.1.2. Análisis cuantitativo de ácido asiático mediante CLAE/DAD.....	12
3.1.3. Preparación curva de calibración para ácido asiático.....	13
3.1.4. Análisis estadístico.....	13
3.2. Aislamiento de ácido madecásico desde el EET de hojas de <i>U. molinae</i>	13
4. ESTUDIOS FARMACOLÓGICOS.....	15
4.1. Evaluación <i>in vivo</i> de la actividad antiinflamatoria tópica del ácido madecásico... 15	
4.1.1. Condiciones de experimentación.....	15

4.1.2. Determinación de la actividad antiinflamatoria tópica.....	15
4.1.3. Análisis estadístico	16
4.2. Evaluación de la capacidad antioxidante de EET de las hojas de genotipos de murtilla.....	16
4.2.1. Construcción de la curva de calibración.....	16
4.2.2. Ensayo FRAP con los EET obtenidos desde las hojas de los distintos genotipos de murtilla.....	16
4.2.3. Análisis estadístico	17
V. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	18
1. ESTUDIOS QUÍMICOS.....	18
1.1. Determinación de ácido asiático en los EAE de los distintos genotipos de murtilla	18
1.2. Aislamiento de ácido madecásico desde EET de hojas de <i>U. molinae</i>	21
2. ESTUDIOS FARMACOLÓGICOS	23
2.1. Evaluación <i>in vivo</i> de la actividad antiinflamatoria tópica del ácido madecásico	23
2.2. Evaluación de capacidad antioxidante de los EET de hojas de los distintos genotipos de murtilla.....	24
VI. INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA	
ASPECTOS BIOÉTICOS DEL TRABAJO EXPERIMENTAL EN MODELOS ANIMALES	29
1. Introducción	29
2. El concepto de bienestar animal	31
3. Aspectos relacionados con la experimentación y el bienestar animal	33
4. Otros aspectos importantes en la bioética de la experimentación animal.....	41
VII. CONCLUSIONES.....	43
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
ANEXOS.....	49

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Flores, frutos y hojas de <i>Ugni molinae</i>	3
Figura 2. Estructuras de los triterpenoides ácidos 2 α -hidroxilados de <i>U. molinae</i>	5
Figura 3. Curva de calibración de ácido asiático	18
Figura 4. Gráfico comparativo del contenido de ácido asiático por genotipo de murtila	19
Figura 5. Estructura ácido madecásico	22
Figura 6. Curva de calibración Fe ⁺²	24
Figura 7. Gráfico comparativo capacidad antioxidante según FRAP para los EET de cada genotipo de murtila (4, 30 y 60 minutos).....	25
Figura 8. Estructura básica de un flavonol	28

INDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Origen de genotipos de <i>Ugni molinae</i> , cultivados en INIA-Carahue.....	11
Tabla 2. Condiciones para cuantificación de ácido asiático en CLAE/DAD.....	12
Tabla 3. Condiciones cromatográficas para fraccionamiento de EET de hojas de murtila.....	13
Tabla 4. Condiciones cromatografía en capa fina (Wagner y Bladt, 1996).....	14
Tabla 5. Condiciones cromatográficas columna SEPHADEX LH-20.....	14
Tabla 6. Condiciones en placa cromatográfica preparativa.....	14
Tabla 7. Resumen cuantificación ácido asiático por genotipo de <i>Ugni molinae</i>	19
Tabla 8. Resumen fracciones obtenidas en columna fase normal (sílica gel 60)	21
Tabla 9. Actividad antiinflamatoria tópica de ácido madecásico frente a TPA.....	23
Tabla 10. Resultados del ensayo FRAP y contenido de fenoles de los EET de los genotipos de murtila.....	26

INDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Estructuras de los núcleos básicos de las sapogeninas triterpénicas pentacíclicas.....	49
Anexo 2. Estructura cromatografía en columna fase normal (CCFN).....	49
Anexo 3. Estructura columna SEPHADEX LH-20	49
Anexo 4. Esquema CCF resumen de fracciones obtenidas en CCFN.....	50
Anexo 5. Esquema CCF de muestras A ₁ y A ₂ obtenidas en placa preparativa	50
Anexo 6. Fotografía cromatofolio resumen de fracciones obtenidas por CCFN.....	51
Anexo 7. Tabla parámetros usados para valorar severidad de un procedimiento experimental.....	51
Anexo 8. Resultados del ensayo FRAP de los EET de los distintos genotipos de murtila.....	52
Anexo 9. Cromatogramas y espectros UV EAE E-Cau (pesada 1).....	53
Anexo 10. Cromatogramas y espectros UV EAE E-Cau (pesada 2).....	54
Anexo 11. Cromatogramas y espectros UV EAE E-Cau (pesada 3).....	55
Anexo 12. Cromatogramas y espectros UV EAE E-Chi (pesada 1).....	56
Anexo 13. Cromatogramas y espectros UV EAE E-Chi (pesada 2).....	57
Anexo 14. Cromatogramas y espectros UV EAE E-Chi (pesada 3).....	58
Anexo 15. Cromatogramas y espectros UV EAE E-1 (pesada 1).....	59
Anexo 16. Cromatogramas y espectros UV EAE E-1 (pesada 2).....	60
Anexo 17. Cromatogramas y espectros UV EAE E-1 (pesada 3).....	61
Anexo 18. Cromatogramas y espectros UV EAE E-2 (pesada 1).....	62
Anexo 19. Cromatogramas y espectros UV EAE E-2 (pesada 2).....	63
Anexo 20. Cromatogramas y espectros UV EAE E-2 (pesada 3).....	64
Anexo 21. Cromatogramas y espectros UV EAE E-3 (pesada 1).....	65
Anexo 22. Cromatogramas y espectros UV EAE E-3 (pesada 2).....	66
Anexo 23. Cromatogramas y espectros UV EAE E-3 (pesada 3).....	67
Anexo 24. Cromatogramas y espectros UV EAE E-4 (pesada 1).....	68
Anexo 25. Cromatogramas y espectros UV EAE E-4 (pesada 2).....	69

Anexo 26. Cromatogramas y espectros UV EAE E-4 (pesada 3)	70
Anexo 27. Cromatogramas y espectros UV EAE E-5 (pesada 1)	71
Anexo 28. Cromatogramas y espectros UV EAE E-5 (pesada 2)	72
Anexo 29. Cromatogramas y espectros UV EAE E-5 (pesada 3)	73