

“Química Médica”

ARTÍCULOS ORIGINALES EN QUÍMICA MEDICINAL

- **SYNTHESIS, BINDING MODE PREDICTION, BIOLOGICAL EVALUATION AND SAR ANALYSIS OF BENZOIMIDAZOLE-BASED MODULATORS OF THE ENDOCANNABINOID SYSTEM.**
Carlos David Pessoa-Mahana.
- **ALKALOID DISCOVERY AS NATURAL ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORS, FROM NATURE TO MOLECULAR DOCKING.**
Felipe Moraga *et al.*
- **A SYNTHETIC APPROACH TOWARDS NOVEL SERIES OF 3-(3-(1-PIPERAZINYL)PROPYL-1H-INDOLE DERIVATIVES AS MONOAMINERGIC MULTI-TARGET AGENTS. DOCKING STUDIES AND PHARMACOLOGICAL EVALUATION AT SERT, D2, AND MAO-A RECEPTORS.**
Hernán Pessoa-Mahana.
- **RATIONAL DESIGN, SYNTHESIS, BIOLOGICAL EVALUATION AND QUANTITATIVE STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS OF NOVEL β 3-AR LIGANDS.**
Jaime Mella-Raipan.
- **CYCLOALKYLTHIOPHENYLISOPROPYLAMINE DERIVATIVES ARE BETTER MONOAMINE OXIDASE INHIBITORS THAN THEIR OPEN CHAIN ANALOGUES.**
Marcelo Vilches-Herrera *et al.*

SUPLEMENTO XXXVIII CONGRESO ANUAL DE LA SOCIEDAD DE FARMACOLOGÍA DE CHILE

- CONFERENCIAS
- SIMPOSIOS
- COMUNICACIONES ORALES
- COMUNICACIONES EN PANELES

PANEL DE EDITORES

La Revista de Farmacología de Chile tiene un panel de editores conformado por connotados farmacólogos nacionales que son miembros de la Sociedad de Farmacología de Chile y académicos de las principales universidades chilenas.

Comité Editorial:

Dr. Ramón Sotomayor-Zárate, Editor en Jefe
(Universidad de Valparaíso, Chile)
Dr. Pablo Jara Picas, Co-Editor (Volumenes Especiales)
(Universidad de Santiago de Chile, Chile)
Dr. Jorge Fuentealba Arcos, Neurofarmacología
(Universidad de Concepción, Chile)
Dra. Viviana Noriega, Farmacología Clínica
(Universidad de Chile, Chile)
Dr. Miguel Reyes-Parada, Química Médica
(Universidad de Santiago de Chile, Chile)
Dra. María Angélica Rivarola, Neuroendocrinología
(Universidad Nacional de Córdoba, Argentina)
Dr. Juan Pablo G. Huidobro-Toro, Farmacodinamia
(Universidad de Santiago de Chile, Chile)
Dra. Marcela Julio-Pieper, Farmacología Gastrointestinal
(P. Universidad Católica de Valparaíso, Chile)

Dra. Georgina M. Renard, Co-Editor (Reviews)
(Universidad de Valparaíso, Chile)
Dra. Gabriela Díaz-Véliz, Psicofarmacología
(Universidad de Chile, Chile)
Dra. Carolina Gómez Gaete, Ciencias Farmacéuticas
(Universidad de Concepción, Chile)
Dr. Edgar Pastene, Fitofarmacología
(Universidad de Concepción, Chile)
Dr. Rodrigo Castillo, Farmacología Cardiovascular
(Universidad de Chile, Chile)
Dr. Patricio Iturriaga-Vásquez, Química Médica
(Universidad de La Frontera, Chile)
Dr. Mauricio D. Dorfman, Metabolismo y Diabetes
(University of Washington, Seattle-USA)
Dr. Javier Bravo Vivallo, Neurofarmacología
(P. Universidad Católica de Valparaíso, Chile)

Evaluadores Asociados:

Dr. Hugo F. Miranda
Dra. María Eugenia Letelier
Dr. Sergio Mora
Dr. Jorge Farías Avendaño
Dr. Alfonso Paredes
Dr. Guillermo Díaz-Araya
Dra. Verónica Donoso
Dr. Mario Faúndez
Dr. Hernán E. Lara
Dra. Jacqueline Sepúlveda
Dr. Yedy Israel
Dr. Juan Carlos Prieto
Dr. Gonzalo Cruz
Dr. Sergio Lavandero

Dra. María Elena Quintanilla
Dra. Teresa Pelissier S.
Dr. Raúl Vinet
Dr. Luis Quiñones
Dr. Patricio Sáez-Briones
Dra. Diadelis Remírez (La Habana, Cuba)
Dr. Leonel Rojo
Dra. Inés Ruiz
Dr. Víctor Domingo Ramírez (Illinois, USA)
Dra. M. Antonieta Valenzuela
Dra. Katia Gysling
Dr. Luis Videla
Dr. Iván Saavedra S.
Dr. Juan Diego Maya

Revista de Farmacología de Chile es publicada por la Sociedad de Farmacología de Chile

Derechos Reservados a la Sociedad de Farmacología de Chile.

ISSN 0718-8811 versión impresa

ISSN 0718-882X versión digital

Todos los derechos reservados. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, almacenada en sistema alguno de tarjetas perforadas o transmitida por otro medio -electrónico, mecánico, fotocopiador, registrador, etcétera- sin permiso previo por escrito del comité editorial.

MISIÓN

La Revista de Farmacología de Chile es considerada el órgano oficial de difusión científica y de opinión de la Sociedad de Farmacología de Chile. En un principio esta revista nació como un remozado libro de resúmenes del XVIII Congreso Latinoamericano de la Asociación de Farmacología realizado en Chile el año 2008. Desde 2009 y hasta ahora la Revista de Farmacología de Chile ha recibido varios trabajos originales de investigación y diversas revisiones de temas farmacológicos relevantes.

La Revista de Farmacología de Chile aborda temas relacionados con la farmacología básica y experimental, así como investigaciones clínicas. Las áreas temáticas principales son: farmacocinética, farmacodinamia, farmacología cardiovascular, farmacología pulmonar, farmacología endocrina, neurofarmacología, farmacología clínica, estudios preclínicos, estrés oxidativo, fitofarmacología, ciencias farmacéuticas, química-médica y toxicología. También la revista actualmente permite divulgar opiniones sobre los principales temas de salud relacionados con medicamentos en Chile, la presentación de líneas de investigación de laboratorios nacionales en donde se realizan investigaciones farmacológicas, información de curso y programas de postgrados nacionales en farmacología y la publicación de resúmenes científicos del Congreso Anual SOFARCHI.

Audiencia:

La Revista de Farmacología de Chile esta dirigida a farmacólogos nacionales e internacionales interesados en la divulgación de la farmacología. También está dirigida a estudiantes de pregrado de carreras universitarias del área de la salud y ciencias biomédicas, y a estudiantes de postgrado que cursen maestrías y doctorados en farmacología.

Periodicidad:

Se editaran 3 números anuales (Abril, Agosto y Diciembre) en formato digital e impreso. El número de Diciembre incluirá trabajos originales y los resúmenes del Congreso Anual de la Sociedad de Farmacología de Chile.

Temas a Publicar:

- Artículos originales en Farmacología Básica, Farmacología Clínica, Farmacoterapia y Toxicología.
- Artículos originales de investigación nacional e internacional en Farmacocinética y Farmacogenética.
- Artículos de revisión de temas farmacológicos importantes sobre las diversas temáticas de la disciplina.
- Artículos de Información de nuevos fármacos incorporados al arsenal terapéutico nacional.
- Opiniones oficiales de la sociedad sobre los aspectos regulatorios y nuevas políticas de medicamentos.
- Artículos sobre nuevas metodologías docentes, aplicadas en Farmacología.
- Información detallada de nuevos reportes de reacciones adversas reportadas a nivel internacional y nacional.
- Libros y revistas de los temas.
- Promoción de actividades académicas, congresos y cursos nacionales e internacionales en farmacología.
- Publicitar las ofertas de trabajo de inserción académica en Universidades Chilenas y extranjeras, así como las oportunidades de inserción laboral en la industria privada ligada al desarrollo de fármacos.

Revista de Farmacología de Chile es publicada por la Sociedad de Farmacología de Chile.

Contacto: Avenida Independencia 1007, Independencia, Santiago, Chile. Teléfono: 56-2-29786050; Correo Electrónico: consultas.sofarchi@gmail.com; farmacologia@med.uchile.cl

Editor en Jefe: Dr. Ramón Sotomayor-Zárate, Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. Avenida Gran Bretaña 1111, Playa-Ancha, Valparaíso, Chile. Teléfono: 56-32-2508050; Correo Electrónico: ramon.sotomayor@uv.cl

EDITORIAL VOLUMEN ESPECIAL DE QUÍMICA MEDICINAL

Miguel Reyes-Parada, Ph.D.
Co-Editor
Universidad de Santiago de Chile

Patricio Iturriaga-Vásquez, Ph.D.
Co-Editor
Universidad de La Frontera

La “Química Medicinal” (como suele traducirse el concepto anglo medicinal chemistry) es un aspecto fundamental del proceso de desarrollo de nuevas drogas. Tal como su nombre lo indica, se trata de una actividad esencialmente multidisciplinaria que involucra desde el diseño y la síntesis de nuevas entidades químicas hasta su evaluación farmacológica a múltiples niveles de complejidad. Como señala Nussbaumer en un reciente artículo (1), el diseño de drogas, es decir la comprensión acerca de los mecanismos que definen cómo una modificación estructural afecta propiedades relevantes de una droga, es un proceso complejo que requiere conocimiento pero muy preponderantemente intuición y experiencia por parte del “Químico Medicinal”. Así, aun cuando una variedad de desarrollos tecnológicos y técnicas computacionales, así como impresionantes avances en áreas como la biología estructural de proteínas han generado significativos cambios en la química medicinal moderna, la optimización de una estructura y el diseño de una nueva droga todavía tiene aspectos que implican alto grado de intuición y “arte” por parte de los investigadores que se dedican a ello.

En este contexto, durante los últimos años la química medicinal ha tenido un significativo desarrollo en nuestro país. Prueba de ello son los diversos proyectos que se desarrollan en múltiples centros académicos y que apuntan al descubrimiento de nuevos compuestos para el tratamiento de una miríada de patologías incluyendo cáncer, enfermedades crónicas no transmisibles y patologías que afectan al Sistema Nervioso Central.

El presente número de la Revista de Farmacología de Chile da cuenta de algunos de estos esfuerzos y contiene trabajos de autores nacionales que abordan este campo. Así, en el primer trabajo el Dr. C. David Pessoa-Mahana hace un análisis de la síntesis, modo de unión y relaciones estructura-actividad de una serie de derivados de benzoimidazol y su posible actividad moduladora sobre el sistema de endocannabinoides. La multiplicidad de funciones fisiológicas reguladas por este sistema, lo hacen particularmente atractivo para el desarrollo de nuevos fármacos con posibles efectos benéficos en el tratamiento del dolor, la ansiedad, la depresión y los trastornos del sueño. En el segundo trabajo, Moraga *et al.*, presentan una revisión respecto de la utilidad de la técnica de acoplamiento molecular (molecular docking) para la búsqueda y comprensión de los modos de unión de alcaloides de origen natural en la enzima acetilcolinesterasa. Tal como señala este trabajo, esta enzima es uno de los blancos moleculares de mayor importancia en la búsqueda de drogas que permitan tratar el déficit cognitivo observado en patologías como la enfermedad de Alzheimer, y las técnicas de acoplamiento molecular son claves para la racionalización de los mecanismos moleculares íntimos que subyacen la interacción entre distintos ligandos y la mencionada proteína. En el siguiente trabajo, el Dr. Hernán Pessoa-Mahana presenta un artículo donde se discute la importancia diseñar drogas polifarmacológicas que, a través de su acción simultánea sobre múltiples receptores, presenten una mayor eficacia en comparación con compuestos más selectivos. Esta idea, que constituye uno de los cambios de paradigma más interesantes de los últimos años en química medicinal, se ejemplifica con el diseño de derivados de piperazinil-indol, los cuales a través de su actividad sobre transportadores, receptores y enzimas catabólicas de

neurotransmisores monoaminérgicos podrían presentar una óptima actividad como antidepresivos. En el siguiente artículo, el Dr. Jaime Mella-Raipan hace una revisión de las principales características de los receptores adrenérgicos β_3 , un blanco farmacológico particularmente atractivo para el desarrollo de fármacos con posible utilidad en el tratamiento de enfermedades que afectan a un importante porcentaje de la población mundial tales como diabetes tipo 2, síndrome metabólico, obesidad y enfermedades cardiovasculares. Así, en este trabajo se analiza una serie de características estructurales y funcionales de este receptor, que son fundamentales de considerar para el diseño de nuevos fármacos con un amplio potencial terapéutico. Finalmente, Vilches-Herrera *et al.*, presentan un trabajo original en el que se evalúa la actividad como inhibidores de la enzima monoaminoxidasa de una serie de derivados ciclados de metiltio-anfetamina, un conocido inhibidor de dicha enzima. Sus resultados indican que estos derivados poseen mayor potencia, la que se racionaliza a través del estudio de sus modos de unión mediante técnicas de acoplamiento molecular. No se puede dejar de mencionar que este último trabajo tiene como “autor de correspondencia” al Dr. Bruce K. Cassels, quien sin duda ha sido pionero en el desarrollo de esta disciplina en el país.

Referencia

- 1.- Nussbaumer P. Medicinal Chemists of the 21(st) Century-Who Are We and Where to Go? ChemMedChem. 2015; 10: 1133-1139.

Revista de Farmacología de Chile

AÑO 2016 VOLUMEN 9 NÚMERO 2

ARTÍCULOS ORIGINALES EN QUÍMICA MEDICINAL

SYNTHESIS, BINDING MODE PREDICTION, BIOLOGICAL EVALUATION AND SAR ANALYSIS OF BENZOIMIDAZOLE-BASED MODULATORS OF THE ENDOCANNABINOID SYSTEM.

Carlos David Pessoa-Mahana

ALKALOID DISCOVERY AS NATURAL ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORS, FROM NATURE TO MOLECULAR DOCKING.

Felipe Moraga *et al.*

A SYNTHETIC APPROACH TOWARDS NOVEL SERIES OF 3-(3-(1-PIPERAZINYL)PROPYL)-1H-INDOLE DERIVATIVES AS MONOAMINERGIC MULTI-TARGET AGENTS. DOCKING STUDIES AND PHARMACOLOGICAL EVALUATION AT SERT, D2, AND MAO-A RECEPTORS.

Hernán Pessoa-Mahana

RATIONAL DESIGN, SYNTHESIS, BIOLOGICAL EVALUATION AND QUANTITATIVE STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS OF NOVEL β 3-AR LIGANDS.

Jaime Mella-Raipan

CYCLOALKYLTHIOPHENYLISOPROPYLAMINE DERIVATIVES ARE BETTER MONOAMINE OXIDASE INHIBITORS THAN THEIR OPEN CHAIN ANALOGUES.

Marcelo Vilches-Herrera *et al.*

SUPLEMENTO XXXVIII CONGRESO ANUAL DE LA SOCIEDAD DE FARMACOLOGÍA DE CHILE

CONFERENCIAS

- **Dr. Francisco Ciruela**, Unitat de Farmacologia, Departament Patologia i Terapèutica Experimental, Facultat de Medicina, IDIBELL-Universitat de Barcelona, Barcelona, España.
- **Dr. Isabel Bermúdez**, Department of Biological & Medical Sciences, Faculty of Health & Life Sciences, Oxford Brookes University, Oxford, UK.
- **Dr. Luis G. Aguayo**, Department of Physiology, Universidad de Concepción, Chile.
- **Dr. Martin Gotteland**, Department of Nutrition, Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago, Chile. Laboratory of Microbiology and Probiotics, Institute of Nutrition and Food Technology (INTA), University of Chile, Santiago, Chile.
- **Dr. Ventura Simonovich**, Conferencia-Sociedad Argentina de Farmacología Experimental. División de Farmacología Clínica del Hospital Italiano, Buenos Aires, Argentina.
- **Dr. Rainer Spanagel**, Institute of Psychopharmacology, Central Institute of Mental Health (ZI), University of Heidelberg, Germany.

SIMPOSIOS

- **Farmacología Endocrina-Reproductiva:** "Nuevas perspectivas sobre el mecanismo de acción y efectos farmacológicos de Metformina".
- **Farmacología del Dolor:** "Avances recientes en la neurobiología del dolor: nuevos blancos moleculares para el desarrollo farmacológico".
- **Farmacología de Productos Naturales:** "Fuentes Naturales de compuestos bioactivos: innovación en nuevas aplicaciones farmacológicas y biomédicas".
- **Farmacología Odontológica:** "Actualidad latinoamericana de la farmacología en odontología".
- **Farmacología Gastrointestinal:** "La barrera intestinal como un blanco farmacológico en el tratamiento de desórdenes sistémicos".
- **Farmacología-Tecnología Farmacéutica:** "Micro y Nanoencapsulación terapéutica".
- **Neuropsicofarmacología:** "Neurocircuitries involved in Drug Addiction: novel therapeutic dianas".
- **Farmacología Cardiovascular:** "Nuevas estrategias farmacológicas en la prevención de la enfermedad coronaria y sus factores de riesgo: desde el modelo animal al ensayo clínico".

COMUNICACIONES ORALES

- Sesión 1: Postulaciones a Incorporación SOFARCHI
- Sesión 2: Comunicaciones Orales Generales

COMUNICACIONES EN PANELES

- Sesión 1: Pósteres 1 al 80
- Sesión 2: Pósteres 1' al 80'

SYNTHESIS, BINDING MODE PREDICTION, BIOLOGICAL EVALUATION AND SAR ANALYSIS OF BENZOIMIDAZOLE-BASED MODULATORS OF THE ENDOCANNABINOID SYSTEM.

Carlos David Pessoa-Mahana

Department of Pharmacy, Faculty of Chemistry, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

ABSTRACT

Cannabis sativa has been widely used for hundreds of years as a medicine. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), the predominant active ingredient of cannabis, and other cannabinoids are known to have therapeutic benefits for treating pain, emesis, anxiety, glaucoma, sleep disorders, appetite disorders, cancer, Alzheimer's disease, and epilepsy. Cannabinoids act on G protein-coupled receptors, CB1 and CB2. The CB1 receptor is highly expressed in the central nervous system, and suppressively controls the release of neurotransmitters from sensory nerves. On the other hand, the CB2 receptor is highly expressed in immune organs such as the spleen, and is implicated in the regulation of inflammatory and immune responses. A therapeutic approach utilizing the activation of the CB1 receptor is expected to be beneficial for the treatment of pain, anxiety, depression, and sleep disorders.

Keywords: Cannabinoids, Δ^9 -THC, SAR analysis, Benzoimidazole.

Rev. Farmacol. Chile (2016) 9 (2) 7-15

Received 2-10-2016; Revised 20-10-2016; Accepted 24-10-2016

1) INTRODUCTION

1.1) The Endocannabinoid System.

The hemp *Cannabis sativa* L. has been used by different civilizations for a variety of medical applications such as pain, stimulation of appetite, nausea, fever, infections, and gynecological disorders [1,2]. In 1964, Gaoni and Mechoulam identified Δ^9 -tetrahydrocannabinol, ending a quest of almost 60 years for the main psychoactive constituent from the leaves of *Cannabis sativa* L. [3]. Until the 1980s, the term "cannabinoids" represented, by definition, the group of typical diterpene C₂₁ compounds present in *Cannabis sativa* L., their carboxylic acids, analogues, and transformation products. They are now sometimes termed phytocannabinoids. In the plant, the important cannabinoid compounds are Δ^9 -tetrahydrocannabinol, Δ^8 -tetrahydrocannabinol, cannabidiol, and cannabinol. The structures of these natural cannabinoids are presented in Figure 1. Cannabidiol is the subject of considerable interest, in view of its antiinflammatory properties and lack of psychotropic effects [4,5].

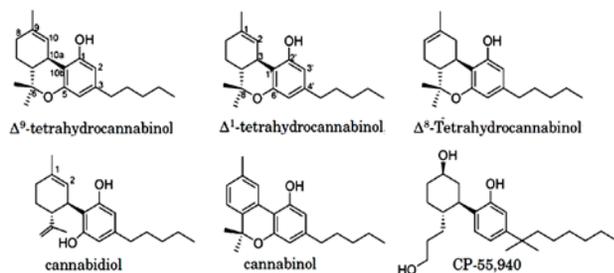
Despite the identification of Δ^9 -tetrahydrocannabinol, its cellular target was not identified for more than a quarter of a century, not the least as a consequence of the high lipophilicity of the compound. The existence of cannabinoid receptors was confirmed in 1988 when an open analogue of

Δ^9 -tetrahydrocannabinol, the Pfizer compound CP-55,940 (Figure 1), was made available. This compound was less lipophilic than Δ^9 -THC and upon tritiation was used as the first probe of cannabinoid receptors by competitive binding assays [6]. It still remains a widely used radioligand.

In 1990, the cloning of a cannabinoid receptor, negatively coupled to adenylyl cyclase and a member of the G-protein coupled-receptor superfamily was reported and termed CB1 [7]. Three years later, a second receptor, termed CB2, was found by sequence homology [8]. This receptor has been cloned from HL-60 cells and was found to be restricted to the immune system, including macrophages from the spleen. Since the 1990s, the term cannabinoid has been extended to any molecule that binds to one of the cannabinoid receptors [9]. With this discovery of cannabinoid receptors, the quest for an endogenous ligand of these receptors was launched. The long route from the discovery of Δ^9 -THC to the endogenous compound has been nicely reviewed by Mechoulam [10].

Correspondence to: Dr. Carlos D. Pessoa-Mahana, Department of Pharmacy, Faculty of Chemistry, Pontificia Universidad Católica de Chile. Address: Vicuña Mackenna, 4860, Santiago, Chile. E-mail: dvdps91@gmail.com

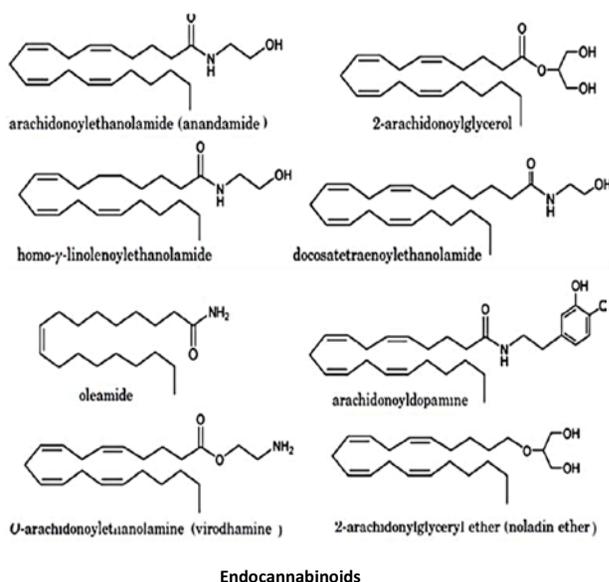
Figure 1.



Natural Cannabinoids and the Derived Synthetic Prototype CP-55,940 (Pfizer).

On the basis of the assumption that the endogenous cannabinoid ligand was a lipidsoluble compound, a lipid derivative, arachidonylethanolamide (C20:4), was isolated from chloroform-methanol extracts of porcine brain and christened anandamide (**Figure 2**), referring both to the Sanskrit “ananda” meaning bliss and to “amide” for the chemical nature of the compound [11]. Besides anandamide, numerous endogenous compounds have been isolated with the ability to bind and activate at least one cannabinoid receptor. These molecules have been termed cannabimimetic fatty acid derivatives [12]. A complete review of the cannabimimetic fatty acid derivatives and the endocannabinoid system as a whole has been nicely reported by Lambert and fowler [13]. By other hand, the pharmacology of cannabinoid receptors has been also reviewed extensively [14,15].

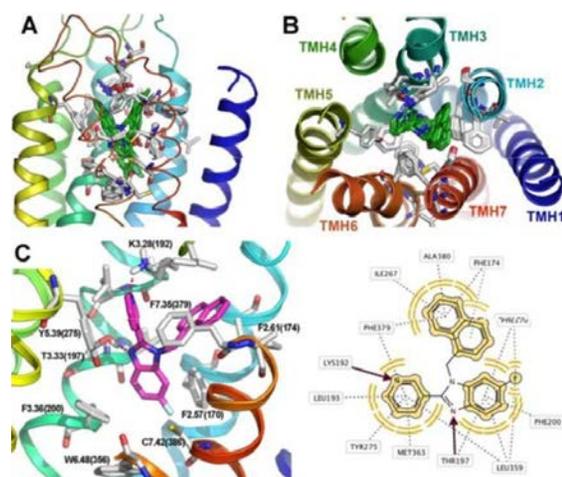
Figure 2.



1.2) The regulation of the endocannabinoid system. The cannabinoid Receptor Type 1 (CB1).

The endocannabinoid system has, as expected for a signalling system, components responsible for synthesis, action, and inactivation, all of which are legitimate targets for pharmacological intervention. The regulation of the endocannabinoid system (ECS) has been studied extensively because of its great potential in the treatment of many conditions. CB1 agonists have been associated to the treatment of pain, [1], cancer [2], and emesis [3] among others. Otherwise, CB1 antagonists have been mainly used in the treatment of obesity [4,5]. Its physiological effects are mediated through the so-called cannabinoid receptors, which are attractive targets for current drug development [6,7]. These proteins belong to the G protein-coupled receptor (GPCR) family and have been the focus of much recent work since the discovery of the CB1 and CB2 receptor subtypes [8,9]. Cannabinoid ligands are characterized by a wide chemical diversity. This diversity has different consequences. First, it has been rather complicated to provide a common pharmacophore for all cannabinoid agonists. Second, the structure-activity relationships were not the same in the entire family. Among the reported and non-classical cannabinergic ligands [10–12], several compounds contain a central heterocyclic scaffold such as indole or benzofuran, displaying a range of different pharmacological profiles [13,14]. For example, the aminoalkylindole derivative WIN55212-2 has been reported to be a potent agonist of the CB1 receptor ($K_i = 9.4 \text{ nM}$) [15], AM679 is a non-selective CB1 and CB2 agonist ($K_i = 13.5 \text{ nM}$ CB1) [16], JWH-007 has been reported as a non selective CB1/CB2 cannabinoid agonist ($K_i = 9.5 \text{ nM}$) [17], while the benzofuran derivative LY320135 is a selective CB1 antagonist ($K_i = 131 \text{ nM}$) [18,19] (Figure 3).

Figure 3.



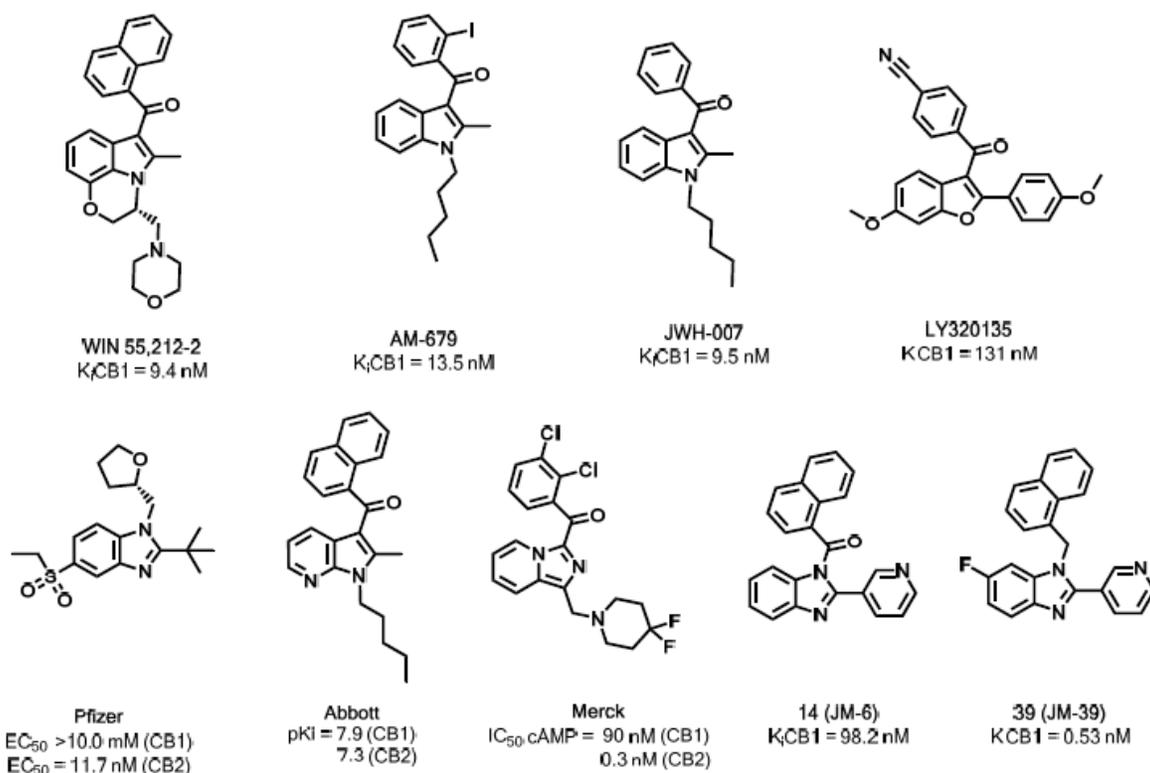
Docking simulation studies of JM-6 with our reported CB1 model.

1.3) Our previous work focused on CB1 receptor modulation.

In the field of cannabimimetic heterocycles, benzimidazoles have been recently reported as CB2 agonist with good CNS penetration by Pfizer [20]. By other hand, Abbott Laboratories have developed azaindoles with agonist activity over the CB1 and CB2 receptors [21], while imidazopyridines from Merck have

been reported to be selective CB2 agonists [22] (Figure 3). During the last years, our research group has been interested in the synthesis of benzimidazole derivatives as ligands of the type 1 cannabinoid receptor. In past screening tests using mice brain synaptosomes, compound **14 (JM-6)** was identified as a high affinity CB1 agonist ($K_i = 98.2$ nM) [16]. Considering the structural resemblance of **JM-6** to the reported ligands (Chart 3), we defined a strategy to develop new and more active CB1 ligand derivatives (Figure 4).

Figure 3.



Previously and recently reports cannabinoid ligands, prototype **14 (JM-6)** and **39 (JM-39)**, the most active compounds.

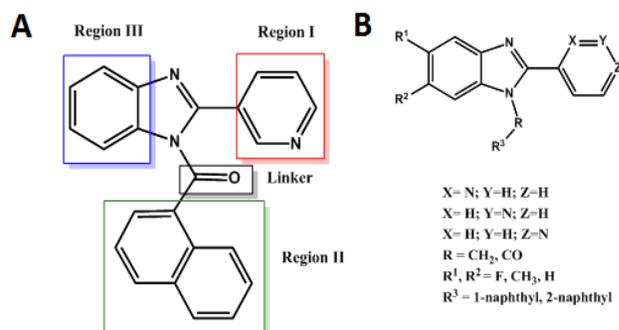
In order to explore SAR requirements of benzimidazoles and optimize the affinity with the CB1 receptor, **JM-6** was subjected to the following changes (Figure 4A): (i) Region I: replacement of the 3-pyridyl ring by 2- and 4-pyridyl isomers to study the influence of the position of the nitrogen atom on hydrogen bond interactions. (ii) Region II and linker: the 1-naphthyl moiety was replaced by a 2-naphthyl group and the carbonyl function exchanged for a methylene group aimed at providing an improved orientation and a more favorable conformation in the

receptor cavity. (iii) Region III. Finally, substitution on the benzimidazole ring (C-5 and C-6) with fluorine and methyl groups was thought to increase π -stacking interactions.

Docking simulation studies of **JM-6** with our reported CB1 model [17] allowed us to propose the existence of three major interaction regions: (a) a hydrogen bond between the pyridine ring and the quaternary amino group of the side chain of residue K3.28(192); (b) the naphthalene moiety establishing hydrophobic and aromatic interactions

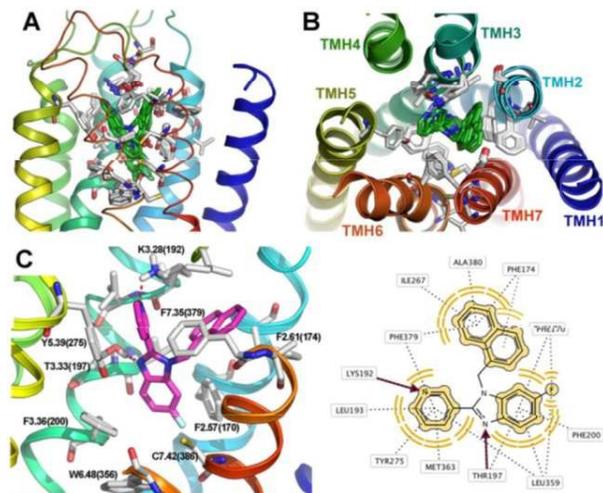
with the side-chain residues F2.57(170), F2.61(174), L3.32(196), I5.31(267), F7.35(379), A7.36(380); and (c) the benzene ring of the benzimidazole core which displayed hydrophobic and aromatic interactions with the side chain residues F2.57(170), F3.36(200), W6.48(356) and L6.51(359) (Figure 5).

Figure 4.



A. Regions for modification on compound JM-6. B. General structure of synthesized compounds.

Figure 5.

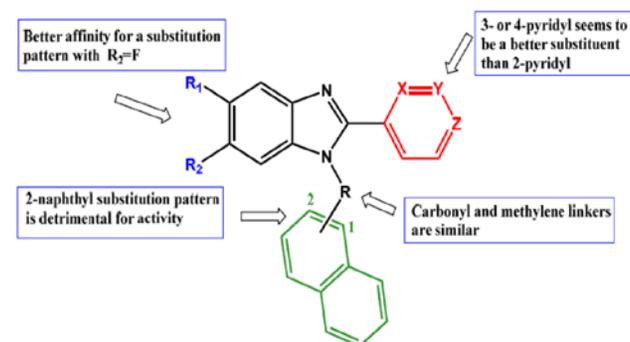


Docking simulation studies of JM-6 with our reported CB1 model.

Significant affinity (nanomolar range) was observed for 21 of the 47 synthesized compounds, while another eight compounds had affinities in the micromolar range. Three benzimidazoles exhibited IC₅₀ values around 20 nM and four molecules exhibited an exceptional affinity with IC₅₀ values under 10 nM. Docking results showed that all the synthesized compounds adopt a Y-like conformation

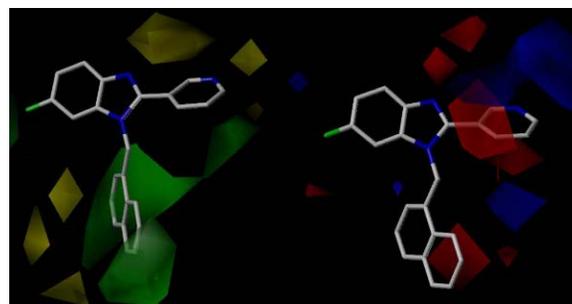
within the CB1 active site, with the pyridine and naphthalenyl or naphthoyl groups as the arms, and the benzimidazole scaffold as the body (Figure 5A,B). The binding site of the ligands is located amidst transmembrane helices 2, 3, 6 and 7. The binding mode of JM-39, the most active compound of the series, is represented in Figure 5C. The structure-activity relationships found for the complete series are summarized in Figure 6 [18].

Figure 6.



A 3D-QSAR model was obtained from CoMFA analysis[18]. This model has high *r*² (0.998), *F* (944.13), and *q*² (0.71), as well as a small SEE (0.057), suggesting that it is reliable and predictive. The steric and electrostatic contour maps of CoMFA, which sustained the rational design for the new series proposed in this project are displayed in Figure 7.

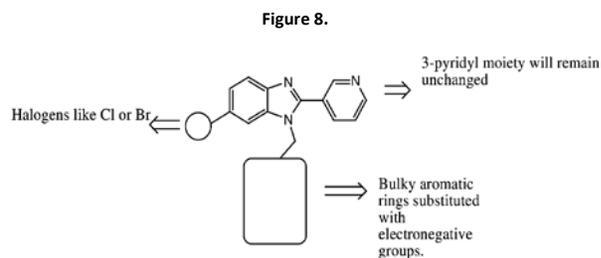
Figure 7.



Left: CoMFA steric contour map for the most active compound 39. The green contour indicates where a bulky group favors activity, while the yellow contour indicates where a small group favors activity. Right: CoMFA electrostatic contour map for the most active compound 39. The blue contour indicates where positive charge favors activity, while a red contour indicates where negative charge favors activity.

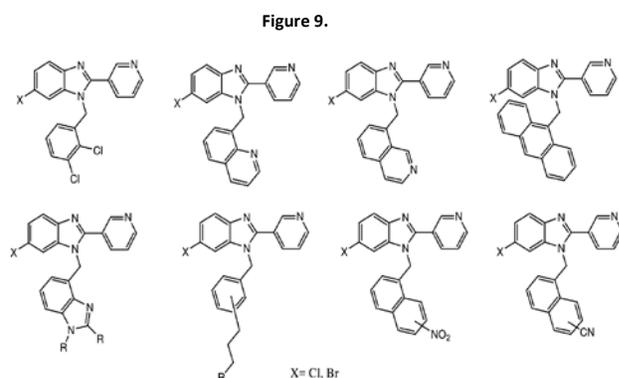
Based in our recent reported CoMFA study and its high predictive value [18], as a first goal we propose in this project to generate a new series (series 1) following the

structural modifications to JM-39 depicted in **figure 8** in order to obtain new high affinity CB1 ligands.



QSAR-guided structural modifications to generate series 1.

According to the analysis shown above, the following list of representatives molecules is feasible to synthesize (**Figure 9**).

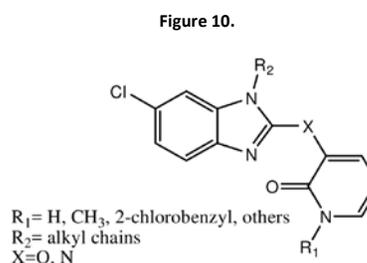


Series of benzimidazoles designed from CoMFA analysis of our previous work on CB1 receptor.

2) THE CANNABINOID RECEPTOR TYPE 2 (CB2).

Although CB1 agonists have potent pharmacological effects, there is concern about adverse effects arising from their systemic activation, such as sedation, dependence and cognitive impairment, among others [19,20]. Selective CB2 agonists have been shown to mediate analgesic effects in preclinical models without CNS side effects. Consequently, the subject of the project that is being submitted, represents a continuation of our research with an emphasis in the obtaining of new selective high affinity CB2 ligands, which represents the second goal of this proposal. The design of the proposed molecules are based on recent papers reporting the 2-pyridone moiety as a selective scaffold for CB2 agonists [21] and the growing number of papers reporting selective CB2 agonists bearing classical heterocycles as indoles, pyrimidines, 4-oxo-1,4-dihydroquinolines, pyrazoles, pyridones, thiazoles,

thiazines, and benzimidazolones [22-41]. Basically, our proposal in this topic is to generate a series with a structure based on two moieties associated to CB2 agonist activity (benzimidazole and 2-pyridone), a strategy no reported to the best of our knowledge (Series 2, **Figure 10**). Experimental molecular modeling tools have been applied in order to provide chemical rationality to the design.

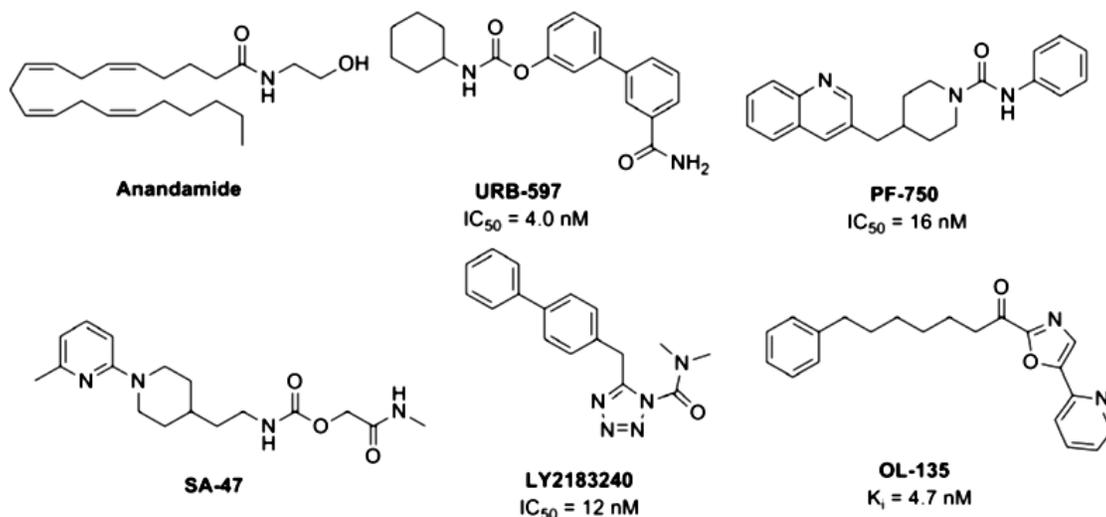


General structure of SERIES 2 designed as selective CB2 agonists.

3) FATTY ACID AMIDE HYDROLASE (FAAH).

Fatty acid amide hydrolase (FAAH) is an intracellular serine hydrolase that catalyzes the deactivating hydrolysis of several endogenous lipid amides such as endogenous cannabinoid (EC), anandamide (arachidonylethanolamide: AEA), oleamide, oleoylethanolamide, and palmitoylethanolamide [42-59]. These lipid amides have several physiological effects, including the alleviation of pain, promotion of sleep, and regulation of appetite [60-63]. AEA is an endogenous cannabinoid that activates the CB1/CB2 receptors. FAAH knockout mice are viable and healthy, and showed an analgesic phenotype in several neuropathic and inflammatory pain models associated with increased brain AEA levels [64-66]. FAAH inhibitors enhance the activation of CB receptors by blocking the degradation of AEA, but they may offer site-specific increase of AEA in tissues where ECs are being produced by physiological protective mechanisms, suggesting that they exhibit pharmacological effects with less adverse effects. Moreover, FAAH inhibitors may have anti-inflammatory effects by suppressing the release of inflammatory chemical mediators by stimulating the CB2 receptor in immune cells. To date, several groups have reported various classes of FAAH inhibitors including carbamates (e.g., URB597 and SA-47) [67-69] urea derivatives (e.g., PF-750 and LY2183240) [69,70], and keto-heterocycles (e.g., OL-135) [71] (**Figure 9**). Carbamates and urea-type FAAH inhibitors are regarded as irreversible inhibitors that form covalent tight binding with the catalytic Ser241 residue within the active site of the FAAH enzyme [72]. On the other hand, reversible inhibitors such as potent keto-heterocycles are believed to form a hemiacetal bond with the catalytic Ser residue [73,74].

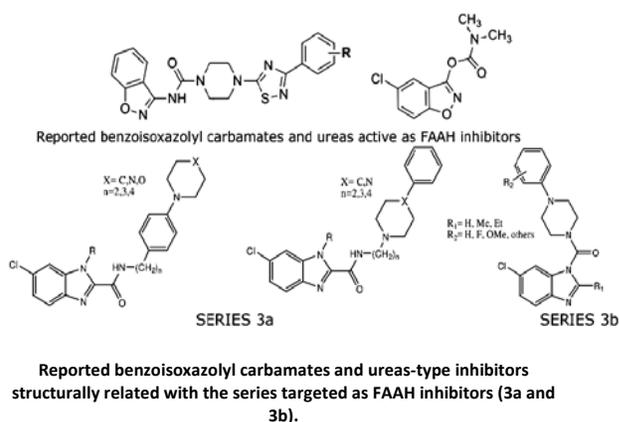
Figure 11.



Anandamide (AEA) and known FAAH inhibitors.

In this proposal, we extend our focus to the study of FAAH inhibitors (series 3a and 3b, **Figure 12**). Our design was based on molecular resemblance with reported benzoisoxazolyl carbamates and ureas [75] (**Figure 13**) and previous molecular modeling on FAAH model (see PRIOR WORK section). If the benzoisoxazolyl group contributed to the FAAH inhibitory activity of compound, it was thought that the replacement of this ring with a isostere ring as benzimidazole would yield new active compounds. Series 3a has been designed as reversible inhibitors while benzimidazole carbamates of series 3b are regarded as irreversible inhibitors, able to form covalent tight binding within the active site of the FAAH enzyme.

Figure 12.



REFERENCES:

- (1) Lambert, D. M. Les Vertus Du Cannabis a Travers Les Millénaires (The Virtues of Cannabis through the Millenium). *J.Pharm. Belg.* 2001, 56, 111-118.
- (2) Adams, I. B.; Martin, B. R. Cannabis: Pharmacology and Toxicology in Animals and Humans. *Addiction* 1996, 91, 1585-1614.
- (3) Mechoulam, R.; Gaoni, Y. The Absolute Configuration of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol, the Major Active Constituent of Hashish. *Tetrahedron Lett.* 1967, 8, 1109-1111.
- (4) Offertaler, L.; Mo, F. M.; Batkai, S.; Liu, J.; Begg, M.; Razdan, R. K.; Martin, B. R.; Bukoski, R. D.; Kunos, G. Selective Ligands and Cellular Effectors of a G Protein-Coupled Endothelial Cannabinoid Receptor. *Mol. Pharmacol.* 2003, 63, 699-705.
- (5) Mechoulam, R.; Hanus, L. Cannabidiol: An Overview of Some Chemical and Pharmacological Aspects. Part I: Chemical Aspects. *Chem. Phys. Lipids* 2002, 121, 35-43.
- (6) Devane, W. A.; Dysarz, F. A.; Johnson, M. R.; Melvin, L. S.; Howlett, A. C. Determination and Characterization of a Cannabinoid Receptor in Rat Brain. *Mol. Pharmacol.* 1988, 34, 605-613.
- (7) Matsuda, L. A.; Lolait, S. J.; Brownstein, M. J.; Young, A. C.; Bonner, T. I. Structure of a Cannabinoid Receptor and Functional Expression of the Cloned cDNA. *Nature* 1990, 346, 561-564.
- (8) Munro, S.; Thomas, K. L.; Abu, S. M. Molecular Characterization of a Peripheral Receptor for Cannabinoids. *Nature* 1993, 365, 61- 65.
- (9) Howlett, A. C.; Barth, F.; Bonner, T. I.; Cabral, G.; Casellas, P.; Devane, W. A.; Felder, C. C.; Herkenham, M.; Mackie, K.; Martin, B. R.; Mechoulam, R.; Pertwee, R. G. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of Cannabinoid Receptors. *Pharmacol. Rev.* 2002, 54, 161-202.
- (10) Mechoulam, R.; Ben Shabat, S. From Gan-Zi-Gun-Nu to Anandamide and 2-Arachidonoylglycerol: The Ongoing Story of Cannabis. *Nat. Prod. Rep.* 1999, 16, 131-143.

- (11) Devane, W. A.; Hanus, L.; Breuer, A.; Pertwee, R. G.; Stevenson, L. A.; Griffin, G.; Gibson, D.; Mandelbaum, A.; Etinger, A.; Mechoulam, R. Isolation and Structure of a Brain Constituent That Binds to the Cannabinoid Receptor. *Science* 1992, 258, 1946-1949.
- (12) Di Marzo, V.; Bisogno, T.; De Petrocellis, L.; Melck, D.; Martin, B. R. Cannabimimetic Fatty Acid Derivatives: The Anandamide Family and Other Endocannabinoids. *Curr. Med. Chem.* 1999, 6, 721-744.
- (13) Lambert, D.M.; Fowler, Ch. J. The Endocannabinoid System: Drug Targets, Lead Compounds, and Potential Therapeutic Applications. *J. Med. Chem.* 2005, 48(16), 5059-5087.
- (14) Pertwee, R. G. Pharmacology of Cannabinoid Receptor Ligands. *Curr. Med. Chem.* 1999, 6, 635-664.
- (15) Reggio, P. H. Pharmacophores for Ligand Recognition and Activation/Inactivation of the Cannabinoid Receptors. *Curr. Pharm. Des.* 2003, 9, 1607-1633.
- (16) Araya, K.A.; Pessoa-Mahana, C. D.; González, L.G. Role of CB1 receptors and Gi/o protein activation in the modulation of synaptosomal Na⁺,K⁺-ATPase activity by WIN55,212-2 and Δ9-THC. *Eur. J. Med. Chem.* 2007, 52(1), 32-39.
- (17) González, A.; Duran, L. S.; Araya-Secchi, R.; Garate, J. A.; Pessoa-Mahana, C. D.; Lagos, C. F.; Perez-Acle, T. Computational modeling study of functional microdomains in cannabinoid receptor type 1. *Bioorg. Med. Chem.* 2008, 16, 4378-89.
- (18) Mella-Raipán, J.A.; Lagos, C.F.; Recabarren-Gajardo, G.; Espinosa-Bustos, Ch.; Romero-Parra, J.; Pessoa-Mahana, H.; Iturriaga-Vásquez, P.; Pessoa-Mahana, C.D. Design, Synthesis, Binding and Docking-Based 3D-QSAR Studies of 2-Pyridylbenzimidazoles—A New Family of High Affinity CB1 Cannabinoid Ligands. *Molecules* 2013, 18, 3972-4001.
- (19) Chen, J.Z.; Wang, J.; Xie, X.Q. GPCR structure-based virtual screening approach for CB2 antagonist search. *J Chem Inf Model* 2007, 47, 1626-1637.
- (20) Cichero, E.; Ligresti, A.; Allarà, M.; di Marzo, V.; Lazzati, Z.; D'Urso, P.; Marabotti, A.; Milanesi, L.; Spallarossa, A.; Ranise, A.; Fossa, P. Homology modeling in tandem with 3D-QSAR analyses: A computational approach to depict the agonist binding site of the human CB2 receptor. *Eur. J. Med. Chem.* 2011, 46, 4489-4505.
- (21) Kusakabe, K.; Tada, Y.; Is, Y.; Sakagami, M.; Morioka, Y.; Chomei, N.; Shinonome, S.; Kawamoto, K.; Takenaka, H.; Yasui, K.; Hamana, H.; Hanasaki, K. Design, synthesis, and binding mode prediction of 2-pyridone-based selective CB2 receptor agonists. *Bioorg. Med. Chem.* 2013, 21, 2045-2055.
- (22) Malan, T.P., Jr.; Ibrahim, M.M.; Deng, H.; Liu, Q.; Mata, H.P.; Vanderah, T.; Porreca, F.; Makriyannis, A. CB2 cannabinoid receptor-mediated peripheral antinociception. *Pain* 2001, 93, 239-245.
- (23) Giblin, G.M.; Billinton, A.; Briggs, M.; Brown, A.J.; Chessell, I.P.; Clayton, N.M.; Eatherton, A.J.; Goldsmith, P.; Haslam, C.; Johnson, M.R.; Mitchell, W.L.; Naylor, A.; Perboni, A.; Slingsby, B.P.; Wilson, A.W. Discovery of 1-[4-(3-chlorophenylamino)-1-methyl-1H-pyrrolo[3,2-c]pyridin-7-yl]-1-morpholin-4-ylmethanone (GSK54418A), a brain penetrant 5-azaindole CB2 agonist for the treatment of chronic pain. *J Med Chem* 2009, 52, 5785-5788.
- (24) Jhaveri, M.D.; Sagar, D.R.; Elmes, S.J.; Kendall, D.A.; Chapman, V. Cannabinoid CB2 receptor-mediated anti-nociception in models of acute and chronic pain. *Mol Neurobiol* 2007, 36, 26-35.
- (25) Thakur, G.A.; Tichkule, R.; Bajaj, S.; Makriyannis, A. Latest advances in cannabinoid receptor agonists. *Expert Opin Ther Pat* 2009, 19, 1647-1673.
- (26) Marriott, K.S.; Huffman, J. Recent advances in the development of selective ligands for the cannabinoid CB(2) receptor. *Top. Med. Chem.* 2008, 8, 187-204.
- (27) Huffman, J. W.; Lu, J.; Hynd, G.; Wiley, J. L.; Martin, B. R. *Bioorg. Med. Chem.* 2001, 9, 2863-2870.
- (28) Giblin, G. M. P.; O'Shaughnessy, C. T.; Naylor, A.; Mitchell, W. L.; Eatherton, A. J.; Slingsby, B. P.; Rawlings, D. A.; Goldsmith, P.; Brown, A. J.; Haslam, C. P.; Clayton, N. M.; Wilson, A. W.; Chessell, I. P.; Wittington, A. R.; Green, R. A pyridone analogue of traditional cannabinoids. A new class of selective ligands for the CB(2) receptor. *J. Med. Chem.* 2007, 50, 2597-2600.
- (29) Cheng, Y.; Albrecht, B. K.; Brown, J.; Buchanan, J. L.; Buckner, W. H.; DiMauro, E. F.; Emkey, R.; Fremeau, R. T.; Harmange, J.-C.; Hoffman, B. J.; Huang, L.; Huang, M.; Lee, J. H.; Lin, F.-F.; Martin, M. W.; Nguyen, H. Q.; Patel, V. F.; Tomlinson, S. A.; White, R. D.; Xia, X.; Hitchcock, S. A. Discovery and optimization of a novel series of N-arylamide oxadiazoles as potent, highly selective and orally bioavailable cannabinoid receptor 2 (CB2) agonists. *J. Med. Chem.* 2008, 51, 5019-5034.
- (30) van der Stelt, M.; Cals, J.; Broeders-Josten, S.; Cottney, J.; van der Doelen, A. A.; Hermkens, M. I.; de Kimpe, V.; King, A.; Klomp, J.; Oosterom, J.; Pols-de Rooij, I.; de Roos, J.; van Tilborg, M.; Boyce, S.; Baker, J. Discovery and optimization of 1-(4-(pyridin-2-yl)benzyl)imidazolidine-2,4-dione derivatives as a novel class of selective cannabinoid CB2 receptor agonists. *J. Med. Chem.* 2011, 54, 7350-7362.
- (31) Frost, J. M.; Dart, M. J.; Tietje, K. R.; Garrison, T. R.; Grayson, G. K.; Daza, A. V.; El-Kouhen, O. F.; Yao, B. B.; Hsieh, G. C.; Pai, M.; Zhu, C. Z.; Chandran, P.; Meyer, M. D. Indol-3-ylcycloalkyl ketones: effects of N1 substituted indole side chain variations on CB(2) cannabinoid receptor activity. *J. Med. Chem.* 2010, 53, 295-315.
- (32) Frost, J. M.; Dart, M. J.; Tietje, K. R.; Garrison, T. R.; Grayson, G. K.; Daza, A. V.; El-Kouhen, O. F.; Miller, L. N.; Li, L.; Yao, B. B.; Hsieh, G. C.; Pai, M.; Zhu, C. Z.; Chandran, P.; Meyer, M. D. Indol-3-yl-tetramethylcyclopropyl ketones: effects of indole ring substitution on CB2 cannabinoid receptor activity. *J. Med. Chem.* 2008, 51, 1904-1912.
- (33) Stern, E.; Muccioli, G. G.; Millet, R.; Goossens, J.-F.; Farce, A.; Chavatte, P.; Poupaert, J. H.; Lambert, D. M.; Depreux, P.; Henichart, J.-P. Novel 4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxamide derivatives as new CB2 cannabinoid receptors agonists: synthesis, pharmacological properties and molecular modeling. *J. Med. Chem.* 2006, 49, 70-79.
- (34) Stern, E.; Muccioli, G. G.; Bosier, B.; Hamtiaux, L.; Millet, R.; Poupaert, J. H.; Henichart, J.-P.; Depreux, P.; Goossens, J.-F.; Lambert, D. M. Pharmacomodulations around the 4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxamides, a class of potent CB2-selective cannabinoid receptor ligands: consequences in receptor affinity and functionality. *J. Med. Chem.* 2007, 50, 5471-5484.
- (35) Tao, Q.; McAllister, S. D.; Andreassi, J.; Nowell, K. W.; Cabral, G. A.; Hurst, D.P.; Bachtel, K.; Ekman, M. C.; Reggio, P. H.; Abood, M. E. Role of a conserved lysine residue in the peripheral cannabinoid receptor (CB2): evidence for subtype specificity. *Mol. Pharmacol.* 1999, 55, 605-613.
- (36) Tuccinardi, T.; Ferrarini, P. L.; Manera, C.; Ortore, G.; Saccomanni, G.; Martinelli, A. Cannabinoid CB2/CB1 selectivity. Receptor modeling and automated docking analysis. *J. Med. Chem.* 2006, 49, 984-994.
- (37) Ashton, J. C.; Wright, J. L.; McPartland, J. M.; Tyndall, J. D. A. Cannabinoid CB1 and CB2 receptor ligand specificity and the development of CB2-selective agonists. *Curr. Med. Chem.* 2008, 15, 1428-1443.
- (38) Raitio, K.H.; Salo, O. M. H.; Nevalainen, T.; Poso, A.; Jaervinen, T. Targeting the cannabinoid CB2 receptor: mutations, modeling and development of CB2 selective ligands. *Curr. Med. Chem.* 2005, 12, 1217-1237.
- (39) Kai, H.; Morioka, Y.; Murashi, T.; Morita, K.; Shinonome, S.; Nakazato, H.; Kawamoto, K.; Hanasaki, K.; Takahashi, F.; Mihara, S.;

- Arai, T.; Abe, K.; Okabe, H.; Baba, T.; Yoshikawa, T.; Takenaka, H. 2-Arylimino-5,6-dihydro-4H-1,3-thiazines as a new class of cannabinoid receptor agonists. Part 1: discovery of CB2 receptor selective compounds. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007, 17, 4030-4034.
- (40) Kai, H.; Morioka, Y.; Tomida, M.; Takahashi, T.; Hattori, M.; Hanasaki, K.; Koike, K.; Chiba, H.; Shinohara, S.; Kanemasa, T.; Iwamoto, Y.; Takahashi, K.; Yamaguchi, Y.; Baba, T.; Yoshikawa, T.; Takenaka, H. 2-Arylimino-5,6-dihydro-4H-1,3-thiazines as a new class of cannabinoid receptor agonists. Part 2: orally bioavailable compounds. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007, 17, 3925-3929.
- (41) Kai, H.; Morioka, Y.; Koriyama, Y.; Okamoto, K.; Hasegawa, Y.; Hattori, M.; Koike, K.; Chiba, H.; Shinohara, S.; Iwamoto, Y.; Takahashi, K.; Tanimoto, N. 2-Arylimino-5,6-dihydro-4H-1,3-thiazines as a new class of cannabinoid receptor agonists. Part 3: Synthesis and activity of isosteric analogs. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 6444-6447.
- (42) Cravatt, B. F.; Giang, D. K.; Mayfield, S. P.; Bogar, D. L.; Lerner, R. A.; Gilula, N. B. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. *Nature* 1996, 384, 83-87.
- (43) Giang, D. K.; Cravatt, B. F. Molecular characterization of human and mouse fatty acid amide hydrolases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1997, 94, 2238-2242.
- (44) Deutsch, D. G.; Ueda, N.; Yamamoto, N. The fatty acid amide hydrolase (FAAH). *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 2002, 66, 201-210.
- (45) Patricelli, M. P.; Cravatt, B. F. Proteins regulating the biosynthesis and inactivation of neuromodulatory fatty acid amides. *Vitam. Horm.* 2001, 62, 95-131.
- (46) Egertova, M.; Cravatt, B. F.; Elphick, M. R. Comparative analysis of fatty acid amide hydrolase and cb(1) cannabinoid receptor expression in the mouse brain: evidence of a widespread role for fatty acid amide hydrolase in regulation of endocannabinoid signaling. *J. Neurosci.* 2003, 119, 481-496.
- (47) Boger, D. L.; Fecik, R. A.; Patterson, J. E.; Miyauchi, H.; Patricelli, M. P.; Cravatt, B.F. Fatty acid amide hydrolase substrate specificity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2000, 10, 2613-2616.
- (48) Ezzili, C.; Otrubova, K.; Boger, D. L. Fatty acid amide signaling molecules. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010, 20, 5959-5968.
- (49) Devane, W. A.; Hanus, L.; Breuer, A.; Pertwee, R. G.; Stevenson, L. A.; Griffin, G.; Gibson, D.; Mandelbaum, A.; Etinger, A.; Mechoulam, R. *J. Neurosci.* 1992, 258, 1946-1949.
- (50) Martin, B. R.; Mechoulam, R.; Razdan, R. K. Discovery and characterization of endogenous cannabinoids. *Life Sci.* 1999, 65, 573-595.
- (51) Di Marzo, V.; Bisogno, T.; De Petrocellis, L.; Melck, D.; Martin, B. R. Cannabimimetic fatty acid derivatives: the anandamide family and other endocannabinoids. *Curr. Med.Chem.* 1999, 6, 721-744.
- (52) Schmid, H. H. O.; Schmid, P. C.; Natarajan, V. N-acylated glycerophospholipids and their derivatives. *Prog. Lipid Res.* 1990, 29, 1-43.
- (53) Boger, D. L.; Henriksen, S. J.; Cravatt, B. F. Oleamide: an endogenous sleep-inducing lipid and prototypical member of a new class of biological signaling molecules. *Curr. Pharm. Des.* 1998, 4, 303-314.
- (54) Cravatt, B. F.; Lerner, R. A.; Boger, D. L. Structure determination of an endogenous sleep-inducing lipid, cis-9-octadecenamide (oleamide): A synthetic approach to the chemical analysis of trace quantities of a natural product. *J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118, 580-590.
- (55) Cravatt, B. F.; Prospero-Garcia, O.; Suizdak, G.; Gilula, N. B.; Henriksen, S. J.; Boger, D. L.; Lerner, R. A. Chemical characterization of a family of brain lipids that induce sleep. *J. Neurosci.* 1995, 268, 1506-1509.
- (56) Lerner, R. A.; Siuzdak, G.; Prospero-Garcia, O.; Henriksen, S. J.; Boger, D. L.; Cravatt, B. F. Cerebrosdine: a brain lipid isolated from sleep-deprived cats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1994, 91, 9505-9508.
- (57) Rodriguez de Fonseca, F.; Navarro, M.; Gomez, R.; Escuredo, L.; Nava, F.; Fu, J.; Murillo-Rodriguez, E.; Giuffrida, A.; Lo Verme, J.; Gaetani, S.; Kathuria, S.; Gall, C.; Piomelli, D. An anorexic lipid mediator regulated by feeding. *Nature* 2001, 414, 219-212.
- (58) Goparaju, S. K.; Ueda, N.; Taniguchi, K.; Yamamoto, S. Enzymes of porcine brain hydrolyzing 2-arachidonoylglycerol, an endogenous ligand of cannabinoid receptors. *Biochem. Pharmacol.* 1999, 57, 417-423.
- (59) Walker, J. M.; Huang, S. M.; Strangman, N. M.; Tsou, K.; Sanudo-Pena, M. C. Pain modulation by release of the endogenous cannabinoid anandamide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1999, 96, 12198-12203.
- (60) Lambert, D.M.; Fowler, Ch. J. The Endocannabinoid System: Drug Targets, Lead Compounds, and Potential Therapeutic Applications. *J. Med. Chem.* 2005, 48(16), 5059-5087. Pacher, P.; Batkai, S.; Kunos, G. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol. Rev.* 2006, 58, 389-462.
- (61) Di Marzo, V. Targeting the endocannabinoid system: to enhance or reduce? *Nat. Rev. Drug Disc.* 2008, 7, 438-455.
- (62) Thabuis, C.; Destailats, F.; Tissot-Favre, D.; Martin, J. C. Oleoyl-ethanolamide (OEA): A bioactive lipid derived from oleic acid and phosphatidylethanol-amine. *Lip Technol.* 2007, 19, 225-227.
- (64) Cravatt, B. F.; Demarest, K.; Patricelli, M. P.; Bracey, M. H.; Giang, D. K.; Martin, B. R.; Lichtman, A. H. Supersensitivity to anandamide and enhanced endogenous cannabinoid signaling in mice lacking fatty acid amide hydrolase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001, 98, 9371-9376.
- (65) Clement, A.B.; Hawkins, E.G.; Lichtman, A.H.; Cravatt, B.F. Increased seizure susceptibility and proconvulsant activity of anandamide in mice lacking fatty acid amide hydrolase. *J. Neurosci.* 2003, 23, 3916-3923.
- (66) Lichtman, A. H.; Shelton, C. C.; Advani, T.; Cravatt, B. F. Mice lacking fatty acid amide hydrolase exhibit a cannabinoid receptor-mediated phenotypic hypoalgesia. *Pain* 2004, 109, 319-327.
- (67) Abouab-Dellah, A.; Burnier, P.; Hoornaert, C.; Jeunesse, J.; Puech, F. Patent WO2004/099176, Derivatives of Piperidinyl- and Piperazinyl-alkyl Carbamates, Preparation Methods and Application in Therapeutics (Sanofi). 2004; US2006/0089344, 2006.
- (68) Ahn, K.; Johnson, D. S.; Fitzgerald, L. R.; Liimatta, M.; Arendse, A.; Stevenson, T.; Lund, E. T.; Nugent, R. A.; Nomanbhoy, T. K.; Alexander, J. P.; Cravatt, B. F. Novel mechanistic class of fatty acid amide hydrolase inhibitors with remarkable selectivity. *Biochemistry* 2007, 46, 13019-13030.
- (69) Kono, M.; Matsumoto, T.; Kawamura, T.; Nishimura, A.; Kiyota, Y.; Oki, H.; Miyazaki, J.; Igaki, S.; Behnke, C.A.; Shimojo, M.; Kori, M. Synthesis, SAR study, and biological evaluation of a series of piperazine ureas as fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* 2013, 21, 28-41.
- (70) Alexander, J. P.; Cravatt, B. F. The putative endocannabinoid transport blocker LY2183240 is a potent inhibitor of FAAH and several other brain serine hydrolases. *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 9699-9704.

- (71) Boger, D. L.; Miyauchi, H.; Du, W.; Hardouin, C.; Fecik, R. A.; Cheng, H.; Hwang, I.; Hedrick, M. P.; Leung, D.; Acevedo, O.; Guimaraes, C. R. W.; Jorgensen, W. L.; Cravatt, B. F. Discovery of a potent, selective, and efficacious class of reversible alpha- ketoheterocycle inhibitors of fatty acid amide hydrolase effective as analgesics. *J. Med. Chem.* 2005, 48, 1849-1856.
- (72) Alexander, J. P.; Cravatt, B. F. Mechanism of carbamate inactivation of FAAH: implications for the design of covalent inhibitors and in vivo functional probes for enzymes. *Chem. Biol.* 2005, 12, 1179-1187.
- (73) Mileni, M.; Garfunkle, J.; DeMartino, J. K.; Cravatt, B. F.; Boger, D. L.; Stevens, R. C. Binding and inactivation mechanism of a humanized fatty acid amide hydrolase by alpha-ketoheterocycle inhibitors revealed from cocrystal structures. *J. Am. Chem. Soc.* 2009, 30, 10497-10506.
- (74) Mileni, M.; Garfunkle, J.; Ezzili, C.; Kimball, F. S.; Cravatt, B. F.; Stevens, R. C.; Boger, D. L. X-ray crystallographic analysis of alpha-ketoheterocycle inhibitors bound to a humanized variant of fatty acid amide hydrolase. *J. Med. Chem.* 2010, 1, 230-240.
- (75) Matsumoto, T.; Kori, M.; Miyazaki, J.; Kiyota, Y. Patent WO2006/054652, 2006; EP1813606, 2007; US2008/0312226, 2008.

ALKALOID DISCOVERY AS NATURAL ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORS, FROM NATURE TO MOLECULAR DOCKING.

Felipe Moraga^{1,2}, Emilio Hormazábal², Herbert Venthur², Andres Quiroz² and Ana Mutis²

¹ Programa de Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. ² Laboratorio de Química Ecológica, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

ABSTRACT

Acetylcholinesterase (AChE), plays a key role as an essential enzyme in memory and cognition process through the hydrolysis of neurotransmitter acetylcholine. Although the physiological role of AChE in neural transmission is well known, its role as pharmaceutical target for the treatment of Alzheimer's disease (AD) is still matter of extensive research. It has been elucidated that cholinergic deficiency is associated with AD. Therefore, one of the major therapeutic strategies is to inhibit the biological activity of AChE, increasing the acetylcholine level in the brain. However, one of the major limitations of up-regulating AChE activity through acetylcholinesterase inhibition is that repeated doses of acetylcholinesterase inhibitor (AChEi) lead to the development of tolerance. Despite its limited success, AChEi remains as the only approved treatment by Food and Drug Administration (FDA) for AD. This scenario has led to strong efforts to discover new AChEi from a vast number of plant species, which can provide new bioactive compounds for control strategies in AD. Thus, natural alkaloids have been shown to be potent AChEi. However, the process of AChEi-based drug development is challenging, time consuming, expensive, and requires consideration of many aspects (eg. chemical structure, identification and biological assay). Therefore, the computer-based methods are becoming increasingly important as they complement laboratory experiments in studying the structure and function of biomolecules. Specifically, molecular docking has been highlighted as a frequently used tool in structure-based drug discovery. Although early efforts were hindered by limited possibilities in computational resources, the recent advance in high performance computing with virtual screening methods has become drug discovery more efficient. Therefore, the objective of this review is to summarize the usefulness of molecular docking related to alkaloid research as well as new approaches for alkaloid discovery using AChE as targets.

Keywords: Molecular docking, alkaloids, acetylcholinesterase inhibitors.

Rev. Farmacol. Chile (2016) 9 (2) 16-25

Received 2-10-2016; Revised 20-10-2016; Accepted 24-10-2016

1) INTRODUCTION

Alzheimer's disease (AD) is the most common single cause of dementia (Ferris and Farlow, 2013). This illness is characterized by progressive neurodegenerative disorders, collapse of cognitive functions and formations of amyloid plaques along with neurofibrillary tangles (Auld et al., 2002; Blennow et al., 2006). The AChEi have been approved for the symptomatic treatment of AD for over a decade, which is highlighted by preventing the hydrolysis of acetylcholine (Zaheer-ul-Haq et al., 2010). However, it seems that all long-term studies have not shown clinical efficacy resulting in a loss of drug efficacy or the relentless progression of the disease (Zaheer-UI-Haq et al. 2003). Thus, interest in the discovery of novel AChEi remains since the lack of perfection in the current ones.

Many of AChEi and structures known today are derived from natural products, such as galantamine and huperzine A (Lilienfeld, 2002; Ma and Gang, 2008). Natural products have

played a significant role in the development of new drugs for the treatment of diseases (Ingrassia et al., 2008). Thus, alkaloids can exhibit a wide range of bioactivities, such as antitumor, antiviral, antibacterial, antifungal, antimalarial, analgesic and AChEi (Evidente and Kornienko, 2009; Jin, 2011). It is thought that novel natural sources of drugs can be discovered by traditional extraction methods and bioassays associated.

The use of AChE as target and potential AChEi as ligands can involve an *in silico* approach called molecular docking, which is frequently used in structure-based drug discovery. Unfortunately, no perfect representation has been obtained for ligand-receptor systems since physicochemical conditions and dynamics have apparently been overlooked in different receptors (Guo et al., 2004).

Correspondence to: Dr. Felipe Moraga, Laboratorio de Química Ecológica, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera. Address: Casilla 54-D, Temuco 4811230, Chile. Phone: (56) 45 2325000 - FAX: (56) 45 2592822. E-mail: f.moraga01@ufromail.cl

Likewise, the results of previous studies on AChE-ligand interactions seemed to be heavily dependent on the type of ligand (Berg et al. 2011), the protein conformation (Alonso et al., 2006) and the presence of water (Roberts and Mancera, 2008). Despite these difficulties, molecular docking of AChE ligands has been applied in numerous cases to explore the role of identified and subsequently synthesized compounds in terms of AChE-ligand interactions and quantitative structure-activity relationships (QSARs). However, to answer the question of how useful molecular docking could be for alkaloid discovery, some facts need to be addressed. Can alkaloids be successfully docked in to AChE crystal structures? Is it likely to achieve consistency between experimental and *in silico* AChE-alkaloid interactions? This review seeks to answer these and other questions summarizing the usefulness of molecular docking with successful results related to alkaloid research. Likewise, the best conditions along with new approaches for alkaloid discovery using AChE as targets are proposed.

2) ALKALOIDS AND THEIR IMPACT FOR THE TREATMENT OF HUMAN DISEASES.

Plants used in traditional medicine have the potential to provide pharmacologically active natural products such as alkaloids, which can be used to treat several diseases. This could be achieved by taking advantage of information available from traditional medicine and/or ethnobotanical knowledge (Elgorashi and Van Staden, 2004). Alkaloids are important molecules derived from secondary metabolism that can act as rich sources of research in biomedicine and drug discovery area (Lu et al., 2012). Thus, several alkaloids isolated from natural herbs exhibit potential activity against cancer. In fact, the first agents to advance into clinical use were indole alkaloids, vinblastine and vincristine, isolated from the Madagascar periwinkle, *Catharanthus roseus* (Apocynaceae), used in combination with other chemotherapeutic drugs for the treatment of a variety of cancers including lymphocytic leukemia, testicular cancer, breast and lung cancer (Cragg and Newman, 2005). On the other hand, the diterpene alkaloid paclitaxel isolated from Pacific Yew (*Taxus brevifolia*), inhibits cell proliferation by altering the dynamics of tubulin addition (Mohan et al., 2012), and is used in the treatment of breast, ovarian, and non-small cell lung cancer, and has also shown efficacy against Kaposi sarcoma (Cragg and Newman, 2005). Another important source of important remedies in Oriental medicine is Chinese herbs, on this matter, evodiamine, a quinolone alkaloid, is one of the major bioactive compounds isolated from *Evodia rutaecarpa*. Studies have demonstrated that evodiamine has anti-cancer activities both *in vitro* and *in vivo* by inhibiting proliferation, invasion, metastasis and apoptosis in a variety of cancer cell lines (Jiang and Hu, 2009). On the

other hand, berberine, an isoquinoline alkaloid widely distributed in natural herbs including *Rhizoma coptidis* (a prescribed Chinese herb), has shown potential anti-cancer activity in *in vitro* and *in vivo* experiments by interfering with the multiple aspects of tumorigenesis and tumor progression (Lu et al., 2012). Furthermore, amaryllidaceae alkaloids; lycorine, amarbellisine, haemanthamine, and haemanthidine reported by Van Goietsenoven et al. (2010), exert antiproliferative activities toward cancer cell lines that are apoptosis-resistant. Although the source of alkaloids with anti-cancer potentials is very extensive, considerations, such as water solubility, bioavailability and toxicity must be evaluated (Lu et al., 2012).

Malaria is an infectious disease, causing approximately one million deaths annually and 300–400 million infections per annum (Şener et al., 2003; Dua et al., 2013). Protozoan species of the genus *Plasmodium* are responsible for this infection, although the majority of fatal cases are caused by *P. falciparum*. The challenge in malaria chemotherapy is to find safe and selective agents with potency that will not be compromised by plasmodial resistance (Frederich et al., 2008). Literature supports the potential of plant-derived alkaloids as source for anti-malarial drug development (Frederich et al., 2008; Onguéné et al., 2013). In this regard, the study reported by Chierrito et al. (2014) highlights the activity against *P. falciparum* and low cytotoxicity in *in vitro* experiments shown by the monoterpene indole alkaloid, aspidoscarpine, isolated from *Aspidosperma olivaceum*. On the other hand, Dua et al. (2013) reported that the steroidal alkaloid conessine isolated from the bark of *Holarrhena antidysenterica* exhibited substantial anti-malarial activity with slight cytotoxic nature.

Likewise, alkaloids can be used for antiparasitic activity in the control of *Trichomonas vaginalis*, a flagellate protozoan which infects the human urogenital tract and causes vaginitis in women and urethritis in men, the most common non-viral sexually transmitted disease (He et al., 2015). In relation to this, the reports agree on the potential of lycorine alkaloid and its chemical derivatives as anti-protozoal (Vieira et al., 2011; Giordani et al., 2011).

Furthermore, antiviral activities of alkaloids have been described. For example, Özçelik et al. (2011) evaluated the antiviral activity of commercial alkaloids. Atropine, a tropane-type alkaloid showed potent antiviral effect on Herpes Simplex Virus (HSV) and parainfluenza type 3 virus (PI-3). Moreover, Farnsworth et al. (1968) evaluated 36 alkaloids isolated from *Catharanthus roseus* and *Catharanthus lanceus* for their antiviral activity. Nine of these alkaloids were classified with effective antiviral against vaccinia and polio type III viruses, with pericalline being the most effective. Evaluation of lycorine, pseudolycorine and pretazettine exhibited *in vitro* activity against the flaviviruses, such as Japanese encephalitis,

yellow fever, and dengue viruses (Gabrielsen et al., 1992). Another important biological property of alkaloids is their antibacterial activity, where it is possible to find literature that supports the broad spectrum of microorganisms Gram positive and Gram negative, on which different type of alkaloids present bacteriostatic and/or bactericidal activity (Karou et al., 2005; Zuo et al., 2011; Cheesman et al., 2012). As it has been demonstrated, alkaloids seem to play a significant role in human diseases showing their potential as natural drugs. Recently, optimization of bioactive alkaloids seems to be performed using QSAR, resulting in new more potent compounds. For instance, Akula et al. (2006) described that three-dimensional quantitative structure–activity relationship (3D-QSAR) studies by molecular docking and comparative molecular field analysis (CoMFA) may serve as a useful tool to gain insight into the mechanism of inhibition and to predict the inhibitory properties of newly designed compounds. QSAR development provides a powerful tool to correlate the

biological activities of compounds to their structural or physicochemical parameters and extends the correlated parameters for the prediction of new active ligands (Viswanadhan et al., 1989). CoMFA, needs the studied molecules to be aligned in the 3D space. In conventional CoMFA studies, as in the first study by Cramer et al. (1988), the molecules are fitted to a reference molecule. This reference molecule should be the most rigid of the active molecules. In this case, the molecule is always in its “biologically active” conformation. However, when active molecules are flexible, finding an appropriate alignment becomes a complicated task with high probability of a misleading result. Another example is the study performed by Gupta and Mohan (2011), where a good quality of CoMFA model would suggest the validity of proposed models of inhibitor-enzyme interactions obtained by the automated docking procedure. The applications of QSAR methods for alkaloid discovery are summarized in Table 1.

Table 1.

Compounds	Software	Crystal structure (PDB code)	Resolution (Å)	Post-docking approach	Validation	Reference
Euchrestifoline*	FRED 2.1	1ACL	2.80	Further, 3D-QSAR	Enzymatic bioassay	(Rehman et al., 2013)
Buxamine –B*	FlexX	1ACL	2.80	LIGPLOT and WebLab ViewerPro	Enzymatic bioassay	(Khalid et al., 2005)
Buxamine –C*				3D-QSAR, CoMFA	No	(Bernard et al., 1999)
82 <i>N</i> -benzylpiperidine derivatives		1ACE; 1AMH	2.50; 2.50			
Hybrid tacrine-donepezil	GOLD 2.1.1	1EVE	2.50	ADMTE	No	(da Silva et al., 2006)
Corydaline*	GOLD 3.0.1	1EVE	2.50		No	(Dan et al., 2007)
Hypol A	GOLD	1EVE	2.50		Fischer's randomization test	(Gupta and Mohan, 2014)
Hypol B						
1-nitro-2-phenylethane	Molegro Virtual Docker (MVD)	1C2B	4.50	Gaussian 03	Biautogram	(Silva et al., 2014)
oliveroline*, noroliveroline*, liridonine*, isooncodine*, polyfothine*, darienine*	CHIMERA	1B41	2.76		No	(Naaz et al., 2013)
pleiocarpine*, kopsinine*, pleiocarpanine*	CHIMERA	1B41	2.76		No	(Naaz et al., 2013)
ebumamine*, ebumamonine*, ebumamenine*, geissoschizol*	CHIMERA	1B41	2.76	Further ADME and 3D-QSAR	No	(Naaz et al., 2013)
	FRED, Glide and GOLD	1J06	2.35	ASP and GoldScore and FRED Chemgauss 2, Chemgauss 3, Chemscore, OE Chemscore, PLP, Screenscore, Shapegauss.	Colorimetric Ellman assay	(Berg et al., 2011)
Selection of compound from Chem Score	GOLD	1EVE; 1B41	2.50 2.76	CoMFA	No	(Guo et al., 2004)
Steroidal Alkaloid*	AUTODOCK 2.4	1ACL	2.80		No	(Zaheer-Ul-Haq et al., 2003)
Bis-tacrina structures	FlexX and FlexiDock	1Q84	2.45	3D-QSAR	No	(Akula et al., 2006)
<i>N</i> -Aryl derivates	AutoDock (3.0.5)	1B41	2.76		Kinetic assays	(Correa-Basurto et al., 2007)
Tacrine-hybrids	CDOCKER	2CKM	2.15	MM/PBSA	Ellman assay	(Chen et al., 2012)
Xanthstigmimine derivatives	FlexX	1EVE	2.50	3D-QSAR	No	(Gupta and Mohan, 2011)
Tacrine-hybrids	GOLD v 5.2	4EY7; 2CMF	2.35 2.50		Ellman assay	(Jin et al., 2014)
Salicylanilide alkylcarbamates	<i>N</i> - GOLD v 5.0	2WHQ	2.15		Ellman assay	(Imramovsky et al., 2012)

*Alkaloid compounds identified from plants

Summary of the most used protein-ligand complexes for AChEi discovery.

3) ALKALOIDS AND THEIR POTENTIAL AS NATURAL AChEi DRUGS.

The AD is the most common cause of dementia in our ageing society. Although recent evidence suggests that AD is a heterogeneous disorder comprising several different phenotypic and genotypic expressions, it is characterized by an insidious decline in cognitive and non-cognitive function. Traditionally, short and long-term memory is impaired, while language skills, concentration and attention are often affected (McGleenon et al., 1999). An important approach to treat AD involves the inhibition of the AChE enzyme, which has proven to be the most viable therapeutic target for symptomatic improvement in AD because cholinergic deficit is a consistent and early finding in this disease (Mehta et al., 2012).

Alkaloids have been studied as AChEi with more than 35 alkaloids reported so far. However, a few of them have entered therapeutic use (Mukherjee et al., 2007). Different classes of compounds have been considered, namely indole derivatives (such as physostigmine and related compounds), isoquinoline and related derivatives (such as galantamine and lycorine-type alkaloids), steroid and terpenoid alkaloids, and many other derivatives that present significant inhibitory effects on AChE (Mukherjee et al., 2007).

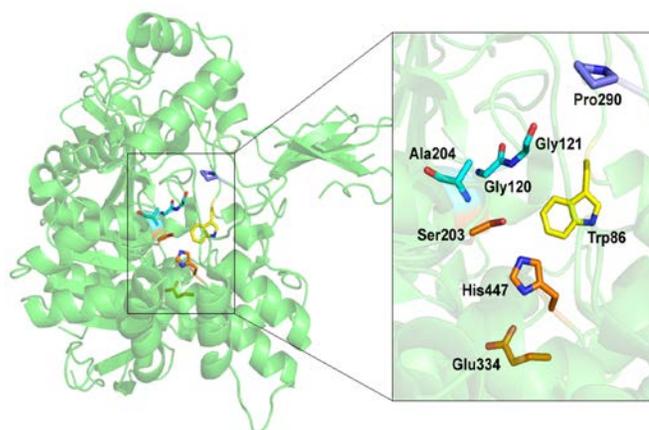
Galantamine is a natural plant alkaloid (Ma and Gang, 2008), produced by *Galanthus nivalis* L. and related plants (Amaryllidaceae family) (Lilienfeld, 2002). Huperzine A, is a potent but reversible inhibitor of AChE used in China for treating patients with AD. The source of huperzine A is *Huperzia serrata*, a moss that has been used for treating contusions, strains, hematuria and swelling in Chinese folk medicine (Mukherjee et al., 2007). Furthermore, Montanine (Ortiz et al., 2012) as well as 11 β -hydroxygalanthamine, (de Andrade et al., 2011), orydaline and corydine (Adersen et al., 2007) and stephanine, cyclanoline and N-methyl stepholidine (Ingkaninan et al., 2006) showed significant acetylcholinesterase inhibitory activity in a dose-dependent way.

4) ACETYLCHOLINESTERASE: 3D STRUCTURE AND ITS ROLE AS TARGET.

Acetylcholinesterase is known for carrying out a rapid hydrolysis of the neurotransmitter acetylcholine (ACh) at cholinergic synapses (Zaheer-ul-Haq et al., 2010; Hai et al., 2013) (Dvir et al., 2010). Availability of AChE crystal structures from several species with and without ligands provides a solid basis for structure-based design of novel AChE inhibitors (Guo et al., 2004). One main feature that must be known for drug discovery using AChE is its active site. This active site, widely called "binding site or pocket"

for proteins, is mainly composed by five subsites: (1) esteric (ES), (2) anionic (AS), (3) oxyanion hole (AH), (4) acyl pocket (AP) and (5) peripheral anionic subsites (PAS) (da Silva et al., 2006). Thus, the entire active site is buried near the bottom of a deep and narrow gorge that penetrates half way into the enzyme and widens out close to its base. This gorge is named as the "aromatic gorge" since it is lined by 14 conserved aromatic amino acids (Khalid et al., 2005). It has been reported that this area contains a catalytic triad (ES), composed by Ser203, Glu334 and His447 (human AChE, PDB code: 1B41) (Guo et al., 2004) responsible for hydrolyzing the ester bond in ACh and oxyanion hole forming residues (Gly118, Gly119, and Ala204) (Harel et al., 1995) (Figure 1).

Figure 1.



Super-imposed crystal structures of huAChE (PDB: 1B41) (green). Right scheme shows the super-imposed active site.

The anionic subsite (Trp86), also known as quaternary ammonium-binding site, is responsible for binding the quaternary trimethyl ammonium tail group of ACh by cation–electrostatic interaction (Harel et al., 1993). The active site of AChE is characterized by having a highly negative electrostatic potential, which is the binding site for the quaternary nitrogen of their substrates and some ligands (Dvir et al., 2010). It has been proposed that to be recognized by the active site of AChE, the ligands should have nitrogen atoms, which could carry a positive partial charge generated by resonance effects through an aromatic system (Correa-Basurto et al. 2007). For instance, computational studies on the alkaloid eucrestifoline (Ecf) exhibited considerable inhibitory activity with half maximal inhibitory concentration (IC₅₀: 93.1 μ M) against AChE, according to Rehman et al. (2013). Their results showed favorable molecular interactions between aromatic rings of Ecf with His440, Phe330, Gly441 and Ile444, and

interactions of heterocyclic oxygen atoms of Ecf with the residue Ser122 of AChE through hydrogen bonds at a distance of 3.49Å. Interestingly, the carbonyl oxygen of Ecf was found to be involved in holding the molecular contact with Tyr121 of PAS in AChE via dipole-dipole electrostatic interactions. Involvement of PAS subsite of AChE in macromolecular complex of inhibitor and enzyme seems to be an additional factor behind considerable inhibitory activity of the compound. Likewise, PAS subsite seems to be involved in favorable molecular contacts between Ecf and AChE. Moreover, for Trp84 residue, it has been reported a parallel conformation to the aromatic frame of Ecf, which ultimately leads to favorable π - π stacking effects with the inhibitor showing favorable hydrophobic interactions. The aromatic rings of Ecf were found to be favorably surrounded by His440, Phe330, Gly441 and Ile444, providing support to the macromolecular complex. Overall, compounds with instantaneous and good binding interactions with PAS subsite provided a major clue behind their significant AChE inhibitory activity.

3.1) Molecular docking for alkaloids and its application for natural drug discovery as AChEi.

Currently, it has been proposed that the prediction of protein-ligand interaction could be useful to screen thousands of candidate molecules. Thus, *in silico* approaches could be able to generate suitable conformations of a ligand within a protein-binding site and demand energetic evaluations for the quality of the interaction (Danuello et al., 2012). Taking into account the disadvantages from experimental procedures, *in silico* methods have arisen as a cheaper, faster and safety way to identify potential bioactive drugs. Thus, molecular docking simulations can be used. This method can give information about how to optimize the structure of the target and account for flexibility; how to proceed for the refinement of docked complexes to calculate binding free energies, to provide an accurate ranking of the potential ligands; and in the latest developments, to find the binding site (Alonso et al., 2006).

The development of new technologies has produced not only a general improvement in health from the discovery and manufacture of new and more effective drugs, but also has contributed to the advance of science itself, impelling the development of complex and more accurate tools and techniques for the discovery of new active compounds along with the understanding of their targets (Vyas et al., 2008). When the structure of the target protein is known, drug discovery process follows a well-established procedure. Usually, docking techniques are designed to find the correct conformation of a ligand into its receptor (Khalid et al., 2005). The process of binding a small molecule to its protein target is not simple; several

entropic and enthalpic factors influence the interactions between them (Correa-Basurto et al., 2007; Gupta and Mohan, 2014). The mobility of both ligand and receptor, the effect of the protein environment on the charge distribution over the ligand and their interactions with the surrounding water molecules, complicates the quantitative description of the process (Silva et al., 2014). For example, Zaheer-ul-Haq et al. (2010), highlighted that the presence of water molecules played an important role in the accuracy of ligand-protein docking predictions. Water molecules can be involved in protein ligand recognition either by forming mediating hydrogen bonds between the protein and the ligand or by being displaced by the ligand; both mechanisms have been shown to be important for drug discovery. For example, an inhibitory activity of the compound tacrine against the AChE revealed that its binding mode was found to sandwich between the rings of Phe330 and Trp84 and its aromatic phenyl and pyridine rings showing parallel π - π bond interaction with the phenyl ring of Phe330 forming average distances of 3.4 and 3.6 Å (Badran et al., 2010), respectively. Likewise, Kapkova et al. (2003) performed docking experiment to explore the binding affinity of several synthetic bispiridinium type-ligands with the homology model of AChE enzyme. They observed many interactions like π - π stacking and cation- π contacts with amino acid residues of the anionic substrate binding site (Trp84, Phe331, and Tyr334) and the peripheral anionic binding site (Trp279). Likewise, docking analysis with two alkaloids, (+)-buxabenzamidiene and (+)-buxamidine isolated from *Buxus sempervirens*, also showed good interactions with the active site of human AChE including several hydrophobic interactions (Orhan et al., 2011). The idea behind this technique is to generate a comprehensive set of conformations of the protein-ligand complex, and then, to rank them according to their stability and energy. In this sense, the most popular docking software includes FRED 2.1 (Rehman et al., 2013); AutoDock4.2 (Zaheer-Ul-Haq et al., 2003), CDOCK (Kuntz et al., 1982) and FlexX (Gupta and Mohan 2011). Considering that the 3D structure of both ligand and protein are necessary for the application of docking techniques, the 3D structure of several AChE has been solved experimentally by both X-ray diffraction and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) of proteins. This last allowing to build homology models of AChE from very specific species. The above provides the essential part for drug discovery and design (Rudnitskaya, 2010). Recently, a number of potential candidates have been tested for the development of drugs against AD, which have been also studied using molecular docking and reported targeting AChE (Khalid et al., 2005; Alonso et al., 2006; Danuello et al., 2012). For example, binding and potential inhibitory activity of several alkaloids have been analysed by Naaz et al. (2013). Their results showed pleiocarpine as the best ligand in term of its low binding energy (-12.50 kcal/mol) and *in silico* K_i associated

(6.90×10^{-4} μM). Binding energies, such as -11.12 (kcal/mol), -10.84(kcal/mol), -10.77 (kcal/mol), -10.61(kcal/mol), -10.48(kcal/mol), -10.35(kcal/mol), -10.35 (kcal/mol), -8.56 (kcal/mol), -9.36 (kcal/mol), -7.10(kcal/mol), -8.37(kcal/mol) and -6.57(kcal/mol) were obtained for the rest of alkaloids.

Although many comparative molecular docking studies have been reported for AChE (Vigers et al., 2004;Xie et al., 2006), the reported findings were devoid of the comments regarding conserved water molecules in the active site of AChE, which can mediate the interaction between amino acid side chains and inhibitors (Zaheer-ul-Haq et al., 2010). Success and failures of molecular docking are probably based on the conformations of Phe330, which was reported to be involved in the recognition of ligands (Dan et al., 2007).

For AChE, there are three orientations of the Phe330 side chain, i.e., open, half open and close gate. The TcAChE-E2020 complex (1EVE) with the open-gate conformation, TcAChE-THA (1ACJ) with closed conformation and TcAChE-TMTFA (1AMN) with the half-open conformation was used separately to determine the importance of side-chain flexibility of Phe330 for ligand traffic (Zaheer-ul-Haq et al., 2010). These methods can be combined to identify a number of new hit compounds with potent inhibitory activity and to understand the main interactions at the binding sites. It is believed that the current use of molecular docking and consensus scoring functions could readily minimize false positive and false negative errors encountered by ligand-based (pharmacophore) virtual screening (Lu et al., 2011). In this sense, Akula et al. (2006) described that the steric contour of compound situated near the peripheral binding site (nitrogen) suggests an addition of bulky groups in this region will cause a reduction in activity. Studies carried out for Khalid et al. (2005) described the importance of amino groups on the inhibitory activities of triterpenoidal alkaloid compounds. Instead, theoretical studies of Correa-Basurto et al. (2007) showed that several functional groups modify the electronic density on the aromatic ring and the nitrogen atom, which might change the affinity between the ligands and the enzymes. In conclusion, although all compounds are able to bind the active side of the gorge, not all of them are able to interact with all the important residues (Lu et al., 2011). Ligand size, electron density, hydrogen bonding and orientations of the Phe330 may be the reason for some of the inhibitory activities. Thus, it seems that the complement between drug discovery and molecular docking can provide new putative drugs, which is corroborated by 26 studies performed on AChE enzymes using the *in silico* approach. Less research has been carried out on alkaloid discovery, where 9 studies can be highlighted. More detailed information has been summarized in Table 1.

Virtual screening has become an important tool for for chemical optimization in drug discovery programs (Dasgupta et al., 2009; Klebe, 2006). When a target of high resolution is available, the most common methodology of virtual screening involves the use of docking algorithms in which conformational sampling methods are used to insert the ligand into the active site of the target macromolecule (Zaheer-ul-Haq et al., 2010). There are two main types of virtual screening: (1) ligand-based and (2) receptor-based. Ligand-based methods are based on finding new ligands similar to existing high affinity ones. On the other hand, receptor-based methods are trying to find molecules that are capable to bind in a receptor binding site (Marsh, 2011). These methods have shown the potential to find completely novel ligands (Katritch et al., 2010; Lu et al., 2011). However, their success has been dependent on the ability to accurately classify virtual ligands (molecules based on AChE inhibition collected from the ChemBank data base (Seniya et al., 2014) and/or National Cancer Institute (NCI) chemical database (Lu et al., 2011), considering whether they have the potential to bind tightly to a binding site or not. It is worth mentioning, that the complexity of the docking problem increases with the size of the ligand and its number of rotatable bonds (Klebe, 2006). The rotations around bonds lead to deviations from ideal geometry that results in a small energy penalty when compared to deviations from ideality in bond lengths and bond angles (Zaheer-ul-Haq et al., 2010). Likewise, the presence of water molecules plays an important role in the accuracy of ligand-protein docking predictions as it was mentioned before. Both of these mechanisms have been shown to be important for drug discovery (Ladbury, 1996; Graaf et al., 2006). For example, the analysis of several thousand crystal structures of ligand–protein complexes using the waterbase module in Relibase (Hendlich et al., 2003) revealed that, in about two-thirds of all cases, a water molecule is involved in ligand binding, frequently mediating contacts between protein and ligand.

Preliminary studies using virtual screening, resulted in discouraging findings, where no consistency was shown between *in silico* and experimental assays. Thus, Kellenberger et al. (2004) described that failures are often due to insufficient conformational sampling for highly flexible ligands, which means that the ligand could not take all the available conformations and subsequently, the most favourable energies. Nowadays, virtual screening has shown its potential as strong screening method. For example, Carlsson et al. (2011) reported the use of virtual screening of 1.5 million molecules using the D3 receptor as target. Despite authors used both crystal and homology model structures, they could reduce the number of candidates to only 26 molecules. Subsequently, a compound (eticloprida derived) was found to bind strongly to the receptor, which was further optimized to bind even stronger.

As it was listed for molecular docking, virtual screening in AChEi discovery (Dan et al., 2007; Chen et al., 2012) currently uses AutoDock3.0.5 (Goodsell, 1996), FlexX1.10 (Böhm, 1998), MOE2006.08 (Ding et al 1995), GOLD3.2 (Jones et al., 1997) and FRED2.2.3 (McGann et al., 2003) as docking software.

5) FUTURE PERSPECTIVES

The development of new drugs is undoubtedly one of the most challenging tasks of today's science. Alkaloids have been shown to be potent source of new drugs. Thus, molecular docking methods have proved to be helpful in understanding the interaction between the AChE with various drug/lead molecules. Considering that, the accurate prediction of protein-ligand interaction suggests how useful can be for the success of the screening approaches employed during structure-based drug discovery. For this approach in silico tools are required, which are able to generate suitable conformations of a ligand within a protein-binding site and demands energetic evaluations for the quality determination of the interaction (Danuello et al., 2012). Taking into account the disadvantages derived from experimental procedures, these in silico methods have arisen as a cheaper, faster and safe way to identify potential bioactive drugs. Thus, molecular docking simulations can be used, which can give information about how to optimize the flexibility of structure target; how to proceed for the refinement of docked complexes, to include solvent effects; to calculate binding free energies, to provide an accurate ranking of the potential ligands; and find the binding site (Alonso et al. 2006).

REFERENCES:

- Adersen, A., Kjølbjerg, A., Dall, O. and Jäger, A.K. 2007. "Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Inhibitory Compounds from *Corydalis Cava Schweigg. & Kort.*" *Journal of Ethnopharmacology* 113: 179–82. doi:10.1016/j.jep.2007.05.006.
- Akrami, H., Mirjalili, B.F., Khoobi, M., Nadri, H., Moradi, A., Sakhteman, A., Emami, A., Foroumadi, A. and Shafiee, A. 2014. "Indolinone-Based Acetylcholinesterase Inhibitors: Synthesis, Biological Activity and Molecular Modeling." *European Journal of Medicinal Chemistry* 84: 375–81. doi:10.1016/j.ejmech.2014.01.017.
- Akula, N., Lecanu, L., Greeson, J., and Papadopoulos, V. 2006. "3D QSAR Studies of AChE Inhibitors Based on Molecular Docking Scores and CoMFA." *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 16: 6277–80.
- Alonso, H., Bliznyuk, A.A. and Gready, J.E. 2006. "Combining Docking and Molecular Dynamic Simulations in Drug Design." *Medicinal Research Reviews*. med.20067.
- Auld, D.S., Kornecook, T.J., Bastianetto, S. and Quirion, R. 2002. "Alzheimer's Disease and the Basal Forebrain Cholinergic System: Relations to Beta-Amyloid Peptides, Cognition, and Treatment Strategies" 68: 209–45.
- Badran, M.M., Hakeem, M.A., Abuel-Maaty S.M. 2010. Design, Synthesis, and molecular- modeling study of aminothienopyridine analogues of tacrine for Alzheimer's disease. *Arch Pharm*; 343:590-601
- Berg, L., Andersson, C.D., Artursson, E., Hörnberg, A., Tunemalm, A.K., Linusson, A. and Ekström, F. 2011. "Targeting Acetylcholinesterase: Identification of Chemical Leads by High Throughput Screening, Structure Determination and Molecular Modeling." *PLoS ONE*.
- Bernard, P., Kireev, D.B., Chrétien, J.R., Fortier, P.R. and Copet, L. 1999. "Automated Docking of 82 N-Benzylpiperidine Derivatives to Mouse Acetylcholinesterase and Comparative Molecular Field Analysis with 'Natural' Alignment." *Journal of Computer-Aided Molecular Design* 13: 355–71.
- Blenlow, K., de Leon, M. J., and Zetter-berg, H. 2006. Alzheimer's disease. *Lancet* 368, 387–403.
- Böhm, H.J. 1998. Prediction of binding constants of protein ligands: a fast method for the prioritization of hits obtained from de novo design or 3D database search programs, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* 12, 309–323.
- Carlsson, J. Coleman, R.J., Setola, V., Irwin, J.J., Hao Fan, Avner Schlessinger, Andrej Sali, Bryan L. Roth, and Brian K. Shoichet. 2011. Ligand Discovery from a Dopamine D3 Receptor Homology Model and Crystal Structure. *Nat Chem Biol.* Sep 18; 7(11): 769–778.
- Cramer, R.D., Patterson, D.E., Bunce, J.D. 1988. Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. *J. Am. Chem. Soc.*, 110 (18), pp 5959–5967
- Cheesman, L., Nair, J.J. and Van Staden, J. 2012. "Antibacterial Activity of Crinine Alkaloids from *Boophone disticha* (Amaryllidaceae)." *Journal of Ethnopharmacology* 140 (2). Elsevier Ireland Ltd: 405–8.
- Chen, Y., Fang, L., Peng, S., Liao, H., Lehmann J. and Zhang, Y. 2012. "Discovery of a Novel Acetylcholinesterase Inhibitor by Structure-Based Virtual Screening Techniques." *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 22 (9). Elsevier Ltd: 3181–87.
- Chierrito, T.P.C., Aguiar, A.C.C., de Andrade, I.M., Ceravolo, I.P., Gonçalves, R.A.C., de Oliveira, A.J.B and Krettli, A.U. 2014. Antimalarial activity of indole alkaloids isolated from *Aspidosperma olivaceum*. *Malaria Journal*. 2014; 13: 142.
- Correa-Basurto, J., Flores-Sandoval, C., Marín-Cruz, J., Rojo-Domínguez, A., Espinoza-Fonseca L.M. and Trujillo-Ferrara, J.G. 2007. "Docking and Quantum Mechanic Studies on Cholinesterases and Their Inhibitors." *European Journal of Medicinal Chemistry* 42: 10–19.
- Cragg, G.M and Newman, D.J. 2005. Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology* 100, 72-73.
- da Silva, C.H. T. P., Campo, V.L., Carvalho, I. and Taft, C. 2006. "Molecular Modeling, Docking and ADMET Studies Applied to the Design of a Novel Hybrid for Treatment of Alzheimer's Disease." *Journal of Molecular Graphics & Modelling* 25: 169–75.
- Dan, C., Ya-fei, P., Chuan-jun, L., Yun-feng, X and Yu-ren, J. 2007. "Virtual Screening of Acetylcholinesterase Inhibitors."
- Danuello, A., Romero, N.C., Giesel, G.M., Pivatto, M., Viegas, C., Verli, H., Barreiro, E.J., Fraga, C.A.M., Castro, N.G. and Bolzani, V.S. 2012. "Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies of Semi-Synthetic Piperidine Alkaloids as Acetylcholinesterase Inhibitors." *Journal of the Brazilian Chemical Society* 23: 163–70.
- Dasgupta, P. Rizwani, W., Pillai, S. Kinkade, Kovacs, M., Rastogi, S. Banerjee, Melanie Carless, M., Kim, E., Coppola, D., Haura, E., and Chellappan. 2009. "Nicotine induces cell proliferation, invasion and epithelial-mesenchymal transition in a variety of human cancer cell lines". *Int J Cancer*. 124(1): 36–45.

- de Andrade, J. P., Berkov, S., Viladomat, F., Codina, C., Zuanazzi, J.A.S. and Bastida, J. 2011. "Alkaloids from *Hippeastrum Papilio*." *Molecules* 16: 7097–7104.
- Ding, J., Das, K., Moereels, H., Koymans, L., Andries, K., Janssen, P.A.J., Hughes, S.H., Arnold, E. Structure of HIV-1 RT/TIBO R 86183 complex reveals similarity in the binding of diverse nonnucleoside inhibitors, *Nat. Struct. Biol.* 2 (1995) 407–415
- Dua, V.K., Verma, G., Singh, B., Rajan, A., Bagai, U., Agarwal, D.D., Gupta, N.C., Kumar, S., and Rastogi, A. 2013. Anti-malarial property of steroidal alkaloid conessine isolated from the bark of *Holarrhena antidysenterica*. *Malaria Journal*, 12:194
- Dvir, H., Silman, I., Harel, M., Rosenberry, and Joel L. Sussman. 2010. "Acetylcholinesterase: From 3D Structure to Function." *Chemico-Biological Interactions* 187 (1-3). Elsevier Ireland Ltd: 10–22.
- Elgorashi, E. E., and Van Staden, J. 2004. "Pharmacological Screening of Six Amaryllidaceae Species." *Journal of Ethnopharmacology* 90: 27–32.
- Elgorashi, E.E., Malan, S.F., Stafford, G.I. and van Staden, J. 2006. "Quantitative Structure–activity Relationship Studies on Acetylcholinesterase Enzyme Inhibitory Effects of Amaryllidaceae Alkaloids." *South African Journal of Botany* 72: 224–31.
- Evidente, A., and Kornienko, A. 2009. "Anticancer Evaluation of Structurally Diverse Amaryllidaceae Alkaloids and Their Synthetic Derivatives." *Phytochemistry Reviews* 8: 449–59.
- Fang, J., Wu, P., Yang, R., Gao, L., Li, C., Wang, D., Wu, S., Liu, A.L. and Du, G.H. 2014. "Inhibition of Acetylcholinesterase by Two Genistein Derivatives: Kinetic Analysis, Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulation." *Acta Pharmaceutica Sinica B* 4 (6). Elsevier: 430–37.
- Farnsworth, N.R., Svoboda G.H., Blomster, R.N. 1968. Antiviral activity of selected *Catharanthus* alkaloids. *J Pharm Sci* 57: 2174–2175
- Ferris, S. H., and Farlow, M. 2013. "Language Impairment in Alzheimer's Disease and Benefits of Acetylcholinesterase Inhibitors." *Clinical Interventions in Aging*.
- Frederich, M., Tits, M., Angenot, L. 2008. Potential antimalarial activity of indole alkaloids *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 102, 11–19.
- Gabrielsen, B.T.P., Huggins, J.W., Kefauver, D.F., Pettit, G.R., Groszek, G., Hollingshead, M., Kirsi, J.J., Shannon, W.M. and Schubert, E.M. 1992. "Antiviral (RNA) Activity of Selected Amaryllidaceae Isoquinoline Constituents and Synthesis of Related Substances." *Journal of Natural Products* 55 (11): 1569–81.
- Graaf, C.D., Oostenbrink, C. Keizers. P.H.J., Wijst, T, Jongejan, A. Vermeulen, N.P.E. 2006. Catalytic site prediction and virtual screening of cytochrome P450 2D6 sub- strates by consideration of water and rescoring in automated docking, *J. Med. Chem.* 49, 2417–2430
- Geromichalos, G. D., Lamari, F.N., Papandreou, M.A, Trafalis, D.T., Marigoula Margarity, Papageorgiou, A., and Sinakos, Z. 2012. "Saffron as a Source of Novel Acetylcholinesterase Inhibitors: Molecular Docking and in Vitro Enzymatic Studies." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 6131–38.
- Giordani, R.B., Vieira, P.B., Weizenmann, M., Rosember, D.B., Souza, A.P., Bonorino, C., de Carli, G.A., Bogo, M.R., Zuanazzi, J.A.S., Tasca, T. 2011. Lycorine induces cell death in the mitochondriate parasite, *Trichomonas vaginalis*, via an alternative non-apoptotic death pathway. *Phytochemistry* 72: 645-50
- Goodsell, D.S., Morris, G.M., Olson, A.J. 1996. Automated docking of flexible ligands: applications of AutoDock, *J. Mol. Recog.* 9, 1–5
- Guo, J, Hurley, M.M, Wright, J.B., and Lushington, G.H. 2004. "A Docking Score Function for Estimating Ligand-Protein Interactions: Application to Acetylcholinesterase Inhibition." *Journal of Medicinal Chemistry* 47: 5492–5500.
- Gupta, S., and Mohan, C.G. 2011. "3D-Pharmacophore Model Based Virtual Screening to Identify Dual-Binding Site and Selective Acetylcholinesterase Inhibitors." *Medicinal Chemistry Research* 20: 1422–30.
- Gupta, S. and Mohan, G.. 2014. "Dual Binding Site and Selective Acetylcholinesterase Inhibitors Derived from Integrated Pharmacophore Models and Sequential Virtual Screening." *BioMed Research International* 2014.
- Hai, A., Kizilbash, N.A., Zaidi, S.H., and Alruwaili, J. 2013. "Porphyrin Derivatives as Inhibitors for Acetylcholinesterase from *Drosophila Melanogaster*" 9 (12).
- Harel, M.; Schalk, I.; Ehret-Sabatier, L.; Bouet, F.; Goeldner, M.; Hirth, C.; Axelsen, P. H.; Silman, I.; Sussman, J. L. Quaternary ligand binding to aromatic residues in the active- site gorge of acetylcholinesterase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1993, 90, 9031-9035
- Harel M, Kleywegt GJ, Ravelli RB, Silman I, and Sussman JL. 1995. Crystal structure of an acetylcholinesterase-fasciculin complex: interaction of a threefingered toxin from snake venom with its target. *Structure* 3:1355–1366.
- Hasan, A.A., and Mohammad, M.A. 2013. "Molecular Docking Studies of Ginkgo Biloba against Acetylcholinesterase Enzyme" 21 (2): 321–24.
- He, M., Qu, C., Gao, O., Hu, X., and Hong, X. 2015. "Biological and Pharmacological Activities of Amaryllidaceae Alkaloids." *RSC Adv.* 5. Royal Society of Chemistry: 16562–74.
- Hendlich, M., Bergner, A., Gunther, J. and Klebe, G. 2003. Relibase: design and development of a database for comprehensive analysis of protein–ligand interactions. *J. Mol. Biol.*, 326, 607–620.
- Iwasa, K., Cui, W., Sugiura, M., Takeuchi, A., Moriyasu, M., and Takeda, K. 2005. Structural Analyses of Metabolites of Phenolic 1-Benzyltetrahydroisoquinolines in Plant Cell Cultures by LC/NMR, LC/MS, and LC/CD. *J. Nat. Prod.*, 68 (7): 992–1000
- Imramovsky, A., Stepankova, S., Vanco, J., Pauk, K., Monreal-Ferriz, J., Vinsova, J., and Jampilek, J. 2012. "Acetylcholinesterase-Inhibiting Activity of Salicylanilide N-Alkylcarbamates and Their Molecular Docking." *Molecules* 17: 10142–58.
- Ingkaninan, K., Phengpa, P., Yuenyongsawad, S., and Khorana, N. 2006. "Acetylcholinesterase Inhibitors from *Stephania Venosa* Tuber." *The Journal of Pharmacy and Pharmacology* 58: 695–700.
- Ingrassia, L, Lefranck, L, Mathieu, V, Darro, F and Kiss, R. 2008. Amaryllidaceae Isocarboxystiril Alkaloids and Their Derivatives as Promising Antitumor Agents. *Transl Oncol.* 2008 Mar; 1(1): 1–13.
- Jin, Z. 2011. "Amaryllidaceae and Scelletium Alkaloids." *Natural Product Reports* 28 (00): 1126–42.
- Jin, H. 2014. "Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Inhibitory Properties of Functionalized Tetrahydroacridines and Related Analogs." *Medicinal Chemistry* 4 (10): 688–96.
- Jiang, J., and Hu, C. "Evodiamine: a novel anti-cancer alkaloid from *evodia rutaecarpa*," *Molecules*, vol. 14, no. 5, pp. 1852– 1859, 2009.
- Jones, G., Willett P., Glen, R.C., Leach A.R., Taylor R. 1997. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking, *J. Mol. Biol.* 267 ; 727–748.
- Kapkova, P, Stiefl, N, Sürig, U. 2003. Synthesis, biological activity, and docking studies of new acetylcholinesterase inhibitors of the bispyridinium type. *Arch Pharm*; 336:523-540.
- Karou, D., Savadogo, A., Canini, A., Yameogo, S., Montesano, C., Simpore, J., Colizzi, V., and Traore A.S. 2005. Antibacterial activity of alkaloids

- from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology* Vol. 4 (12), pp. 1452-1457.
- Katritch V, Jaakola VP, Lane JR, Lin J, Ijzerman AP. 2010. Structure- based discovery of novel chemotypes for adenosine A (2A) receptor antagonists. *J Med Chem* 53: 1799–1809.
- Kellenberger, E.,Rodrigo, J., Muller, P. and Rognan, D. 2004. "Comparative Evaluation of Eight Docking Tools for Docking and Virtual Screening Accuracy." *Proteins: Structure, Function and Genetics* 57 (August): 225–42.
- Khalid, A., Azim, M.K., Shehnaz Parveen, Rahman, U., and Choudhary, M. 2005. "Structural Basis of Acetylcholinesterase Inhibition by Triterpenoidal Alkaloids." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 331: 1528–32.
- Klebe G. 2006. Virtual ligand screening: strategies, perspectives and limitations. *Drug Discov Today* Jul;11(13-14):580-94.
- Kuntz, I.D., Blaney, J.M., Oatley,S,J Langridge, R . Ferrin,T.E. 1982. A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. Volume 161, Issue 2, Pages 269–288.
- Ladbury, JE.1996. Just add water! The effect of water on the specificity of protein- ligand binding sites and its potential application to drug design, *Chem. Biol.* 3, 973–980
- Lilienfeld, S. 2002. "Galantamine - a Novel Cholinergic Drug with a Unique Dual Mode of Action for the Treatment of Patients with Alzheimer's Disease." *Cns Drug Reviews* 8 (2): 159–76.
- Lu, J.J., Bao,J.J., Chen, X.P., Huang, M., and Wang, Y.T. 2012. "Alkaloids Isolated from Natural Herbs as the Anticancer Agents." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Lu, S.H., Wu,J.W., Liu, H.J., Zhao, J.H. Liu, K.T., Chuang, C.K., Lin, H.Y., Tsai, W.B., and Ho, Y. 2011. "The Discovery of Potential Acetylcholinesterase Inhibitors: A Combination of Pharmacophore Modeling, Virtual Screening, and Molecular Docking Studies." *Journal of Biomedical Science* 18: 8.
- Ma, X, and Gang, D.R. 2008. "In Vitro Production of Huperzine A, a Promising Drug Candidate for Alzheimer's Disease." *Phytochemistry* 69: 2022–28.
- Marsh, L. 2011. "Prediction of Ligand Binding Using an Approach Designed to Accommodate Diversity in Protein-Ligand Interactions." *PLoS ONE* 6 (8).
- McGann, M.R., Almond, H.R., Nicholls A., Grant J.A., Brown F.K. 2003. Gaussian docking functions, *Biopolymers* 68 ; 76–90.
- Mc Gleenon, BM., Dynan, KB., and Passmore AP. 1999. "Acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease". *British Journal of Clinical Pharmacology* 48: 471- 480
- Mehta, M., Adem,A., and Sabbagh, M. 2012. "New Acetylcholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease." *International Journal of Alzheimer's Disease*.
- Mohan, K., Jeyachandran, R., and Deepa. 2012. Alkaloids as anticancer agents. *Annals of Phytomedicine* 1(1): 46-53.
- Mukherjee, P. K., Kumar, V., Mal, M., and Houghton, P.J. 2007. "Acetylcholinesterase Inhibitors from Plants." *Phytomedicine* 14: 289–300.
- Naaz, H, Singh, S., Pandey, V.P., Singh, P., and Dwivedi, U.P. 2013. "Anti-Cholinergic Alkaloids as Potential Therapeutic Agents for Alzheimer's Disease: An in Silico Approach." *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 50: 120–25.
- Onguéné, P.A., Ntie-Kang,F., Lifongo L.L., Ndom, J.C. , Sippl, W., and Meva'a Mbaze, L. 2013. The potential of anti-malarial compounds derived from African medicinal plants, part I: a pharmacological evaluation of alkaloids and terpenoids. *Amoa Ongué et al. Malaria Journal* 2013, 12:449
- Ortiz, J.E., Berkov, S., Pigni, N.B., Theoduloz, C., Roitman, G., Tapia, A., Bastida, J., and Feresin, G.E. 2012. "Wild Argentinian Amaryllidaceae, a New Renewable Source of the Acetylcholinesterase Inhibitor Galanthamine and Other Alkaloids." *Molecules* 17: 13473–82.
- Orhan IE, Orhan G, Gurkas E. 2011. An overview on natural cholinesterase inhibitors--a multi-targeted drug class--and their mass production. *Mini Rev Med Chem. Sep;11(10):836-42*
- Özçelik, B., Kartal, M., and Orhan, I. 2011. Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. *Pharmaceutical Biology*, 2011; 49(4): 396–402
- Rehman, F.U., Khan, M. Khan, I., and Roohullah. 2013. "Molecular Interactions of an Alkaloid Euchrestifoline as a New Acetylcholinesterase Inhibitor." *Bangladesh Journal of Pharmacology* 8 (2011): 361–64.
- Roberts, B.C., Mancera, R.L. Ligand-protein docking with water molecules, *J. Chem. Inf. Model.* 48 (2008) 397–408.
- Rudnitskaya, A., Török, B., and Török, M. 2010. "Molecular Docking of Enzyme Inhibitors: A COMPUTATIONAL TOOL FOR STRUCTURE-BASED DRUG DESIGN." *Biochemistry and Molecular Biology Education: A Bimonthly Publication of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology* 38 (4): 261–65.
- Şener, B., Orhan, I., and Satayavivad, J. 2003. "Antimalarial Activity Screening of Some Alkaloids and the Plant Extracts from Amaryllidaceae." *Phytotherapy Research* 17 (January): 1220–23.
- Seniya, C., Khan, G.J., and Uchadia, K. 2014. "Identification of Potential Herbal Inhibitor of Acetylcholinesterase Associated Alzheimer's Disorders Using Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulation." *Biochemistry Research International* 2014.
- Silva, N.N.S., a Silva, J., Alves, C.N., a Andrade,E.H., Da Silva, J.K.R., and Maia, J.G.S. 2014. "Acetylcholinesterase Inhibitory Activity and Molecular Docking Study of 1-Nitro-2-Phenylethane, the Main Constituent of Aniba Canelilla Essential Oil." *Chemical Biology and Drug Design* 84: 192–98.
- Van Goietsenoven, G., Andolfi,A.,Lallemand, B., Cimmino, A., Lamoral-Theys, D., Gras,T., Abou-Donia,A. 2010. "Amaryllidaceae Alkaloids Belonging to Different Structural Subgroups Display Activity against Apoptosis-Resistant Cancer Cells." *Journal of Natural Products* 73: 1223–27.
- Varadaraju, Kavitha R, Kumar, J.R., Mallesha, L., Muruli, A., Mohana, K.N.S., Mukunda, C.K., and Sharanaiah, U. 2013. "Virtual Screening and Biological Evaluation of Piperazine Derivatives as Human Acetylcholinesterase Inhibitors." *International Journal of Alzheimer's Disease* 2013.
- Vieira, P.B., Giordani, R.B., De Carli, G.A., Zuanazzi, J.A.S., Tasca, T. (2011) Screening and bioguided fractionation of Amaryllidaceae species with anti-*Trychomonas vaginalis* activity. *Planta Medica* 77: 1054-1059
- Vigers, G.P.A., Rizzi, J.P. Multiple active site corrections for docking and virtual screening, *J. Med. Chem.* 47 (2004) 80–89
- Viswanadhan,V.N. Ghose ,A.K. Revankar, G.R., Robins. R.K. 1989. Atomic physicochemical parameters for three dimensional structure directed quantitative structure-activity relationships. 4. Additional parameters for hydrophobic and dispersive interactions and their application for an automated superposition of certain naturally occurring nucleoside antibiotics. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1989, 29 (3), pp 163–172
- Vyas, V, Jain, A., Jain, A., and Gupta, A. 2008. "Virtual Screening: A Fast Tool for Drug Design." *Scientia Pharmaceutica*.

- Xie, Q., Tang, Y., Li, W., Wang, X.H., Qiu, Z.B. Investigation of the binding mode of (-)-meptazinol and bis-meptazinol derivatives on acetylcholinesterase using amolecular docking method, *J. Mol. Model.* 12 (2006) 390–397.
- Zaheer-ul-Haq, S.A., Uddin, R., and Madura, J.D. 2010. "Benchmarking Docking and Scoring Protocol for the Identification of Potential Acetylcholinesterase Inhibitors." *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 28 (8). Elsevier Inc.: 870–82.
- Zaheer-Ul-Haq, Zaheer-Ul-Haq, Wellenzohn, B., Liedl, K.R., and Rode, B.M. 2003. "Molecular Docking Studies of Natural Cholinesterase-Inhibiting Steroidal Alkaloids from *Sarcococca Saligna*." *Journal of Medicinal Chemistry* 46: 5087–90.
- Zuo, G.Y., Li, Y., Wang T., Han J., Wang G.C., Zhang Y.L. 2011. Synergistic antibacterial and antibiotic effects of bisbenzylisoquinoline alkaloids on clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *25;16(12):9819-26*

A SYNTHETIC APPROACH TOWARDS NOVEL SERIES OF 3-(3-(1-PIPERAZINYL)PROPYL)-1H-INDOLE DERIVATIVES AS MONOAMINERGIC MULTI-TARGET AGENTS. DOCKING STUDIES AND PHARMACOLOGICAL EVALUATION AT SERT, D2, AND MAO-A RECEPTORS.

Hernán Pessoa-Mahana

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Chile.

ABSTRACT

Major depression is a common, heterogeneous and often incapacitating disorder triggered by a complex pattern of genetic, epigenetic, developmental and environmental factors¹⁻⁸. Antidepressant drug discovery has been a complex task, due to incomplete understanding of neurobiological basis of depression, thus no single molecular target can be rationalized as an ultimate therapeutic strategy. Several reports have recognized the pivotal status of the serotonergic system and the antidepressant drugs, as a central dogma of depression⁹⁻¹². Although commonly used antidepressants, such as the selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) are often effective, full efficacy is only apparent after several weeks, and many patients only respond partially¹³⁻¹⁹. For these reasons, efforts in developing newer, faster and safer antidepressant agents are still ongoing.

Keywords: Molecular docking, serotonin, polypharmacology.

Rev. Farmacol. Chile (2016) 9 (2) 26-31

Received 2-10-2016; Revised 20-10-2016; Accepted 24-10-2016

1) INTRODUCTION

1.1) From highly selective agents to multitarget molecules. opportunities and challenges.

The past decade of efforts to find improved treatment for major depression was dominated by genomedriven programs of rational drug discovery directed toward highly selective ligands. Currently, numerous arguments support the contention that multitarget mechanisms may be more effective and better tolerated than their highly selective counterparts in the management of CNS disorders²⁰⁻²³. Several lines of evidence specifically substantiate interest in dual-and triple-acting antidepressants. Polypharmacology is becoming an increasingly important strategy in drug design. Pharmaceutical companies are discovering and developing agents that modulate multiple targets simultaneously, with the aim of enhancing efficacy or improving safety relative to drugs that address only single targets²⁴⁻²⁷.

2) MULTI-TARGET ANTIDEPRESSIVE LIGANDS FOR A MULTI-TARGET BRAIN.

2.1) MAO-A Inhibitors in Depression.

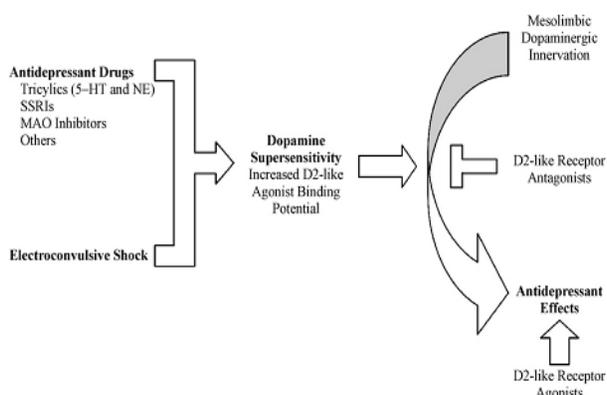
Monoamine oxidase (MAO) A and B are flavin adenine dinucleotide (FAD) containing enzymes, localized in the outer mitochondrial membrane of neuronal, glial and liver cells. These enzymes catalyze the oxidative deamination of endogenous and exogenous monoamines²⁸⁻³¹. MAO-A is selectively inhibited by clorgyline, metabolizes serotonin, noradrenaline and adrenaline preferentially, and its inhibitors are used in anxiety and depression disorders³²⁻³⁸. The combination of SSRIs and Moclobemide (a selective MAO-A inhibitor) has good efficacy in refractory depression. A series of morpholinoethyl nicotinamides reported by Zhu et al., have proved to be potent and selective inhibitors of MAO-A, with the highest MAO-A affinity (IC₅₀ = 0.045 μM) being observed for the 6-hydroxy-N-(2-morpholinoethyl) nicotinamide³⁸.

Correspondence to: Dr. Hernán Pessoa-Mahana, Department of Organic and Physical Chemistry, Faculty of Chemical and Pharmaceutical Sciences, Universidad de Chile. Address: Sergio Livingstone, 1007, Santiago, Chile. E-mail: hpessoa@ciq.uchile.cl

2.2) Dopamine-Serotonin Interactions.

Dopaminergic fibers, innervating the frontal cortex, hippocampus and basal ganglia fulfil major roles in the control of cognitive, emotional and motor functions. Indirect observations suggest that dopamine function may be altered in depressed patients, notably in bipolar disorder (dopa 11 Frances)³⁹⁻⁴⁵. Evidence for dopaminergic-system desregulation in depression is supported by: i) studies of dopamine and dopamine- metabolite levels, ii) neuroimaging studies, iii) histopathological studies and iv) neuroendocrine studies. (dopamine 4). Antidepressant drugs of different classes increase dopamine D₂/D₃ binding activity in the nucleus accumbens as well as behavioral sensitivity to dopamine agonists in rodents (Fig.1). On the other hand, the 5-HT and Dopamine systems are highly interconnected: 5-HT receptors are expressed by dopamine neurons in the midbrain and in higher areas, where the 5-HT terminals modulate dopamine release⁴⁶⁻⁵¹.

Figure 1.



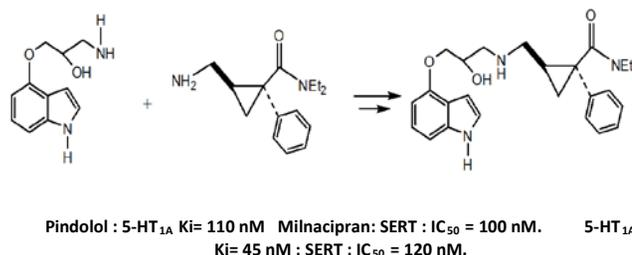
Pharmacologic model of dopamine supersensitivity in the nucleus accumbens.

3) 5-HT TRANSPORTER-BASED DESIGN OF MULTILIGANDS FOR DEPRESSION.

There has been a long standing hypothesis that depression is associated with reduced levels of 5-HT in the brain. The first generation of tricyclic antidepressants were efficacious in many patients but they exhibited cardiovascular side effects, toxicity in overdose and a delayed onset of action. Respect to the second-generation agents, the SSRIs, they have been widely prescribed, but they were no better in terms of efficacy or time of onset⁵². In an attempt to overcome these problems, SERT inhibition has been combined with activity at a secondary monoamine targets such as the GPCRs, 5-HT_{1A}, Alfa-2, NET, etc.

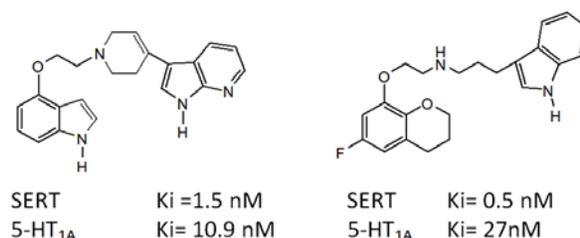
In one of the earliest paper in this area, Perez et-al⁵³, reported hybrid structures of the 5-HT_{1A} antagonist pindolol and SERT ligands as milnacipran. They connected SSRI motif to the 3-aryloxy-2-propanol framework of pindolol via a common nitrogen, yielding a compound not very potent due mainly to the low activity of the starting products (Fig. 2).

Figure 2.



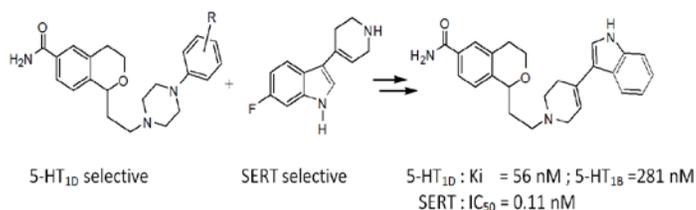
Mewshaw et-al.⁵⁴⁻⁵⁵, reported an interesting approach in this field. They started from a template which possess a robust SERT activity and added 5-HT_{1A} features (Fig. 3).

Figure 3.



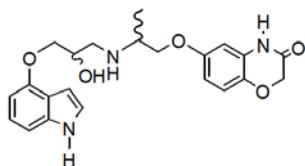
Timms et-al⁵⁶, from Eli-Lilly designed new indol derivatives as molecular templates in order to overcome the slow onset of SSRIs. They aimed for dual SERT/5-HT_{1D} blockers using the basic nitrogen to merge the frameworks (Fig. 4).

Figure 4.

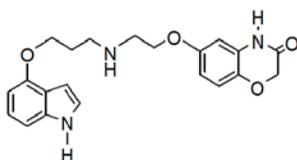


The resulting compound possessed activity at both receptors, but suffered of a lack of balance having significantly higher affinity for the SERT as well as cross-reactivity at α₁ and D₂ receptors. An interesting attempt was carried out by Johnson et al⁵⁷, a high potency for "A" was expected and observed because of the pindolol like structure. The aryloxypropanolamine moiety that could be responsible for β₂ cross-reactivity was changed and diminished in the derivatives "B" and "C" which retained 5-HT_{1A} and SERT activity (Fig.5).

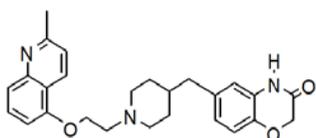
Figure 5.



A : 5-HT_{1A}: pKi = 9.1 ; SERT pKi = 7.3 ;
β₂ pKi = 9.2



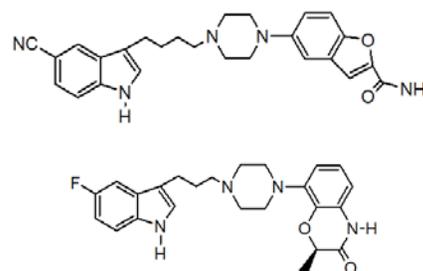
B: 5-HT_{1A}: pKi = 9.5 ; SERT pKi = 8.2 ;
β₂ pKi = < 6.3



C: 5-HT_{1A}: pKi = 8.8 ; SERT pKi = 7.1 ;
β₂ pKi = 6.0

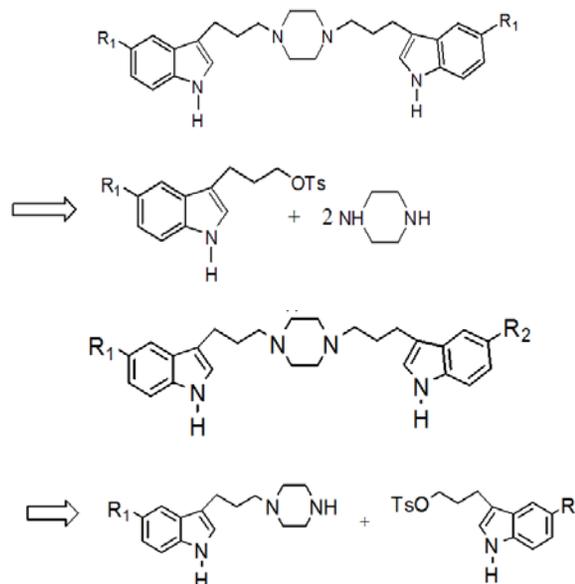
Heinrich et-al.⁵⁸⁻⁵⁹, have reported the synthesis of an interesting 5-cyano-indolbutylpiperazinobenzofurane (Vilazodone) which acts as a dual-ligand, being a serotonin reuptake inhibitor (IC₅₀ = 0.5 nM), and 5-HT_{1A} partial agonist (IC₅₀ = 0.2 nM). This compound was approved in U.S.A. by the FDA (January 2011). Structurally related to vilazodone, Smid et-al.⁶⁰, working with heteroaryl-3-indolylalkyl piperazines, obtained the fluoro-indolylbenzoxazinone shown below, which was evaluated at D₂ (6.9 nM) and SERT (0.2 nM), which can adopt two different conformations fitting either the D₂ or the SERT receptors and has favorable pharmacokinetic properties (Fig. 6).

Figure 6.



Last years, we have been working with indolic derivatives⁶¹⁻⁶⁶ focused to obtain new ligands with potential antidepressant properties. In recent unpublished results we have synthesized and evaluated a series of bis-homo(hetero)-indolpropylpiperazines to SERT and 5-HT_{1A} receptors. The synthetic strategy to obtain the homo (bis)-ligands (R1) and hetero-bis-ligands (R1≠ R2) is shown in the retrosynthetic scheme (Fig.7).

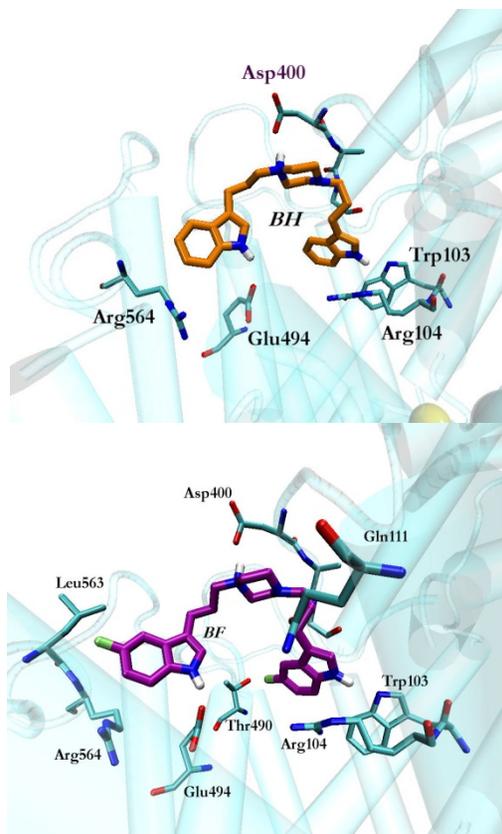
Figure 7.



The best binding affinity values (IC₅₀) at SERT receptor for the following bis-homo(hetero)derivatives were =14.0 nM (R1=F); 15.0nM (R1=F; R2=OMe) and 17.0nM (R1=F; R2=Br). However, when they were evaluated at the 5-HT_{1A} receptor, they showed not good affinity displaying IC₅₀ values in the micromolar range. The respective monomers (3-Indolylpropyl)piperazines) have been recently evaluated

displaying binding affinities in the nM and micromolar range (unpublished results) (Fig. 8).

Figure 8.



Docking of the homo-bis-ligands (R1=H) and (R1=F) to the SERT. Docking revealed close interactions of the protonated N1 of the piperazine ring with Asp400. Residues Arg104 and Glu494 can interact as stabilizing forces with the indole N-H.

REFERENCES:

- Carta, M.G.; Aguglia, E.; Balestrieri, M.; Calabrese, J. R.; Caraci, F.; Dell'Osso, L. Di Sciascio, G.; Drago, F.; Faravelli, C.; Lecca, M.E.; Moro, M.F.; Nardini, M.; Palumbo, G.; Hardoy, M.C. The lifetime prevalence of bipolar disorders and the use of antidepressant drugs in bipolar depression in Italy. *J. of Affect. Disorders*. 136, 775-780, 2012.
- Bateman, D.N. *Medicine*, vol40, 2, 100-102, 2012.
- Saveanu, R.V.; Nemeroff, Ch.B. Etiology of Depression. Genetic and Environmental Factors. *Psychiatric Clinics of North America*. 35, 1, 51-71, 2012.
- Zheng, Y.Y.; Guo, L. Zhen, X.Ch.; Li, J.Q. Synthesis and antidepressant activity of arylalkanol-piperidine derivatives as triple reuptake inhibitors. *Eur. J. of Medicinal Chemistry*, 1-14 (in press) 2012.
- Zhu, X.Y.; Etukala, J.R.; Eyunni, S.V.K.; Setola, V.; Roth, B.L. Ablordeppey, S.Y. Benzothiazoles as probes for the 5HT1A receptor and the serotonin transporter (SERT): A search for new dual-acting agents as potential antidepressants. *Eur J Med Chem.*, 53C, 124-132, 2012.
- Elhawuegi, A.S. Central Monoamines and their role in major depression. *Prog. Neuro-Psychoph.*, 28, 435- 451, 2004.
- Fountoulakis, K.N.; Kelsoe, J.R.; Akiskal, H. Receptor targets for antidepressant therapy in bipolar disorder: An overview. *J. Affect. Disord.* 138, 222-238, 2012.
- Fountoulakis, K.N., Grunze, H., Panagiotidis, P., Kaprinis, G., Treatment of bipolar depression: an update. *J. Affect. Disord.* 109, 21-34. 2008.
- Jasinska, A.J.; Lowry, Ch.A.; Burmeister, M. Serotonin transporter gene, stress and raphe-*raphe* interactions: a molecular mechanism of depression. *Trends in Neurosciences*. (In press), 2012.
- (Editorial) The promoter of the serotonin transporter genotype, environment and depression: A hypothesis supported? *J. Affect. Disord.* 137, 1-3, 2012.
- Papakostas, G.I.; Fan H.; Tedeschi, E. Severe and anxious depression: Combining definitions of clinical sub-types to identify patients differentially responsive to selective serotonin reuptake inhibitors. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 22, 347-355, 2012.
- Uher, R., McGuffin, P., The moderation by the serotonin transporter gene of environmental adversity in the etiology of depression. *Mol Psychiatry*. 15, 18-22, 2010.
- Parker, G.; Tully, L.; Olley, A.; Hadzi-Pavlovic, D. SSRIS as mood stabilizers for Bipolar II Disorder? A proof of concept study. *J Affect Disord.* Jun;92(2-3):205-14, 2006.
- Jaroczyk, M.; Wołosewicz, K.; Gabrielsen M.; Nowak, G.; Kufareva, I.; Mazurek, A.P.; Ravna, A.W.; Abagyan, R.; Bojarski, A.J.; Sylte, I.; Chilmonczyk, Z. Synthesis, in vitro binding studies and docking of long-chain arylpiperazine nitroquipazine analogues, as potential serotonin transporter inhibitors. *Eur J Med Chem.* 49 200- 210, 2012.
- Bianchi, M.T.; Non-serotonin anti-depressant actions: Direct ion channel modulation by SSRIs and the concept of single agent poly-pharmacy. *Med Hypotheses*, 70, 951-956, 2008.
- Andrews, M.; Brown, A.; Chiva, J.Y.; Fradet, D.; Gordon, D. Lansdell, M.; MacKenny, M.; Design and optimisation of selective serotonin re-uptake inhibitors with high synthetic accessibility: Part 2. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* 19, 5893-5897, 2009.
- Butler, S.G.; Meegan, M.J. Recent Developments in the Design of Anti-Depressive Therapies: Targeting the Serotonin Transporter. *Curr. Med. Chem.* 15, 1737-1761, 2008.
- Gu, X.H.; Yu, H.; Jacobson, A.E.; Rothman, R.B.; Dersch, Ch.M.; George, C.; Flippen-Anderson, J.L.; and Rice, K.C. Design, Synthesis, and Monoamine Transporter Binding Site Affinities of Methoxy Derivatives of Indatraline. *J. Med. Chem.* 43, 4868-4876, 2000.
- Conformationally Restricted Homotryptamines. 2. Indole Cyclopropylmethylamines as Selective Serotonin Reuptake Inhibitors. Mattson, R. J.; Catt, J.D.; Denhart, D.J.; Deskus, J.A.; Ditta, J.L.; Higgins, M.A.; Marcin, L. R.; Sloan, Ch.P.; Beno, B.R.; Gao, Q.; Cunningham, M.A.; Mattson, G.K.; Molski, Th. F.; Taber, M. T.; and Lodge N. J. *J. Med. Chem.* 48, 6023-6034, 2005.
- Morphy, R.; Rankovic, Z.; J. "Designed Multiple Ligands. An Emerging Drug Discovery Paradigm. *J. Med. Chem.* 48, 21, 6523-6543. 2005.
- Khatab, Sh.N.; Hassan, S.Y.; Bekhit, A.A.; El Masry, A.M.; Langer, V.; Amer, A. "Synthesis of new series of quinoxaline based MAO- inhibitors and docking studies". *Eur J Med Chem.* 45, 4479-4489, 2010.
- Mencher, S.K.; Wang, L.G.; Promiscuous drugs compared to selective drugs (promiscuity can be a virtue). *BMC Clin Pharmacol.* 5:3, 2005. doi:10.1186/1472-6904-5-3.
- Greiner, E.; Boos, T.L.; Prisinzano, Th.E.; De Martino, M.G.; Zeglis, B.; Dersch, Ch.M.; Jamila Marcus, J.; Partilla, J.S.; Rothman, R.B.; Jacobson, A.E.; and Rice, K.C. Design and Synthesis of Promiscuous High-Affinity Monoamine Transporter Ligands: Unraveling Transporter Selectivity. *J. Med. Chem.* 49, 1766-1772, 2006.

- 24.- Millan, M.J. Multi-target strategies for the improved treatment of depressive states: Conceptual foundations and neuronal substrates, drug discovery and therapeutic application. *Pharmacol. Therapeut.* 110,135-370, 2006.
- 25.- White, J.D.; Juniku, R.; Huang, K.; Yang, J.; and Wong, D.T. Synthesis of 1,1-[1-Naphthoxy-2-thiophenyl]-2-methylaminomethylcyclopropanes and Their Evaluation as Inhibitors of Serotonin, Norepinephrine, and Dopamine Transporters. *J. Med. Chem.* 52, 5872–5879, 2009.
- 26.- Nicole T. Hatzenbuehler,*,‡ Deborah A. Evrard,‡ Boyd L. Harrison,‡ Donna Huryn,‡,# Jennifer Inghrim,‡ Christina Kraml,‡ James F. Mattes,‡ Richard E. Mewshaw,† Dahui Zhou,‡ Geoffrey Hornby,§ Qian Lin,§ Deborah L. Smith,§ Kelly M. Sullivan,§ Lee E. Schechter,§ Chad E. Beyer,§ and Terrance H. Andree§. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Compounds within a Class of 3-Aminochroman Derivatives with Dual 5-HT1A Receptor and Serotonin Transporter Affinity. *J. Med. Chem.* 49, 4785-4789, 2006.
- 27.- Geldenhuys, W.J.; Youdim, M.B.H.; Carroll, R.T.; Van der Schyf, C.J. The emergence of designed multiple ligands for neurodegenerative disorders. *Prog Neurobiol.* 94, 347–359, 2011.
- 28.- Yamada, M.; Yasuhara, H. Clinical Pharmacology of MAO-inhibitors: Safety and Future. *Neurotoxicology* 25, 215-221, 2004.
- 29.- Reniers, J.; Robert, S.; Frederick, R.; Masereel, B.; Vincent, S.; Wouters, J. Synthesis and evaluation of β -carboline derivatives as potential monoamine oxidase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* 19, 134-144, 2011.
- 30.- Ke, Sh.; Li, Zh.; Qian, X. 1,3,4-oxadiazole-3(2H)-carboxamide derivatives as potential novel class of monoamine oxidase (MAO) inhibitors: Synthesis, evaluation and role of urea moiety. *Bioorg. and Med. Chem.* 16, 7565-7572, 2008.
- 31.- Matos, M.J.; Vásquez-Rodríguez, S.; Uriarte, E.; Santana L.; Viña, D. MAO inhibitory activity modulation: 3-Phenylcoumarins versus 3-benzoylcoumarins. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21, 4224-4227, 2011.
- 32.- Hassan, S.Y.; Khattab, N., S.; Bekhit, A.A.; Amer, A. Synthesis of 3-benzyl-2-substituted quinoxalines as novel monoamine oxidase A inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16, 1753-1756, 2006.
- 33.- Karuppasamy, M.; Mahapatra, M.; Yabanoglu, S.; Ucar, G.; Sinha, B.N.; Basu, A.; Mishra, N.; Sharon, A.; Kulandaivelu, U.; Jayaprakash, V. Development of selective and reversible pyrazoline based MAO-A inhibitors: Synthesis, biological evaluation and docking studies. *Bioorg. Med. Chem.* 18, 1875, 1881, 2010.
- 34.- Kitaichi, Y.; Inoue, T.; Nakagawa, S.; Boku, Sh.; Izumi, T.; Koyama, T. Combined treatment with MAO-A inhibitor and MAO-B inhibitor increases extracellular noradrenaline levels more than MAO-A inhibitor alone through increases in β -phenylethylamine. *Eur. J. Pharmacol.* 637, 77-82, 2010.
- 35.- Shelke, S.M.; Bhosale, Sh.H.; Dash, R.Ch.; Suryawanshi, M.R.; Mahadik, K. Exploration of new scaffolds as potential MAO-A inhibitors using pharmacophore and 3D-QSAR based in silico screening. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21, 2419-2424, 2011.
- 36.- Vallejos, G.; Fierro, A.; Caroli Rozende, M.; Sepúlveda-Boza, S.; Reyes-Parada, M. Heteroarylisopropyl-amines as MAO inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* 13, 4450-4457, 2005.
- 37.- Ke, Sh.; Li, Zh.; Qian, X. 1,3,4-Oxadiazole-3(2H)-carboxamide derivatives as potential novel class of monoamine oxidase (MAO) inhibitors: Synthesis, evaluation, and role of urea moiety. *Bioorg. Med. Chem.* 16, 7565-7572, 2008.
- 38.- Shi, L.; Yang, Y.; Li, Z.L.; Zhu, Zh.W.; Liu, Ch.H.; Zhu, H.L. Design of novel nicotinamides as potent and selective Monoamine oxidase-A inhibitors. *Bioorg. and Med. Chem.* 18, 1659-1664, 2010.
- 39.- Papakostas, G. Dopaminergic-based pharmacotherapies for depression. *Eur Neuropsychopharmacol.* 16, 391-402, 2006.
- 40.- Gershon, A.A.; Vishne, T.; Grunhaus, L. Dopamine D2-like receptors and the antidepressant response. *Biol. Psychiatry*, 61, 145-153, 2007.
- 41.- Porcelli, S.; Drago, A.; Fabbri, C.; Serretti, A. Mechanisms of antidepressant action: An integrated dopaminergic perspective. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 35, 1532-1543, 2011.
- 42.- Willner, P.; Hale, A.S.; Argyropoulos, S. Dopaminergic mechanism of antidepressant action in depressed patients. *J. Affective Disorders*, 86, 37-45, 2005.
- 43.- Glantz, L.A.; Gilmore, J.; Overstreet, G.H.; Salimi, K.; Lieberman, J.A.; Jarskog, L.F. Pro-apoptotic par-4 and dopamine D2 receptor in temporal cortex in schizophrenia, bipolar disorders and major depression. *Schizophr Res.* 118, 292-299, 2010.
- 44.- Haenisch, B.; Bönisch, H. Depression and antidepressants: Insights from knockout of dopamine, serotonin or noradrenaline re-uptake transporters. *Pharmacol Ther.* 129, 352-368, 2011.
- 45.- Monreal, J.A.; Duval, F.; Mokrani, M.C.; Pinault, G.; Macher, J.P. Exploration de la fonction dopaminergique dans les dépressions bipolaires et unipolaires. Dopamine function in bipolar and unipolar depressed patients. *Ann Med Psychol.* 163, 399-404, 2005.
- 46.- Klimek, V.; Schenck, J.E.; Han, H.; Stockmeier, C.A.; Ordway, G.A. Dopaminergic abnormalities in amygdaloid Nuclei in major depression: A postmortem study. *Biol. Psychiatry*, 52, 740-748, 2002.
- 47.- Opmeer, E.M.; Kortekaas, R.; Aleman, A. Depression and the role of genes involved in dopamine metabolism and signalling. *Prog Neurobiol.* 92, 112-133, 2010.
- 48.- Lawford, B.R.; Young, R.; Noble, E.P.; Kann, B.; Ritchie, T. The D2 dopamine receptor (DRD2) gene is associated with co-morbid depression, anxiety and social dysfunction in untreated veteran with post-traumatic stress disorders. *Eur Psychiatry*, 21, 180-185, 2006.
- 49.- Huang, Y.; Luedtke, R.R.; Freeman, R.A.; Wu, L.; Mach, R.H. Synthesis of 2-(2,3-dimethoxyphenyl)-4-(aminoethyl)imidazole analogues and their binding affinities for dopamine D2 and D3 receptors. *Bioorg. Med. Chem.* 9, 3113-3122, 2001.
- 50.- Fountoulakis, K.N.; Vieta, E., Efficacy and safety of aripiprazole in the treatment of bipolar disorder: a systematic review. *Ann. Gen. Psychiatry* 8, 16, 2009.
- 51.- Matecka, D.; Lewis, D.; Rothman, R.B.; Dersch, Ch.M. Wojnicki, F.H.E.; Glowa, J.R.; DeVries, A.C.; Pert, A.; and Rice, K.C. Heteroaromatic Analogs of 1-[2-(Diphenylmethoxy)ethyl]- and 1-[2-[Bis(4-fluorophenyl)methoxy]ethyl]-4-(3-phenylpropyl)piperazines (GBR 12935 and GBR 12909) as High-Affinity Dopamine Reuptake Inhibitors. *J. Med. Chem.*, 40, 705-716, 1997.
- 52.- Vaswani, M.; Linda, F.K.; Ramesh, S. Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: a comprehensive review. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 27, 85– 102, 2003.
- 53.- Perez, M.; Pauwels, P.; Pallard-Sigogneau, I.; Fourriera, C.; Chopinc, P.; Palmierb, C.; Colovrayd, V.; Halazy, S. Design and synthesis of new potent, silent 5-HT1A antagonists by covalent coupling of aminopropanol derivatives with selective serotonin reuptake inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 8, 3423-3428, 1998.
- 54.- Mewshaw, R.; Meagher, K.; Zhou, P.; Zhou, D.; Shi, X.; Scerni, R.; Smith, D.; Schechter, L.; Andree, T. Studies toward the discovery of the next generation of antidepressants. Part 2: Incorporating a 5-HT1A antagonist component into a class of serotonin reuptake inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 12, 307-310, 2002.
- 55.- Mewshaw, R.; Zhou, D.; Zhou, P.; Shi, X.; Hornby, G.; Spangler, T.; Scerni, R.; Smith, D.; Schechter, L.; Andree, T. Studies toward the discovery of the next generation of antidepressants. 3. Dual 5-HT1A and serotonin transporter affinity within a class of N-aryloxyethylindolylalkylamines. *J. Med. Chem.* 47, 3823-3842, 2004.
- 56.- Timms, G.; Boot, J.; Broadmore, R.; Carney, S.; Cooper, J.; Findlay, J.; Gilmore, J.; Mitchell, S.; Moore, N.; Pullar, I.; Sanger, G.; Tomlinson, R.; Tree, B.; Wedley, S. SAR development of a selective 5-HT1D antagonist/serotonin reuptake inhibitor lead using rapid parallel synthesis. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14, 2469-2472, 2004.

- 57.- Atkinson, P.; Bromidge, S.; Duxon, M.; Laramie, M.; Gaster, L.; Hadley, M.; Hammond, B.; Johnson, C.; Middlemiss, D.; North, S.; Price, G.; Rami, H.; Riley, J.; Scott, C.; Shaw, T.; Starr, K.; Stemp, G.; Thewlis, K.; Thomas, D.; Thompson, M.; Vong, A.; Watson, J. 3,4-Dihydro-2H-benzoxazinones are 5-HT_{1A} receptor antagonists with potent 5-HT reuptake inhibitory activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15, 737-741, 2005.
- 58.-Heinrich,T.; Böttcher,H.; Bartoszyk,G.D.; Greiner,H.E.; Seyfried,Ch.A.; and van Amsterdam,Ch. Indolebutylamines as Selective 5-HT_{1A} Agonists. *J. Med. Chem.* 47,4677-4683, 2004.
- 59.-Heinrich,T.; Böttcher,H.; Gericke,R. Bartoszyk,G.D.; Anzali,S.; Seyfried,Ch.A.; Greiner,H.E. and van Amsterdam,Ch. Synthesis and Structure-Activity Relationship in a Class of Indolebutylpiperazines as Dual 5-HT_{1A} Receptor Agonists and Serotonin Reuptake Inhibitors. *J. Med. Chem.* 47,4684-4692,2004.
- 60.-Smid,P.; Coolen, H. K. A. C.; Keizer, H. G.; van Hes,R.; de Moes,J.P.; den Hartog, A.P.; Stork,B.; Plekkenpol,R.H.; Niemann,L.C.; Stroomer,C.N.J.; Tulp,M.Th.M.; van Stuivenberg,H.H.; McCreary,A.C.; Hesselink,M.B.; Herremans,A.H.J.; and Kruse, Ch.G. Synthesis, Structure-Activity Relationships, and Biological Properties of 1-Hetero-aryl-4-[6-(1H-indol-3-yl)alkyl]piperazines, Novel Potential Antipsychotics Combining Potent Dopamine D₂ Receptor Antagonism with Potent Serotonin Reuptake Inhibition. *J. Med. Chem.* 48, 6855-6869, 2005.
- 61.- Pessoa –Mahana,H.; Ugarte,N.C.;Araya-Maturana,R.; Saitz-Barría,C. Zapata-Torres,G.; Pessoa –Mahana,C.D.;Iturriaga-Vásquez,P. Mella Raipán, J. Reyes-Parada,M.; Celis-Barros, C. *Chem.Pharm.Bull.* 60,5, 632-638, 2012.
- 62.- Hatzenbuehler,N.T.; Evrard, D.A.; Harrison,B.L.; Huryn,D.; Inghrim,J.; Kraml,Ch.; Mattes,J.F.; Mewshaw,R.E.; Zhou,D.; Hornby,G.; Lin,Q.; Smith,D.L.; Sullivan,K.M.; Schechter,L.E.; Beyer,Ch.E.; and Andree,T.H. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Compounds within a Class of 3-Aminochroman Derivatives with Dual 5-HT_{1A} Receptor and Serotonin Transporter Affinity. *J. Med. Chem.* 49, 4785-4789, 2006.
- 63.-Hatzenbuehler,N.T.; Baudy,R.; Evrard, D.A. ; Failli,A.; Harrison,B.L.; Lenicek,S.; Mewshaw,R.E.; Uresh,S.; Sze,Sh.J.;Zhang,M.; Zhou,D.; Chlenov,M.; Kagan,M.; J Golembieski,J.; Hornby,G.; Lai,M.; Smith,D.L.; Sullivan,K.M.; Schechter,L.E.; and Andree,T.H. Advances toward New Antidepressants with Dual Serotonin Transporter and 5-HT_{1A} Receptor Affinity within a Class of 3-Aminochroman Derivatives. Part 2. *J. Med. Chem.* 51, 6980–7004, 2008.
- 64.-Simoneau, Ch.A.; Ganem,B. A three-component Fischer indole synthesis. *Nat Protoc.*, 3,8,1249-1252.2008.
- 65.-Campos,K.R.; Woo,J.C.S.; Lee,S.; and Tillyer R.D. A General Synthesis of Substitute Indoles from Cyclic Enol Ethers and Enol Lactones. *Org.Lett.*,6,1,79-82, 2004.
- 66.- Humphrey,G.R.; and Kuethe,J.T. Practical Methodologies for the Synthesis of Indoles. *Chem. Rev.* 106, 2875–2911, 2006.
- 67.-Yamashita A, Singh SK, Kawate T, Jin Y, Gouaux E. Crystal structure of a bacterial homologue of Na⁺/Cl⁻-dependent neurotransmitter transporters. *Nature*, 2005, 437:215–223.;
- 68.- Chien Ellen Y. T., Liu Wei, Zhao Qiang Katritch, Vsevolod, Won Han Gye., Hanson Michael A, Shi Lei Newman Amy Hauck Javitch Jonathan A. Cherezov Vadim, Stevens Raymond C. , Structure of the Human Dopamine D₃ Receptor in Complex with a D₂/D₃ Selective Antagonist *Science* 330 : 1091-1095, 2010.
- 69.- De Colibus L, Li M, Binda C, Lustig A, Edmondson DE, Mattevi A. Three -dimensional structure of human monoamine oxidase A (MAO A): Relation to the structures of rat MAO A and human MAO B. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102:12684 -12689, 2005.
- 70.- Gobbi M, Moia M, Reyes -Parada M, Borsini F, Mennini T. p -Methylthio -amphetamine and 1 -(mchlorophenyl) piperazine, two non -neurotoxic 5 -HT releasers in vivo, differ from neurotoxic amphetamines in their mode of action at 5 -HT nerve endings in vitro. *J. Neurochem.*, 82:1435 - 1443. 2002.
- 71.- Gobbi M, Funicello M, Gerstbrein K, Holy M, Moya PR, Sotomayor R, Forray MI, Gysling K, Paluzzi S, Bonanno G, Reyes-Parada M, Sitte HH, Mennini T. N,N-dimethyl-thioamphetamine and methyl-thioamphetamine, two non-neurotoxic substrates of 5-HT transporters, have scant in vitro efficacy for the induction of transporter-mediated 5-HT release and currents. *J. Neurochem.*, 105:1770-1780, 2008.
- 72 ; Lühr S, Vilches-Herrera M, Fierro A, Ramsay RR, Edmondson DE, Reyes-Parada M, Cassels BK, Iturriaga- Vásquez P. 2-Arylthiomorpholine derivatives as potent and selective monoamine oxidase B inhibitors. *Bioorg Med Chem.* 18:1388-1395, 2010.
- 73.- Peters, J.U. *Polypharmacology in drug discovery.* Edit. J. Wiley, First edition, 2012.
- 74.- Decker,M.; Lehmann,J.; Agonistic and antagonistic bivalent ligands of Serotonine and dopamine receptors including their transporters. *Curr.Top.Med.Chem.* 7,4, 347-353, 2007.

RATIONAL DESIGN, SYNTHESIS, BIOLOGICAL EVALUATION AND QUANTITATIVE STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS OF NOVEL β_3 -AR LIGANDS.

Jaime Mella-Raipan

Instituto de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile.

ABSTRACT

The β_3 -adrenergic receptor belongs to the seven-transmembrane domain (7TD) G-protein coupled receptors superfamily. Since its discovery in humans (1989), the novel receptor attracted interest from the scientific community as it seemed to play a crucial function in the regulation of energy homeostasis by controlling the metabolism of glucose and lipids. In accordance with this function, the β_3 -AR is considered to be an emerging therapeutic drug target of several high-impact pathological conditions of modern society, such as: type 2 diabetes, metabolic syndrome, obesity (even cachexia), cardiac diseases and irritable bowel syndrome. Moreover, the wide distribution of β_3 -AR in other tissues like bladder, myometrium, colon and brain offers possible clinical use of β_3 -AR ligands in the treatment of overactive bladder, preterm labour, colon cancer, anxiety and depressive disorders. It is noteworthy that there is only one drug recently approved in USA (Mirabegron, 2012) that targets this receptor class. This encourages the development of new compounds with selectivity for β_3 -AR. In the present article we review briefly the principal characteristics of the β_3 -AR and the most important features to take into account for the design of new promising compounds.

Keywords: β_3 -adrenergic, GPCRs, CoMFA.

Rev. Farmacol. Chile (2016) 9 (2) 32-38

Received 2-10-2016; Revised 20-10-2016; Accepted 24-10-2016

1) INTRODUCTION

Until 1967 only two classes of β -adrenergic receptors (β -ARs) were known, classified as β_1 - and β_2 -AR¹⁻³. However, by 1980s a new class of β -AR⁴ was found in several species, including bovine, rats and mice. Later, its presence was confirmed in humans and it was called β_3 -AR⁵⁻⁷. The three β -AR subtypes belong to the G-protein coupled receptors superfamily (GPCRs)⁸. The β_1 - and β_2 -ARs are located mainly in heart⁹⁻¹¹ and lungs^{10,12} respectively. The discovery of selective molecules that target both receptors started the modern treatment of hypertension¹³⁻¹⁴ and asthma¹⁵. On the other hand, β_3 -AR has a wide tissue distribution, being present in adipose tissue¹⁶, heart¹⁷, detrusor muscle¹⁸, bladder¹⁹, prostate²⁰, gut²¹, uterus²², pancreas²³ and brain²⁴⁻²⁵. Therefore, nowadays the β_3 -AR is considered an emergent drug target for the treatment of several pathologies such as type 2 diabetes, obesity, cachexia, metabolic syndrome, heart failure, anxiety and depressive disorders, preterm labor, overactive bladder, control colon motility, and used as coadjuvants in colon cancer therapy²⁶. Agonists, and antagonist have been proved to be

useful in many *in vivo* assays²⁷⁻²⁸, but very little is known about β_3 -AR inverse agonists²⁹. So β_3 -ARs are of great interest for medicinal chemists because their recent identification in several tissues will have significant implications in drug development.

2) STRUCTURAL FEATURES OF THE β_3 -ADRENERGIC RECEPTOR.

The β_3 -adrenoceptor is a GPCRs characterized by seven-transmembrane domains of 22-28 amino acids, with three intra and three extracellular loops³⁰. General properties of β_1 -, β_2 - and β_3 -adrenergic receptors are listed in table 1. The transmembrane domains (TM) TM3, 4, 5, 6 and disulphide bond between Cys110-Cys189, in the second and third loops respectively, are indispensable for ligand recognition and biological activity of the receptor. While TM2 and 7 modulate Gs activation⁷. A residue of Cys361 in the C-terminus tail is palmitoylated (Figure 1). This structural feature in β_3 -AR induces adenylyl cyclase stimulation when agonists bound to the receptor³¹.

Correspondence to: Dr. Jaime Mella-Raipan, Instituto de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile. Address: Av. Gran Bretaña 1111, Playa Ancha, Valparaíso, Chile. E-mail: jaime.mella@uv.cl

Table 1.

	β_1 -AR	β_2 -AR	β_3 -AR
Aminoacids, n	477	413	408
Introns, n	—	—	2
Phosphorylation by PKA and β -ARK	Yes	Yes	No
Endogenous agonist	Noradrenaline	Adrenaline	Noradrenaline
Selective antagonist	CGP 20712A, atenolol, metoprolol	ICI 118551	SR 59230A, DPJ 904, L-748,328, L-748,337
G protein	Gs	Gs	Gs, Gi
Effector	Adenylyl cyclase	Adenylyl cyclase	Adenylyl cyclase, NO synthase
Tissue distribution	Heart (mainly), adipose tissue, kidney	Lungs (mainly), heart, adipose tissue, bladder, uterus	Adipose tissue, heart, bladder, gut, uterus, pancreas, brain

Properties of the three human β -AR subtypes (data from Perrone *et al.*³⁰)

The β_3 -Adrenoceptor differs from classical β_1 - and β_2 -ARs in its down-regulation properties: it lacks PKA phosphorylation sites and has fewer threonine and serine amino acids in the C-terminus tail. Whether or not if this receptor undergoes long-term desensitization remains an open question, but this peculiarity may be useful when developing drugs for type 2 diabetes or obesity for example, because of the persistent effect to activate the receptor³²⁻³³.

The β_3 -AR in almost all tissues is coupled to a Gs protein and its stimulation raises the intracellular production of cAMP by activation of adenylyl cyclase⁸. In adipocytes β_3 -AR is coupled both, Gs and Gi proteins. In the first case, the activation leads to a signaling pathway which ends in thermogenesis. In the latter case, Gi protein cascade reactions end in lipolysis³⁵. In other cells such as cardiomyocytes β_3 -AR is not coupled to Gs protein, but to Gi protein leading to the activation of constitutively expressed eNOS with a final negative inotropic effect³⁶⁻³⁷. In blood vessels β_3 -AR mediates relaxation through activation of a NO synthase pathway and a subsequent increase in intracellular cGMP³⁸⁻³⁹.

3) THE β_3 -AR AS A THERAPEUTIC TARGET.

Unlike β_1 - and β_2 -AR, β_3 -Adrenoceptor is present in a wide range of tissues (see introduction), where it is involved in a variety of pathophysiological processes. Accordingly, β_3 -AR ligands constitute potential drugs useful to treat several diseases³⁴. A list of potential therapeutic indications of β_3 -AR ligands are given in Table 2.

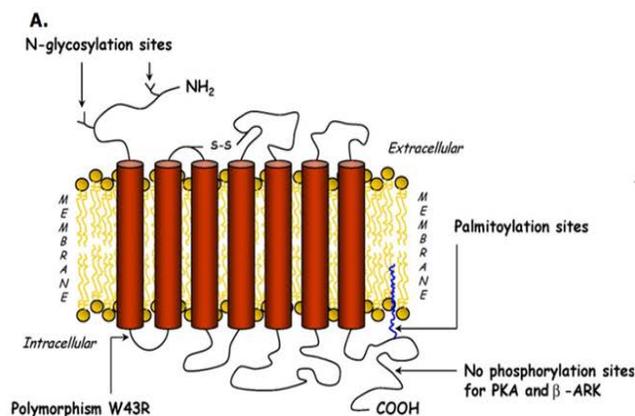
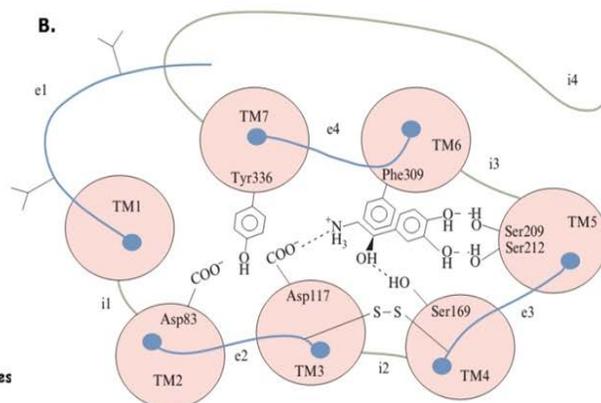


Figure 1.



A. Primary structure of the human β_3 -AR. The disulphide bond essential for activity, Cys110 to Cys189, is represented by S-S. Palmitoylation sites have shown to mediate the adenylyl cyclase stimulation by agonist-bound receptor²⁶. B. β_3 -AR viewed from the outside of the cell: proposed interactions in the ligand binding region. Noradrenaline is shown surrounded by several of the amino acids involved in agonist binding³⁴.

Table 2.

Localization	Potential indication	Type of drug
Adipose tissue	Type 2 diabetes, cachexia, metabolic syndrome, obesity	Agonist, antagonist, inverse agonist
Heart	Cardiac diseases ⁴⁰⁻⁴¹	Agonist, Antagonist, Inverse agonist
Brain (Hippocampus, hypothalamus, amygdala and cerebral cortex)	Anxiety and depressive disorders ⁴²⁻⁴¹	Agonist (amibegron, discontinued after phase III ⁴⁴)
Myometrium	Preterm labour ⁴⁵	Agonist
Urinary bladder	Overactive bladder (OAB) ⁴⁶⁻⁴⁷	Agonist (Mirabegron, approved OAB, 2012 ⁴⁸ ; solabegron, phase II ⁴⁴)
Gut	Modulation of colonic motility ⁴⁹⁻⁵¹ , Irritable Bowel Syndrome (IBS) ⁵²⁻⁵⁷ , colon cancer ⁵⁶	Agonist (solabegron, phase II ⁴⁴), antagonist, inverse agonist
Blood Vessels (endothelium)	Hypertension ⁵⁷ , coronary bypass ⁵⁸	Agonist
Liver and portal circulation	Portal hypertension ⁵⁹	Agonist

Possible clinical use of β_3 -AR agents.

There are several *in vivo* assays that show the efficacy of β_3 -AR ligands to treat such pathologies. For example, β_3 -AR agonists produce weight loss in obese animals without decreasing food intake⁶⁰⁻⁶². β_3 -AR agonists also seem to exert potent anti-diabetic effects in rodent models of type 2 diabetes²⁶. Chronic treatment reduces hyperglycemia, hyperinsulinemia and hyperlipidemia in the animals⁶²⁻⁶⁴. In brain, the β_3 -AR agonist SR 58611A (amibegron) possess an antidepressant profile in rodents⁶⁵, without present side effects such as tachycardia or alteration of locomotor activity^{42,66}. Phase III clinical trials on SR58611A for the

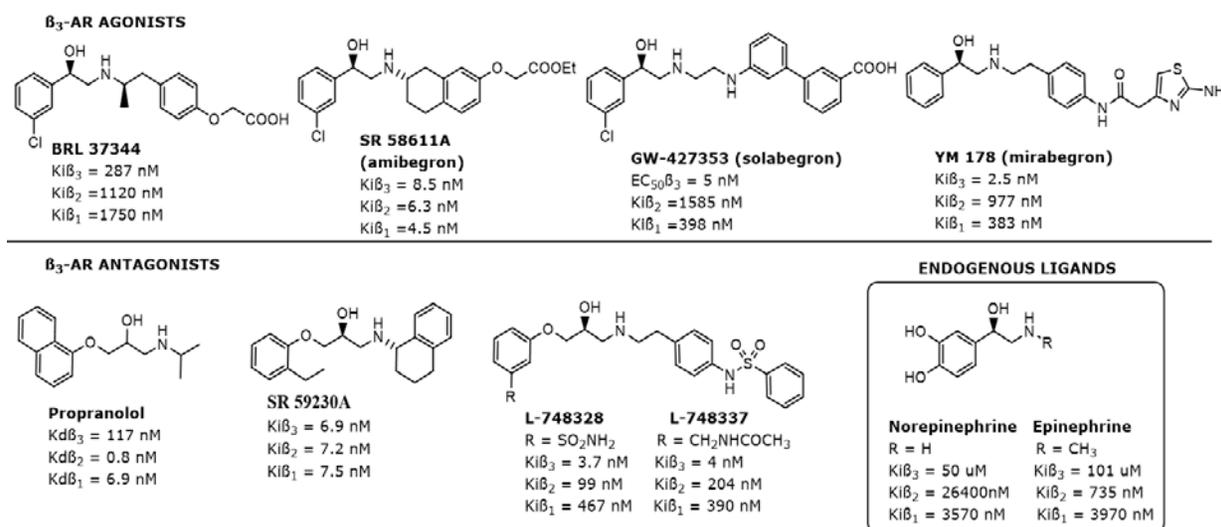
treatment of anxiety and depression have been terminated⁶⁷. In failing hearts the situation depends on the stage of the disease^{40,68}. β_3 -AR agonist should serve in the early stage because of stimulation of β_3 -AR inhibits cardiac contractility, this counteract the high plasma levels of catecholamine. But in the late phase, highly selective antagonists/inverse agonists should be useful to improve the reduction of cardiac contractility^{28,69-70}.

4) β_3 -ADRENOCEPTOR LIGANDS.

β_3 -AR agonists include molecules of the type of phenylethanolamines such as (R,R)-[4-[2-[[2-(3-chlorophenyl)-2-hydroxyethyl]amino]propyl]phenoxy] acetic acid (BRL 37344), GW-427353 (solabegron), SR 58611A (Amibegron)⁴⁹, and YM 178 (Mirabegron)⁴⁸. While antagonists include molecules of the type of aryloxypropanolamines, such as SR 59230A, L-748337 and CGP-20712A (Figure 2). However, β_3 -AR is blocked by classical β -AR antagonists (such as propranolol) but with much lower affinity⁷¹.

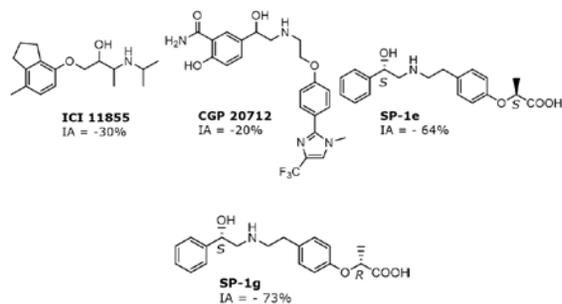
Unlike β_1 - and β_2 -AR, few β_3 -AR inverse agonists have been reported. Among them we found CGP20712A⁷⁶, SP-1e, SP-1g³⁰, ICI11855⁷⁷ (Figure 3). This compounds display the phenylethanolamine or aryloxypropanolamine nucleus also. Unfortunately, up-to-date clinical studies with inverse agonist of the β_2 - and β_3 -AR are not available yet³⁴.

Figure 2.



Structures of representative β_3 -AR ligands (Ki , Kd and EC_{50} values from references⁷¹⁻⁷⁵).

Figure 3.



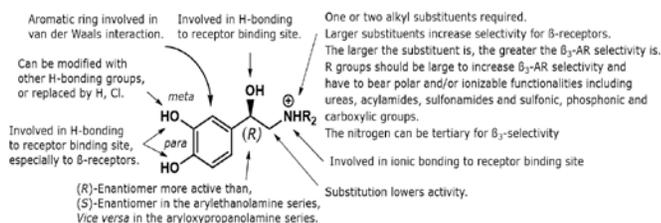
β_3 -Inverse agonists. Inverse agonist activities (IA) were calculated as % reduction of the basal adenylyl cyclase activity^{30,78}.

5) LIGAND- β_3 -AR STEREOSPECIFIC INTERACTIONS AND 3D-QSAR-BASED PHARMACOPHORE MODEL.

More than two hundred molecules have been synthesized searching β_3 -AR affinity and selectivity. All of them contain the ethanolamine chain. A structure-activity relationship of important features in phenylethanolamine pharmacophore for β_3 -AR affinity is summarized in Figure 4. The presence of a bulky *N*-alkyl group is beneficial for β_3 -AR activity. This has focused the efforts in the synthesis of compounds with a diverse variety of *N*-alkyl substitutions. Few changes have been explored in the benzene ring.

Despite the crystal structure of the β_3 -AR has not been obtained yet, computer modeling studies have defined an image of the β_3 -AR ligand-binding site⁷⁹. Moreover, we have analyzed 244 reported compounds with significant β_3 -AR activity⁸⁰⁻⁹⁰ and created a CoMFA model (Figure 5) that have allowed us to propose a ligand-based pharmacophore for β_3 -AR (Figure 6). Our results are concordant with other similar studies made with fewer compounds⁹¹.

Figure 4.

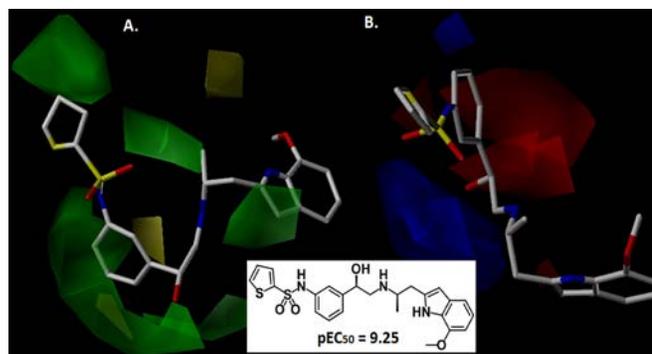


Structure-activity relationships: important β_3 -AR binding groups³⁴.

The results of a CoMFA can be seen as vivid contour maps around a compound. In the steric field (Figure 4A), the green contour indicates where a bulky group favors

activity, while the yellow contour indicates where a small group favors activity. In the electrostatic field (Figure 4B), the blue contour indicates where positive charge favors activity, while a red contour indicates where negative charge favors activity.

Figure 5.



CoMFA contour maps depicted around *N*-3-((*R*)-1-hydroxy-2-((*R*)-1-(7-methoxy-1H-indol-2-yl) propan-2-yl) amino) ethyl) phenyl) thiophene-2-sulfonamide (pEC₅₀ = 9.25), a representative molecule of the study. A.

B. Steric contour maps.

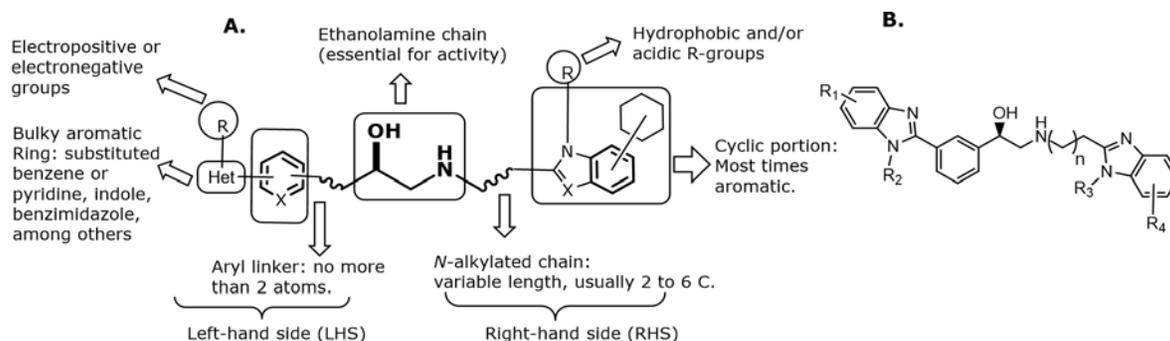
The information provided by these results show that bulky groups in the benzene moiety or the replacement of this by larger rings such as benzimidazole or indole will increase activity. These modifications have not been extensively investigated. Most of reported compounds maintain the benzene ring or include some few substitutions. 3D-QSAR studies of other authors suggest that the β_3 -AR has a bigger hydrophobic pocket in this region than β_1 - and β_2 -AR³², so increasing the volume of the molecule in this part should be beneficial for β_3 -AR selectivity too. On the other hand, the electrostatic contour maps show blue and red polyhedrons around benzene ring. This is interesting because it allows both electropositive and electronegative groups in the aryl nucleus of the phenylethanolamine portion. The efficacy of the substitution will depend on the orientation of this.

Considering the structure-activity relationships made on phenylethanolamine/aryloxypropanolamine series (Figure 4) and our CoMFA model (Figure 5) as well as other reported 3D-QSAR studies mentioned above, we propose the following ligand-based pharmacophore for the design and synthesis of a novel series of β_3 -AR ligands (Figure 6).

The benzimidazole nucleus is a useful scaffold widely utilized in medicinal chemistry⁹³. It was chosen to connect with the ethanolamine motif because it matches the pharmacophoric features shown in Figure 6, providing the possibility of multiple functionalization with electron donor or acceptor groups. It allows generating bulky areas in both sides of the molecule as well, which should be beneficial for activity. Benzimidazole is a bioisostere of indole, so the use of the former in the right-hand side (RHS) is an interesting replacement to explore. Finally, we have

expertise with the heterocyclic chemistry of this ring as is stated in the literature⁹⁴⁻¹⁰⁰.

Figure 6.



A. Structural pharmacophore for β_3 -AR. B. General structure of target compounds.

REFERENCES:

- Lands, A. M.; Arnold, A.; McAuliff, J. P.; Luduena, F. P.; Brown, T. G., Jr. *Nature* 1967, 214, 597.
- Frielle, T.; Collins, S.; Daniel, K. W.; Caron, M. G.; Lefkowitz, R. J.; Kobilka, B. K. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987, 84, 7920.
- Kobilka, B. K.; Dixon, R. A.; Frielle, T.; Dohman, H. G.; Bolanowski, M. A.; Sigal, I. S.; Yang-Feng, T. L.; Francke, U.; Caron, M. G.; Lefkowitz, R. J. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987, 84, 46.
- Arch, J. R. *Proc Nutr Soc* 1989, 48, 215.
- Emorine, L. J.; Marullo, S.; Briand-Sutren, M. M.; Patey, G.; Tate, K.; Delavier-Klutchko, C.; Strosberg, A. D. *Science* 1989, 245, 1118.
- Lelias, J. M.; Kaghad, M.; Rodriguez, M.; Chalou, P.; Bonnin, J.; Dupre, I.; Delpech, B.; Bensaid, M.; LeFur, G.; Ferrara, P.; et al. *FEBS Lett* 1993, 324, 127.
- Strosberg, A. D.; Pietri-Rouxel, F. *Trends Pharmacol Sci* 1996, 17, 373.
- Strosberg, A. D. 2000, p.11.
- Machida, C. A.; Bunzow, J. R.; Searles, R. P.; Van Tol, H.; Tester, B.; Neve, K. A.; Teal, P.; Nipper, V.; Civelli, O. *J Biol Chem* 1990, 265, 12960.
- Minneman, K. P.; Hegstrand, L. R.; Molinoff, P. B. *Mol Pharmacol* 1979, 16, 21.
- Hancock, A. A.; DeLean, A. L.; Lefkowitz, R. J. *Mol Pharmacol* 1979, 16, 1.
- Andre, C.; Erraji, L.; Gaston, J.; Grimber, G.; Briand, P.; Guillet, J. G. *Eur J Biochem* 1996, 241, 417.
- Louis, S. N.; Nero, T. L.; Iakovidis, D.; Jackman, G. P.; Louis, W. J. *Eur J Pharmacol* 1999, 367, 431.
- Berg, T.; Piercey, B. W.; Jensen, J. *Hypertension* 2010, 55, 1224.
- Wang, Z.; Chen, C.; Niu, T.; Wu, D.; Yang, J.; Wang, B.; Fang, Z.; Yandava, C. N.; Drazen, J. M.; Weiss, S. T.; Xu, X. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 163, 1404.
- Arch, J. R.; Ainsworth, A. T.; Cawthorne, M. A.; Piercy, V.; Sennitt, M. V.; Thody, V. E.; Wilson, C.; Wilson, S. *Nature* 1984, 309, 163.
- Bardou, M.; Loustalot, C.; Cortijo, J.; Simon, B.; Naline, E.; Dumas, M.; Esteve, S.; Croci, T.; Chalou, P.; Frydman, R.; Sagot, P.; Manara, L.; Morcillo, E. J.; Advenier, C. *Br J Pharmacol* 2000, 130, 1960.
- Igawa, Y.; Yamazaki, Y.; Takeda, H.; Hayakawa, K.; Akahane, M.; Ajisawa, Y.; Yoneyama, T.; Nishizawa, O.; Andersson, K. E. *Br J Pharmacol* 1999, 126, 819.
- Takeda, M.; Obara, K.; Mizusawa, T.; Tomita, Y.; Arai, K.; Tsutsui, T.; Hatano, A.; Takahashi, K.; Nomura, S. *J Pharmacol Exp Ther* 1999, 288, 1367.
- Michel, M. C.; Vrydag, W. *Br J Pharmacol* 2006, 147 Suppl 2, S88.
- De Ponti, F.; Gibelli, G.; Croci, T.; Arcidiaco, M.; Crema, F.; Manara, L. *Br J Pharmacol* 1996, 117, 1374.
- Khan, I.; Omu, A. E.; Fatinikun, T.; Chandrasekhar, B.; Kadavil, E. A.; Oriowo, M. A. *Pharmacology* 2005, 74, 157.
- Anthony, A.; Sim, R.; Guillaume, J. L.; Strosberg, A. D.; Dhillon, A. P.; Pounder, R. E.; Wakefield, A. J. *Aliment Pharmacol Ther* 2000, 14, 579.
- Rodriguez, M.; Carillon, C.; Coquerel, A.; Le Fur, G.; Ferrara, P.; Caput, D.; Shire, D. *Brain Res Mol Brain Res* 1995, 29, 369.
- Summers, R. J.; Papaioannou, M.; Harris, S.; Evans, B. A. *Br J Pharmacol* 1995, 116, 2547.
- Ursino, M. G.; Vasina, V.; Raschi, E.; Crema, F.; De Ponti, F. *Pharmacol Res* 2009, 59, 221.
- Kato, H.; Ohue, M.; Kato, K.; Nomura, A.; Toyosawa, K.; Furutani, Y.; Kimura, S.; Kadowaki, T. *Diabetes* 2001, 50, 113.
- Gan, R. T.; Li, W. M.; Xiu, C. H.; Shen, J. X.; Wang, X.; Wu, S.; Kong, Y. H. *Chin Med J (Engl)* 2007, 120, 2250.
- Baker, J. G. *Mol Pharmacol* 2005, 68, 1645.
- Perrone, M. G.; Santandrea, E.; Bleve, L.; Vitale, P.; Colabufo, N. A.; Jockers, R.; Milazzo, F. M.; Sciarroni, A. F.; Scilimati, A. *Bioorg Med Chem* 2008, 16, 2473.
- Strosberg, A. D. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997, 37, 421.
- Liggett, S. B.; Freedman, N. J.; Schwinn, D. A.; Lefkowitz, R. J. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993, 90, 3665.

- (33) Nantel, F.; Bonin, H.; Emorine, L. J.; Zilberfarb, V.; Strosberg, A. D.; Bouvier, M.; Marullo, S. *Mol Pharmacol* 1993, 43, 548.
- (34) Grazia Perrone, M.; Scilimati, A. *Methods Enzymol* 2010, 484, 197.
- (35) Robidoux, J.; Kumar, N.; Daniel, K. W.; Moukdar, F.; Cyr, M.; Medvedev, A. V.; Collins, S. *J Biol Chem* 2006, 281, 37794.
- (36) Kaumann, A. J. *Trends Pharmacol Sci* 1989, 10, 316.
- (37) Gauthier, C.; Langin, D.; Balligand, J. L. *Trends Pharmacol Sci* 2000, 21, 426.
- (38) Trochu, J. N.; Leblais, V.; Rautureau, Y.; Beverelli, F.; Le Marec, H.; Berdeaux, A.; Gauthier, C. *Br J Pharmacol* 1999, 128, 69.
- (39) Shen, Y. T.; Cervoni, P.; Claus, T.; Vatner, S. F. *J Pharmacol Exp Ther* 1996, 278, 1435.
- (40) Rozec, B.; Gauthier, C. *Pharmacol Ther* 2006, 111, 652.
- (41) Zhou, S.; Tan, A. Y.; Paz, O.; Ogawa, M.; Chou, C. C.; Hayashi, H.; Nihei, M.; Fishbein, M. C.; Chen, L. S.; Lin, S. F.; Chen, P. S. *Heart Rhythm* 2008, 5, 289.
- (42) Stemmelin, J.; Cohen, C.; Terranova, J. P.; Lopez-Grancha, M.; Pichat, P.; Bergis, O.; Decobert, M.; Santucci, V.; Francon, D.; Alonso, R.; Stahl, S. M.; Keane, P.; Avenet, P.; Scatton, B.; Le Fur, G.; Griebel, G. *Neuropsychopharmacology* 2008, 33, 574.
- (43) Claustre, Y.; Leonetti, M.; Santucci, V.; Bougault, I.; Desvignes, C.; Rouquier, L.; Aubin, N.; Keane, P.; Busch, S.; Chen, Y.; Palejwala, V.; Tocci, M.; Yamdagni, P.; Didier, M.; Avenet, P.; Le Fur, G.; Oury-Donat, F.; Scatton, B.; Steinberg, R. *Neuroscience* 2008, 156, 353.
- (44) <http://www.clinicaltrials.gov> 2008.
- (45) Croci, T.; Cecchi, R.; Marini, P.; Rouget, C.; Viviani, N.; Germain, G.; Guagnini, F.; Fradin, Y.; Descamps, L.; Pascal, M.; Advenier, C.; Breuille-Fouche, M.; Leroy, M. J.; Bardou, M. *J Pharmacol Exp Ther* 2007, 321, 1118.
- (46) Biers, S. M.; Reynard, J. M.; Brading, A. F. *BJU Int* 2006, 98, 1310.
- (47) Takasu, T.; Ukai, M.; Sato, S.; Matsui, T.; Nagase, I.; Maruyama, T.; Sasamata, M.; Miyata, K.; Uchida, H.; Yamaguchi, O. *J Pharmacol Exp Ther* 2007, 321, 642.
- (48) Sacco, E.; Bientinesi, R. *Ther Adv Urol* 2012, 4, 315.
- (49) Bianchetti, A.; Manara, L. *Br J Pharmacol* 1990, 100, 831.
- (50) De Ponti, F.; Cosentino, M.; Costa, A.; Girani, M.; Gibelli, G.; D'Angelo, L.; Frigo, G.; Crema, A. *Br J Pharmacol* 1995, 114, 1447.
- (51) De Ponti, F.; Gibelli, G.; Crema, F.; Lecchini, S. *Pharmacology* 1995, 51, 288.
- (52) de Ponti, F.; Modini, C.; Gibelli, G.; Crema, F.; Frigo, G. *Pharmacol Res* 1999, 39, 345.
- (53) Anthony, A.; Bahl, A. K.; Oakley, I. G.; Spraggs, C. F.; Dhillon, A. P.; Trevethick, M. A.; Piasecki, C.; Pounder, R. E.; Wakefield, A. J. *J Pathol* 1996, 179, 340.
- (54) Coruzzi, G.; Bertaccini, G. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1997, 356, 263.
- (55) Coruzzi, G.; Spaggiari, S.; Bertaccini, G. *J Physiol Paris* 1997, 91, 241.
- (56) Perrone, M. G.; Notarnicola, M.; Caruso, M. G.; Tutino, V.; Scilimati, A. *Oncology* 2008, 75, 224.
- (57) Donckier, J. E.; Massart, P. E.; Van Mechelen, H.; Heyndrickx, G. R.; Gauthier, C.; Balligand, J. L. *Eur J Clin Invest* 2001, 31, 681.
- (58) Rozec, B.; Serpillon, S.; Toumaniantz, G.; Seze, C.; Rautureau, Y.; Baron, O.; Noireaud, J.; Gauthier, C. *J Am Coll Cardiol* 2005, 46, 351.
- (59) Trebicka, J.; Probsting, A.; Hennenberg, M.; Sauerbruch, T.; Heller, J. *Hepatology* 2007, 46, 607A.
- (60) Yen, T. T. *Int J Obes* 1984, 8, 69.
- (61) Yoshida, T.; Sakane, N.; Wakabayashi, Y.; Umekawa, T.; Kondo, M. *Eur J Endocrinol* 1994, 131, 97.
- (62) Yoshida, T.; Sakane, N.; Wakabayashi, Y.; Umekawa, T.; Kondo, M. *Life Sci* 1994, 54, 491.
- (63) Dolan, J. A.; Muenkel, H. A.; Burns, M. G.; Pellegrino, S. M.; Fraser, C. M.; Pietri, F.; Strosberg, A. D.; Largis, E. E.; Dutia, M. D.; Bloom, J. D.; et al. *J Pharmacol Exp Ther* 1994, 269, 1000.
- (64) Liu, Y. L.; Cawthorne, M. A.; Stock, M. J. *Br J Pharmacol* 1996, 117, 1355.
- (65) Simiand, J.; Keane, P. E.; Guitard, J.; Langlois, X.; Gonalons, N.; Martin, P.; Bianchetti, A.; Le Fur, G.; Soubrie, P. *Eur J Pharmacol* 1992, 219, 193.
- (66) Stemmelin, J.; Cohen, C.; Yalcin, I.; Keane, P.; Griebel, G. *Behav Brain Res* 2010, 206, 310.
- (67) www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00855530?term=amibegron&rank=1.
- (68) Fedorov, V. V.; Lozinsky, I. T. *Heart Rhythm* 2008, 5, 298.
- (69) Brixius, K.; Bloch, W.; Ziskoven, C.; Bolck, B.; Napp, A.; Pott, C.; Steinritz, D.; Jiminez, M.; Addicks, K.; Giacobino, J. P.; Schwinger, R. H. *Can J Physiol Pharmacol* 2006, 84, 1051.
- (70) Pott, C.; Brixius, K.; Bloch, W.; Ziskoven, C.; Napp, A.; Schwinger, R. H. *Pharmazie* 2006, 61, 255.
- (71) Baker, J. G. *Br J Pharmacol* 2005, 144, 317.
- (72) Muzzin, P.; Boss, O.; Mathis, N.; Revelli, J. P.; Giacobino, J. P.; Willcocks, K.; Badman, G. T.; Cantello, B. C.; Hindley, R. M.; Cawthorne, M. A. *Mol Pharmacol* 1994, 46, 357.
- (73) Candelore, M. R.; Deng, L.; Tota, L.; Guan, X. M.; Amend, A.; Liu, Y.; Newbold, R.; Cascieri, M. A.; Weber, A. E. *J Pharmacol Exp Ther* 1999, 290, 649.
- (74) Michel, M. C.; Harding, S. E.; Bond, R. A. *Br J Pharmacol* 2011, 162, 817.
- (75) Tasler, S.; Baumgartner, R.; Behr-Roussel, D.; Oger-Roussel, S.; Gorny, D.; Giuliano, F.; Ney, P. *Eur J Pharm Sci* 2012, 46, 381.
- (76) Dooley, D. J.; Bittiger, H.; Reymann, N. C. *Eur J Pharmacol* 1986, 130, 137.
- (77) Dooley, D. J.; Bittiger, H.; Reymann, N. C. *Eur J Pharmacol* 2012, 130, 137.
- (78) Hoffmann, C.; Leitz, M. R.; Oberdorf-Maass, S.; Lohse, M. J.; Klotz, K. N. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004, 369, 151.
- (79) Furse, K. E.; Lybrand, T. P. *J Med Chem* 2003, 46, 4450.
- (80) Harada, H.; Hirokawa, Y.; Suzuki, K.; Hiyama, Y.; Oue, M.; Kawashima, H.; Yoshida, N.; Furutani, Y.; Kato, S. *Bioorg Med Chem Lett* 2003, 13, 1301.
- (81) Hattori, K.; Orita, M.; Toda, S.; Imanishi, M.; Itou, S.; Nakajima, Y.; Tanabe, D.; Washizuka, K.; Araki, T.; Sakurai, M.; Matsui, S.; Imamura, E.; Ueshima, K.; Yamamoto, T.; Yamamoto, N.; Ishikawa, H.; Nakano, K.; Unami, N.; Hamada, K.; Matsumura, Y.; Takamura, F. *Bioorg Med Chem Lett* 2009, 19, 4679.
- (82) Hattori, K.; Toda, S.; Imanishi, M.; Itou, S.; Nakajima, Y.; Washizuka, K.; Araki, T.; Hamashima, H.; Tomishima, Y.; Sakurai, M.; Matsui, S.; Imamura, E.; Ueshima, K.; Yamamoto, T.; Yamamoto, N.; Ishikawa, H.; Nakano, K.; Unami, N.; Hamada, K.; Matsumura, Y.; Takamura, F. *J Med Chem* 2009, 52, 3063.

- (83) Imanishi, M.; Tomishima, Y.; Itou, S.; Hamashima, H.; Nakajima, Y.; Washizuka, K.; Sakurai, M.; Matsui, S.; Imamura, E.; Ueshima, K.; Yamamoto, T.; Yamamoto, N.; Ishikawa, H.; Nakano, K.; Unami, N.; Hamada, K.; Matsumura, Y.; Takamura, F.; Hattori, K. *J Med Chem* 2008, 51, 1925.
- (84) Mizuno, K.; Sawa, M.; Harada, H.; Taoka, I.; Yamashita, H.; Oue, M.; Tsujiuchi, H.; Arai, Y.; Suzuki, S.; Furutani, Y.; Kato, S. *Bioorg Med Chem* 2005, 13, 855.
- (85) Mizuno, K.; Sawa, M.; Harada, H.; Tateishi, H.; Oue, M.; Tsujiuchi, H.; Furutani, Y.; Kato, S. *Bioorg Med Chem Lett* 2004, 14, 5959.
- (86) Nakajima, Y.; Imanishi, M.; Itou, S.; Hamashima, H.; Tomishima, Y.; Washizuka, K.; Sakurai, M.; Matsui, S.; Imamura, E.; Ueshima, K.; Yamamoto, T.; Yamamoto, N.; Ishikawa, H.; Nakano, K.; Unami, N.; Hamada, K.; Hattori, K. *Bioorg Med Chem Lett* 2008, 18, 5037.
- (87) Sawa, M.; Mizuno, K.; Harada, H.; Tateishi, H.; Arai, Y.; Suzuki, S.; Oue, M.; Tsujiuchi, H.; Furutani, Y.; Kato, S. *Bioorg Med Chem Lett* 2005, 15, 1061.
- (88) Sawa, M.; Tateishi, H.; Mizuno, K.; Harada, H.; Oue, M.; Tsujiuchi, H.; Furutani, Y.; Kato, S. *Bioorg Med Chem Lett* 2004, 14, 5963.
- (89) Imanishi, M.; Itou, S.; Washizuka, K.; Hamashima, H.; Nakajima, Y.; Araki, T.; Tomishima, Y.; Sakurai, M.; Matsui, S.; Imamura, E.; Ueshima, K.; Yamamoto, T.; Yamamoto, N.; Ishikawa, H.; Nakano, K.; Unami, N.; Hamada, K.; Matsumura, Y.; Takamura, F.; Hattori, K. *J Med Chem* 2008, 51, 4002.
- (90) Imanishi, M.; Nakajima, Y.; Tomishima, Y.; Hamashima, H.; Washizuka, K.; Sakurai, M.; Matsui, S.; Imamura, E.; Ueshima, K.; Yamamoto, T.; Yamamoto, N.; Ishikawa, H.; Nakano, K.; Unami, N.; Hamada, K.; Matsumura, Y.; Takamura, F.; Hattori, K. *J Med Chem* 2008, 51, 4804.
- (91) Kumar, P. S.; Bharatam, P. V. *Arkivoc* 2005, 67.
- (92) Kumar, P. S.; Bharatam, P. V. *Med Chem Res* 2010, 19, 1121.
- (93) Narasimhan, B.; Sharma, D.; Kumar, P. *Med Chem Res* 2012, 21, 269.
- (94) Mella-Raipan, J. A.; Lagos, C. F.; Recabarren-Gajardo, G.; Espinosa-Bustos, C.; Romero-Parra, J.; Pessoa-Mahana, H.; Iturriaga-Vasquez, P.; Pessoa-Mahana, C. D. *Molecules* 2013, 18, 3972.
- (95) Pessoa-Mahana, H.; Nunez, C. U.; Araya-Maturana, R.; Barria, C. S.; Zapata-Torres, G.; Pessoa-Mahana, C. D.; Iturriaga-Vasquez, P.; Mella-Raipan, J.; Reyes-Parada, M.; Celis-Barros, C. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2012, 60, 632.
- (96) Alvarez-Figueroa, M. J.; Pessoa-Mahana, C. D.; Palavecino-Gonzalez, M. E.; Mella-Raipan, J.; Espinosa-Bustos, C.; Lagos-Munoz, M. E. *AAPS PharmSciTech* 2011, 12, 573.
- (97) Recabarren-Gajardo, G.; Gacitúa, M.; Murueva, I.; Romero, J.; Espinosa, C.; Mella-Raipán, J.; Valle, M. d.; Pessoa, C.; Tapia, R. *Journal of Physical Organic Chemistry* 2011, 24, 1179.
- (98) Pessoa, D.; Espinosa, C.; Mella, J.; Canales, J.; Pessoa, H. *Arkivoc* 2009, 12, 131.
- (99) Vásquez, D.; Lagos, C.; Mella, J.; González, L.; Ebensperger, R.; Álvarez, M.; Pessoa, D. *Journal of the Chilean Chemical Society* 2007, 52, 1281.
- (100) Pessoa, D.; Espinosa, C.; Mella, J.; Pessoa, H. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2010, 21, 63.

RESEARCH ARTICLE

CYCLOALKYLTHIOPHENYLISOPROPYLAMINE DERIVATIVES ARE BETTER MONOAMINE OXIDASE INHIBITORS THAN THEIR OPEN CHAIN ANALOGUES

Marcelo Vilches-Herrera¹, Angélica Fierro², Susan Lühr¹, Juan Miranda-Sepúlveda³, Patricio Iturriaga-Vásquez⁵, Miguel Reyes-Parada^{3,4,*}, and Bruce K. Cassels^{1,*}

¹Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Chile, Casilla 653, Santiago, Chile. ²Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. ³School of Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Santiago de Chile, Alameda 3363, Santiago, Chile. ⁴Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Chile. ⁵Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile.

ABSTRACT

(±)-2-(4-Pentyl- and hexylthiophenyl)-2-aminopropane and their corresponding cyclopentylthio and cyclohexylthio analogues were synthesized and evaluated as monoamine oxidase A and B inhibitors. The cycloalkyl compounds are almost three times more potent at MAO-A than their open chain counterparts. This result is discussed on the basis of their binding modes as evaluated in docking studies.

Keywords: Monoamine oxidase, MAO inhibitors, *p*-substituted amphetamine derivatives, substituent conformation, docking.

Rev. Farmacol. Chile (2016) 9 (2) 39-42

Received 2-10-2016; Revised 20-10-2016; Accepted 24-10-2016

1) INTRODUCTION

Monoamine oxidase (MAO, E.C. 1.4.3.4) is a key enzyme in the inactivation of neurotransmitter monoamines. Inhibitors of the two isoforms, MAO-A and -B, are used in the treatment of depression and Parkinson's disease, respectively (1). More than a decade ago we showed that (±)-4-methylthioamphetamine (MTA) is a potent, selective and reversible inhibitor of rat MAO-A, while its *S*-ethyl (ETA) and *S*-isopropyl (ITA) analogues, respectively, are slightly more and less potent (2). More recently, in the (S)(+)-4-alkylthiophenylisopropylamine series, ETA was again found to be the most potent compound vs. the rat enzyme, followed closely by the propylthio, methylthio (MTA) and butylthio analogues, in that order. However, the K_i values of these substances vs. human MAO-A decrease almost linearly from (S)-MTA to (S)-4-butylthioamphetamine. Docking studies indicated that, in the human MAO-A binding site, all four compounds bind with the alkylthio group fitting into the "aromatic cage" formed by the flavin cofactor's isoalloxazine ring and two tyrosine residues, while in rat MAO-A this

orientation is only adopted by (S)-MTA and -ETA, with the higher homologues pointing the 4-substituent away from this region and towards the hydrophobic channel near the entrance to the binding site. Nonetheless, regardless of the orientation in either enzyme, the longer alkyl chains seem to prefer a more or less folded conformation (3). Furthermore, considering that even the fairly short butyl group of (+)-4-butylthioamphetamine appears to be coiled when the molecule is docked into the binding site of both human and rat MAO-A, it seems reasonable to propose that this is also true of longer substituents, and that the interaction of cycloalkyl analogues with the enzymes might be favoured by their more appropriate length and by the entropic advantage conferred by their "precoiled" conformations. To test this hypothesis we have now synthesized the (±)-4-alkylthiophenylisopropylamine homologues with pentylthio and hexylthio substituents, and compared them with the corresponding cyclopentylthio and cyclohexylthio analogues.

Correspondence to: Dr. Bruce K. Cassels, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Chile. Address: Casilla 653, Santiago, Chile. Phone: 56 2 22713881; Fax: 56 2 2713888. E-mail: bcassels@uchile.cl; Dr. Miguel Reyes-Parada, Faculty of Medical Sciences, University of Santiago de Chile. Address: Alameda 3363, Santiago, Chile. Phone: 56 2 27183526; Fax: 56 2 26817602. E-mail: miguel.reyes@usach.cl

2) MATERIALS AND METHODS.

2.1) Chemistry:

All reagents and solvents were commercially available and were used without further purification. The phenylisopropylamines (**1-4**) were synthesized following standard published methods (4,5), which involved the condensation of appropriately substituted aromatic aldehydes with nitroethane, the subsequent reduction of the corresponding nitrostyrenes with LiAlH_4 and the final preparation of the amine hydrochloride. Melting points are uncorrected and were determined with a Reichert Galen III hot plate microscope. ^1H NMR spectra were recorded using a Bruker AMX 400 spectrometer at 400 MHz. Chemical shifts are reported relative to TMS ($\delta = 0.00$) or HDO ($\delta = 4.79$) and coupling constants (J) are given in Hz. The elemental analyses for C, H, N and S were performed on a CE Instruments (model EA 1108) analyzer. Purity of compounds was also assessed by HPLC.

General procedure for the preparation of 1-(4-alkyl- or cycloalkylthiophenyl)-2-aminopropane hydrochlorides

LiAlH_4 (10 mmol) was suspended in dry THF (60 ml) with good stirring. Then, the corresponding nitrostyrene (1 mmol) dissolved in THF (30 ml) was added dropwise. The reaction mixture was refluxed and stirred for 3 days. After cooling to room temperature, excess hydride was destroyed by dropwise addition of water and then NaOH (15%; 3:1 in relation to the hydride). The mixture was filtered to remove the insoluble salts, dried with Na_2SO_4 and the solvent evaporated under reduced pressure. In all cases the amine was obtained as an oil that was purified by distillation using a Kugelrohr device. The product was taken up into a minimal quantity (3 ml) of 2-propanol and converted to the hydrochloride by adding concentrated HCl (4-5 drops). The solution was diluted with anhydrous ether, which resulted in the formation of white crystals.

1-(4-Pentylthiophenyl)-2-aminopropane hydrochloride (1). mp 109.2-111.3 °C. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 7.24 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, ArH), 7.14 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, ArH), 3.30 (m, 1H, $\text{ArCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NH}_2^+$), 2.89 (t, 3H, $J = 7.3$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$, ArCH₂), 2.59 (dd, 1H, $J_1 = 8.8$ Hz, $J_2 = 13.4$ Hz, ArCH), 1.52 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.27 (m, 4H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.06 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, $\text{ArCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NH}_2^+$), 0.81 (t, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$). Anal. calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{ClNS}\cdot\text{H}_2\text{O}$: C, 57.61; H, 8.98; N, 4.80; S, 10.99. Found C, 57.44; H, 9.52; N, 4.99; S, 11.92.

1-(4-Hexylthiophenyl)-2-aminopropane hydrochloride (2). mp 115.3-116.5 °C. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 7.23 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, ArH), 7.14 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, ArH), 3.30 (m, 1H, $\text{ArCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NH}_2^+$), 2.89 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$, ArCH₂), 2.59 (dd, 1H, $J_1 = 8.8$ Hz,

$J_2 = 13.4$ Hz, ArCH), 1.51 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.33 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.21 (m, 4H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.05 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, $\text{ArCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NH}_2^+$), 0.81 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$). Anal. calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{ClNS}\cdot\text{H}_2\text{O}$: C, 58.89; H, 9.23; N, 4.58; S, 10.48. Found C, 59.34; H, 10.08; N, 4.88; S, 12.05.

1-(4-Cyclopentylthiophenyl)-2-aminopropane hydrochloride (3). mp 174.5-176.0 °C. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 7.26 (d, 2H, $J = 7.6$ Hz, ArH), 7.14 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz, ArH), 3.63 (m, 1H, $\text{ArCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NH}_3^+\text{Cl}^-$), 3.32 (m, 1H, ArSCH [CH₂]₄), 2.91 (dd, $J_1 = 5.3$ Hz, $J_2 = 13.4$ Hz, 1H, ArCH), 2.60 (dd, 1H, $J = 8.8$ Hz, $J = 13.4$ Hz, ArCH), 1.97 (m, 2H, cyclopentyl CH₂), 1.65 (m, 2H, cyclopentyl CH₂), 1.54 (m, 2H, cyclopentyl CH₂), 1.44 (m, 2H, cyclopentyl CH₂), 1.05 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, $\text{ArCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NH}_2^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{ClNS}\cdot\text{H}_2\text{O}$: C, 58.01; H, 8.35; N, 4.83; S, 11.06. Found C, 59.51; H, 9.05; N, 5.15; S, 13.17.

1-(4-Cyclohexylthiophenyl)-2-aminopropane hydrochloride (4). mp 146.7-147.9 °C. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 7.29 (d, 2H, $J = 7.6$ Hz, ArH), 7.15 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz, ArH), 3.34 (m, 1H, $\text{ArCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NH}_2^+$), 3.18 (m, 1H, SCH-[CH₂]₅), 2.91 (dd, $J_1 = 5.3$ Hz, $J_2 = 13.4$ Hz, 1H, ArCH), 2.61 (dd, 1H, $J_1 = 8.6$ Hz, $J_2 = 13.1$ Hz, ArCH), 1.85 (m, 2H, cyclohexyl CH₂), 1.64 (m, 2H, cyclohexyl CH₂), 1.52 (m, 1H, cyclohexyl), 1.25 (m, 5H, cyclohexyl), 1.06 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, $\text{ArCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NH}_2^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{ClNS}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 55.97; H, 8.77; N, 4.35; S, 9.96. Found C, 56.85; H, 8.85; N, 4.85; S, 11.66.

2.2) Biochemistry:

All experimental procedures were approved by the Ethics Committee of the University of Santiago de Chile and the Science Council (FONDECYT) of Chile and followed internationally accepted guidelines (NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals).

The effects of the compounds on rat MAO-A or MAO-B activities were studied following previously reported methodologies (2), using a crude rat brain mitochondrial suspension as a source of enzyme. Serotonin (100 μM) and 4-dimethylaminophenylethylamine (5 μM) were used as selective substrates for MAO-A and -B, respectively, and these compounds and their metabolites were detected by HPLC with electrochemical detection as described previously (2). IC₅₀ values (mean \pm SD from at least two independent experiments, each in triplicate) were determined using Prism Graph Pad software, from plots of inhibition percentages (calculated in relation to a sample of the enzyme treated under the same conditions without inhibitors) vs. -log inhibitor concentration. K_i were calculated from the IC₅₀ values using the Cheng-Prusoff equation: $K_i = \text{IC}_{50} / (1 + [\text{S}] / K_m)$ (6), assuming that the inhibition was competitive, as has been shown for related phenylisopropylamine derivatives (3,7).

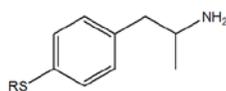
2.3) Molecular Simulation:

The crystallographic data of rMAO-A (PDB: 1O5W) were used for all calculations. The Autodock 3.05 suite [10] was then used to perform the docking simulations and conditions were as previously reported (3). Although both enantiomers of the compounds were studied, in all cases the results obtained for the (S)-isomers were used for the analysis.

3) RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 summarizes the effects of compounds **1-4** on both rat enzyme isoforms. Following the generally observed tendency for other 4-alkylthiophenylisopropylamine derivatives (2,9), all four compounds exhibited selective MAO-A inhibitory properties with K_i values in the low micromolar to submicromolar range. In pairs **1-2** and **3-4**, extension of the alkylthio chain by just one methylene group results in a seven-fold decrease of the inhibitory activity, confirming that the enzyme's active site does not tolerate unduly long substituents at the *para* position of the ligand's aromatic ring. This observation agrees with previous reports indicating that the maximum inhibitory potency towards rat MAO-A was attained with an alkylthio chain containing two carbon atoms (2,3).

Table 1.



Compound	R	K_i [μ M]	
		MAO-A	MAO-B
1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_1$ -	0.52 ± 0.04	14.5 ± 0.5
2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2$ -	3.47 ± 0.41	11.0 ± 0.9
3	Cyclopentyl-	0.19 ± 0.02	17.0 ± 0.4
4	Cyclohexyl-	1.24 ± 0.09	13.0 ± 0.6

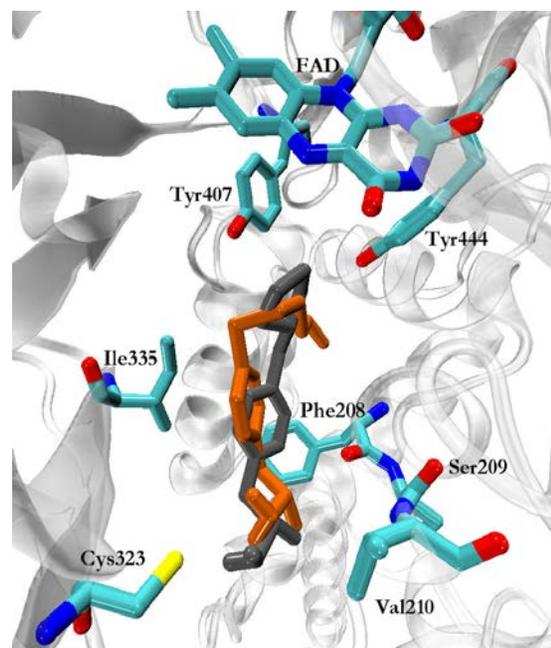
Inhibition constants of 4-alkylthiophenylisopropylamine derivatives vs. rat MAO-A and -B.

As proposed in our hypotheses, the cyclization of the pentyl- and hexylthio substituents caused an increase in the inhibitory potency vs. rat MAO-A. Molecular modelling of the environment surrounding the binding poses of **1** and **3** into the active site of MAO-A (Figure 1) suggests that both compounds orient their benzene ring to establish π interactions with the aromatic ring of Phe208 and form a hydrogen bond between their amino group and the Cys323 residue. The amino group points away from the flavin ring,

and both the pentyl and the cyclopentyl groups occupy a similar region in the enzyme's active site, close to the aromatic cage, with the pentyl group showing a strongly coiled conformation.

As can be seen in Figure 1, the phenylisopropylamine benzene rings do not reside in exactly the same position since the aromatic ring of **3** is closer by approximately 1Å to Phe208. This residue has been shown to be particularly relevant to interactions with different families of MAO inhibitors (10-12). Therefore the almost threefold potency increase observed for compound **3** as compared to **1** may be attributed to a lower entropic expenditure upon binding to the MAO active site, and also to the more compact structure of the substituent which allows the benzene ring to occupy an apparently more favourable position for the π - π interaction.

Figure 1.

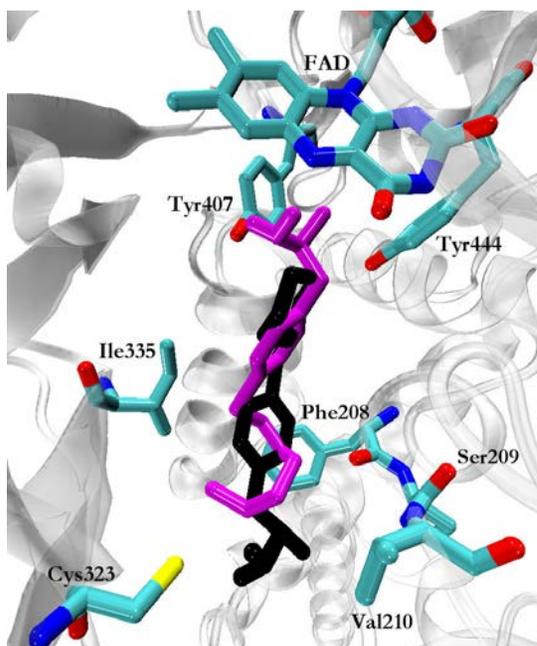


Superimposed structures of compounds **1** (orange) and **3** (gray) docked into the active site of rat MAO-A.

Unlike **1** and **3**, compound **2**, the least potent inhibitor of this series, orients its aminoalkyl group toward the cofactor. This orientation might be related to the large bulk of the hexylthio group, which could prevent it from approaching the aromatic cage. It is noteworthy that the same change in orientation occurs upon going from the more potent methyl- and ethylthio- to the propyl- and butylthio analogues (3). On the contrary, in **4** the

aminoalkyl group once more faces the entrance of the active site cavity, also forming a hydrogen bond with Cys323. Comparing the docking poses of **2** and **4** (Figure 2), the aromatic ring of the former is about 4Å closer to the isoalloxazine ring than that of the latter, causing it to lose the important interaction with Phe 208. Given the different binding orientations of these two analogues, we cannot insist on the importance of “precoiling” from the entropic standpoint, but the cyclohexyl group clearly allows more favourable interactions with the enzyme than the linear substituent, which may explain the almost threefold difference in potency of **2** and **4**.

Figure 2.



Superimposed structures of compounds **2** (purple) and **4** (black) docked into the active site of rat MAO-A.

4) CONCLUSION

In summary, the precoiled substituent conformations of 4-alkylthioamphetamine derivatives are favoured over their linear counterparts not only because of the lesser entropic penalty for them to adopt an appropriate binding orientation, but also because they allow optimal binding modes required for effective interaction with the active site of the enzyme.

5) DECLARATION OF INTEREST

The authors report no declarations of interest. This work was partially funded by FONDECYT Grants 113-0185 (M. R-P.), 115-0615 (P. I-V.) and 116-1375 (A.F).

REFERENCES:

1. Youdim MBH, Edmondson D, Tipton KF. The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors. *Nat Rev Neurosci* 2006; 7:295-309.
2. Scorza MC, Carrau C, Silveira R, Zapata-Torres G, Cassels BK, Reyes-Parada M. Monoamine oxidase inhibitory properties of some methoxylated and alkylthio amphetamine derivatives. Structure-activity relationships. *Biochem Pharmacol* 1997; 54:1361-1369.
3. Fierro A, Osorio-Olivares M, Cassels BK, Edmondson DE, Sepúlveda-Boza S, Reyes-Parada M. Human and rat monoamine oxidase-A are differentially inhibited by (S)-4-alkylthioamphetamine derivatives: insights from molecular modeling studies. *Bioorg Med Chem* 2007; 15:5198-5206.
4. Hurtado-Guzmán C, Fierro A, Iturriaga-Vásquez P, Sepúlveda-Boza S, Cassels BK, Reyes-Parada M. Monoamine oxidase inhibitory properties of optical isomers and N-substituted derivatives of 4-methylthioamphetamine. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2003; 4:339-347.
5. Shulgin AT, Shulgin A. PIHKAL a Chemical Love Story. Berkeley, CA: Transform Press, 1992.
6. Cheng Y, Prusoff WH. Relationship between the inhibition constant (K1) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I50) of an enzymatic reaction. *Biochem Pharmacol* 1973; 22:3099-3108.
7. Arai Y, Kim SK, Kinemuchi H, Tadano T, Satoh SE, Satoh N, Kisara K. Inhibition of brain type A monoamine oxidase and 5 hydroxytryptamine uptake by two amphetamine metabolites, p-hydroxyamphetamine and p-hydroxynorephedrine. *J Neurochem* 1990; 55:403-408.
8. Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, Huey R, Hart WE, Belew RK, Olson AJ. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and empirical binding free energy function. *J Computat Chem* 1998; 19:1639-1662.
9. Gallardo-Godoy A, Fierro A, McLean TH, Castillo M, Cassels BK, Reyes-Parada M, Nichols DE. Sulfur-substituted α -alkyl phenethylamines as selective and reversible MAO-A inhibitors: Biological activities, CoMFA analysis, and active site modeling. *J Med Chem* 2005; 48:2407-2419.
10. Chimenti F, Maccioni E, Secci D, Bolasco A, Chimenti P, Granese A, Befani O, Turini P, Alcaro S, Ortuso F, Cardia MC, Distinto S. Selective inhibitory activity against MAO and molecular modeling studies of 2-thiazolylhydrazone derivatives. *J Med Chem* 2007; 50:707-712.
11. Morón JA, Campillo M, Pérez V, Unzeta M, Pardo L. Molecular determinants of MAO selectivity in a series of indolylmethylamine derivatives: biological activities, 3D-QSAR/CoMFA analysis, and computational simulation of ligand recognition. *J Med Chem* 2000; 43:1684-1691.
12. Jones TZ, Giurato L, Guccione S, Ramsay RR. Interactions of imidazoline ligands with the active site of purified monoamine oxidase A. *FEBS J* 2007; 274:1567-1575.

XXXVIII CONGRESO ANUAL SOCIEDAD DE FARMACOLOGÍA DE CHILE



Presidente
Dr. Ramón Sotomayor Zárate
 e-mail: ramon.sotomayor@uv.cl
 Universidad de Valparaíso



Vice-presidente
Dr. Edgar Pastene N.
 e-mail: epastene@udec.cl
 Universidad de Concepción



Secretaria General
Dr. Georgina M. Renard
 e-mail: georgina.renard@uv.cl
 Universidad de Valparaíso



Past-President
Dr. Rafael Burgos Aguilera
 e-mail: rburgos1@uach.cl
 Universidad Austral de Chile



Tesorera
Dra. Viviana Noriega
 e-mail: vnoriega@ciq.uchile.cl
 Universidad Andrés Bello



Director
Dr. Rodrigo Castillo Peñaloza
 e-mail: rodrigouch@gmail.com
 Universidad de Chile



Director
Dr. Pablo Jara Picas
 e-mail: pablo.jara.p@usach.cl
 Universidad de Santiago de Chile



Director
Dr. Jorge Fuentealba Arcos
 e-mail: jorgefuentealba@udec.cl
 Universidad de Concepción



EDITORIAL XXXVIII CONGRESO ANUAL SOCIEDAD DE FARMACOLOGÍA DE CHILE

Estimados Socios, Invitados y Participantes

A nombre de la Directiva de la Sociedad de Farmacología de Chile (SOFARCHI), les doy la bienvenida a nuestro XXXVIII Congreso Anual de la Sociedad de Farmacología de Chile, que en esta oportunidad se desarrolla en el Hotel Enjoy de la Isla, en la hermosa ciudad de Castro, Chiloé. Cabe señalar, que esta es la primera vez que nuestra sociedad u otra sociedad científica básica, realiza un congreso en este lugar. Estamos seguros que la belleza de la ciudad de Castro y sus alrededores dará el marco propicio para disfrutar de esta gran reunión.

El programa científico de nuestro congreso ha sido desarrollado con la colaboración de muchos de nuestros socios, los que han apoyado permanentemente la realización de este congreso. Para todos ellos, que con sus proyectos de investigación han permitido la venida a Chile de conferencistas y simposistas de primer nivel, va nuestro agradecimiento, por su enorme colaboración y generosidad con nuestra sociedad.

El XXXVIII Congreso Anual de la Sociedad de Farmacología de Chile, comprende la realización de 6 conferencias plenarias (4 internacionales y 2 nacionales), 9 simposios en los que exponen 29 simposistas, 11 comunicaciones orales, de las cuales 9 corresponden a incorporaciones de jóvenes farmacólogos a la SOFARCHI y 161 comunicaciones en paneles. Además, entre los inscritos se encuentran 34 académicos líderes de grupos de investigación en Chile y el extranjero, sumando en total 240 participantes. Este es sin duda, el congreso más exitoso organizado por nuestra sociedad en los últimos años.

En esta ocasión contamos nuevamente con el valioso patrocinio y auspicio de 6 empresas nacionales dedicadas al área de insumos de laboratorio. Les agradecemos sinceramente el apoyo constante brindado a través de estos años.

Como presidente de la SOFARCHI quiero agradecer a toda la directiva su incondicional apoyo a mi gestión y muy en especial a la Dra. Viviana Noriega, la Dra. Georgina M. Renard y la Sra. Claudia Arce. Sin vuestro apoyo y gran calidad profesional, no habría sido posible realizar la gestión de esta presidencia de la forma que nos propusimos.

Espero que disfruten las actividades académicas y sociales que hemos preparado para ustedes y que este congreso sea una oportunidad para conocer los nuevos avances científicos obtenidos tanto en nuestro país como en aquellos que nos visitan en la voz de sus participantes. Tomemos este encuentro para establecer futuras colaboraciones y fortalecer las ya existentes, desde este lugar al Sur de Chile, en medio de los paisajes más hermosos del fin del mundo.



Dr. Ramón Sotomayor-Zárate
Presidente SOFARCHI (2015-2016)

PLANIFICACIÓN HORARIA DE ACTIVIDADES (SCHEDULES)

Horario	Sábado 26-11-2016	Horario	Domingo 27-11-2016	Horario	Lunes 28-11-2016	Horario	Martes 29-11-2016	
9:00	Registro Ballroom	9:00	Simposio 3 "Fuentes Naturales de compuestos bioactivos: innovación en nuevas aplicaciones farmacológicas y biomédicas". Coordina: Dra. Jacqueline Sepúlveda (UDEC) 09:00 - 11:00 hrs	9:00	Simposio 5 "Neurocircuitries involved in Drug Addiction: novel therapeutic dianas". Coordina: Dr. Mario Herrera-Marschitz (UCH) 09:00 - 11:00 hrs	9:00	Simposio 7 "Actualidad latinoamericana de la farmacología en odontología". Coordina: Dr. José Antonio Jara (UCH) 09:00 - 11:00 hrs	
11:00		11:00	Break Café	11:00	Break Café	11:00	Break Café	
11:00		11:30	11:30	Conferencia SAFE: Dr. Ventura Simonovich , "Impacto clínico de la relación entre la Industria Farmacéutica y la Farmacología Académica en el desarrollo de fármacos sustentables". Presenta: Dra. Georgina M. Renard (UV) 11:30 - 12:30 hrs	11:30	Conferencia: Dr. Rainer Spanagel , "New Treatment Options for Addiction: A continuous battle for cures". Presenta: Dr. Mario Herrera-Marschitz (UCH) 11:30 - 12:30 hrs	11:30	Conferencia: Dra. Isabel Bermúdez , "Agonist sites are modulated by adjacent subunit interfaces in the alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptor". Presenta: Dr. Patricio-Iturriaga-Vásquez (UFRO) 11:30 - 12:30 hrs
12:30		12:30	12:30	Sesión 1 Comunicaciones Orales 12:30 - 14:00 hrs	12:30	Sesión 2 Comunicaciones en Paneles 12:45 - 14:45 hrs	12:30	Sesión 12 Comunicaciones Orales 12:30 - 14:00 hrs
13:30		13:30	14:00	Almuerzo Libre	14:00		14:00	Almuerzo Libre
15:00	Simposio 1 "La barrera intestinal como un blanco farmacológico en el tratamiento de desórdenes sistémicos". Coordina: Dra. Marcela Julio (PUCV) 15:00 - 16:30 hrs	15:30	Simposio 4 "Avances recientes en la neurobiología del dolor: nuevos blancos moleculares para el desarrollo farmacológico". Coordina: Dr Gonzalo Yevénes (UDEC) 15:30 - 17:30 hrs	15:00	Tarde Libre (Free time)	15:30	Simposio 8 "Nuevas perspectivas sobre el mecanismo de acción y efectos farmacológicos de Metformina". Coordina: Dr. Gonzalo Cruz (UV) 15:30 - 17:00 hrs	
16:30	16:30	17:30	Break Café	17:00		17:00	Break Café	
17:00	Simposio 2 "Nuevas estrategias farmacológicas en la prevención de la enfermedad coronaria y sus factores de riesgo: desde el modelo animal al ensayo clínico". Coordina: Dr. Rodrigo Castillo (UCH) 17:00 - 18:30 hrs	18:00	Conferencia: Dr. Martin Gotteland , "Interacción de los polifenoles dietarios con la microbiota intestinal - Implicación sobre la salud". Presenta: Dr. Edgar Pastene (UDEC) 18:00 - 19:00 hrs			17:30	Simposio 9 "Micro y Nanoencapsulación terapéutica". Coordina: Dr. Marcos Fernández (UDEC) 17:30 - 19:00 hrs	
18:30	Conferencia Inaugural: Dr. Francisco Ciruela , "Optopharmacology: lighting up G protein-coupled receptors in the brain". Presenta: Dra. Katia Gysling (PUCCH) 18:30 - 19:30 hrs	19:00	Sesión 1 Comunicaciones en Paneles 19:15 - 21:00 hrs			19:00	Conferencia Cierre: Dr. Luis G. Aguayo , "¿Qué sabemos de los efectos del etanol en receptores inhibitorios del cerebro?". Presenta: Dr. Jorge Fuentealba Arcos (UDEC) 19:00 - 20:00 hrs	
19:30	Apertura	↓		↓	20:00	20:00	Cierre	
20:30	Coctel	↓	↓	22:00	22:00	Cena		
21:30	Inaugural	21:00	↓	↓	↓	Clausura (Bailable)		

CONFERENCIAS (LECTURES)

CONFERENCIA INAUGURAL

OPTOFARMACOLOGÍA: ILUMINANDO LOS RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNA G EN EL CEREBRO. Optopharmacology: lighting up G protein-coupled receptors in the brain.

Ciruela, F.

Unitat de Farmacologia, Departament Patologia i Terapèutica Experimental, Facultat de Medicina, IDIBELL, Universitat de Barcelona, Spain.

Optogenetic approaches are viewed as very promising approaches to tackle physiological processes, and eventually for space and time-controlled therapeutic interventions. However, the need for transgenes has limited the development of these approaches. An alternative is based on optopharmacology, which consists of using photoactivable drugs, which can generate specific biological responses upon irradiation with light. Thus, this defines a temporal and spatial control of ligand effects on the receptor, which can be translated to cellular proteins and ultimately to the local regulation of activity in vivo. We have developed several photochromic G protein-coupled receptor ligands, either photoisomerizable or photocaged compounds, which allow receptor photocontrol both in vitro and in vivo. For instance, we engineer a photoisomerizable and non-selective adenosine receptor agonist which in the dark (relaxed isomer) behaved as a partial adenosine A2A receptor agonist while upon irradiation (i.e. 460 nm) it became an A2AR antagonist (1). Hence, we developed a new light-switchable adenosine receptor ligand that changes its intrinsic activity upon irradiation. Also, some photoswitchable negative allosteric modulators (NAM) of metabotropic glutamate receptor subtype 5 (mGlu5) were developed and its effective translation into in vivo receptor photoswitching was attempted (i.e. antinociceptive effect in mice) (2). However, since photoisomerizable drugs show activity in dark conditions (i.e. cis-on) we implemented a caging strategy to generate photochromic compounds without activity in dark. Accordingly, we developed a caged mGlu5 receptor NAM, based on the chemical transformation of raseglurant, which was shown to induce light-dependent analgesia in mice models of inflammatory and neuropathic pain (3). Importantly, the ability to resolve analgesia with a high time and space resolution confers to this work a high significance and novelty for further development of new photochromic drugs acting at different levels of the pain neuraxis. In addition, the technical solutions developed are conceptually simple and can be easily extended to other molecules, receptor families and brain areas.

Area de la Farmacología: Tecnología farmacológica, farmacología molecular, neurofarmacología

Dirección de Correo: fciruela@ub.edu

Agradecimientos: This work was supported by MINECO/ISC III (SAF2014-55700-P, PCIN-2013-019-C03-03 and PIE14/00034), IWT (SBO-140028) and Fundació la Marató de TV3 (Grant 20152031) to FC.

CONFERENCIA SAFE (SOCIEDAD ARGENTINA DE FARMACOLOGÍA EXPERIMENTAL)

IMPACTO CLÍNICO DE LA RELACIÓN ENTRE LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA Y LA FARMACOLOGÍA ACADÉMICA EN EL DESARROLLO DE FÁRMACOS SUSTENTABLES. Clinical impact of the relationship between Pharmaceutical Industry and sustainable drug development.

Simonovich, V.A.

Sección Farmacología Clínica. Servicio de Clínica Médica. Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

La relación entre la industria farmacéutica y la academia siempre ha sido vista como una relación compleja, donde los conflictos de intereses parecen siempre estar interfiriendo. En esta conferencia veremos como se desarrolla un fármaco de manera moderna, los diferentes conflictos de intereses de ambos lados y las causas de su eficiencia e ineficiencia, y como se puede construir un modelo sustentable para ello, contemplando las necesidades de la salud pública.

Area de la Farmacología: Farmacología Clínica

Dirección de Correo: ventura.simonovich@hospitalitaliano.org.ar

CONFERENCIA NACIONAL

INTERACCIÓN DE LOS POLIFENOLES DIETARIOS CON LA MICROBIOTA INTESTINAL: IMPLICACIÓN SOBRE LA SALUD.

Interaction of dietary polyphenols with the intestinal microbiota: Implication for human health.

Gotteland, M.; Cires, M.J.

Dpto. de Nutrición, Fac. de Medicina, Univ. de Chile

Los polifenoles (PFs) dietarios son no-nutrientes beneficiosos para la salud que se encuentran principalmente en frutas y bebidas como vino, té, café, chocolate y cerveza. En estos alimentos, se encuentran generalmente conjugados a uno o varios residuos de azúcar, aminas, ácidos carboxílicos u orgánicos, lípidos, fibras dietarias o a otro compuesto fenólico. Si bien no existen aportes dietarios recomendados para estos compuestos, se estima que su consumo es aproximadamente de 1 g/d. Los PFs en su mayoría (>80%) no se absorben en el intestino sino que se acumulan en el lumen, alcanzando finalmente el colon. Ahí son biotransformados por la microbiota intestinal (MI), resultando en la degradación de los polímeros (proantocianidinas) y en la liberación de las formas agliconas desde sus compuestos conjugados iniciales. Luego las agliconas son metabolizadas por las bacterias mediante fisión de los anillos aromáticos, α - o β -oxidación, deshidrogenación, deshidroxilación y desmetilación. Estos eventos generan una mezcla de metabolitos más simples tales como ácidos orgánicos aromáticos, catecol, γ -valerolactonas, equol, enterolactona, etc., que pueden actuar localmente sobre el epitelio colónico o ser absorbidos y ejercer efectos sistémicos. Por otra parte los PFs pueden actuar como prebióticos al modular la composición de la MI, favoreciendo el crecimiento de bacterias beneficiosas (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, bacterias productoras de butirato). Mediante este efecto, también modulan la producción de ácidos grasos volátiles y esteroides secundarios, y disminuyen la producción de metabolitos bacterianos de las proteínas nocivos para la salud (H₂S, p-cresol, NH₃, fenol, indol, escatol, etc).

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales
Dirección de Correo: mgottela@med.uchile.cl
Agradecimientos: Fondecyt 112-0290

CONFERENCIA INTERNACIONAL

NUEVAS OPCIONES DE TRATAMIENTO PARA LA ADICCIÓN: UNA BATALLA CONTINUA PARA LA CURA. New Treatment Options for Addiction: A continuous battle for cures.

Spanagel, R.

Institute of Psychopharmacology, Central Institute of Mental Health (ZI), University of Heidelberg, Germany.

I will discuss new treatment strategies that are based on pharmacological interventions, behavioural therapies and deep brain stimulation to reduce craving and relapse in alcohol-dependent patients. I will first provide a historical overview about relapse prevention strategies. I will then review the development of disulfiram, naltrexone, acamprostate, and nalmefene and discuss their neurobiological modes of action. Then the concept of convergent genomic analysis will be introduced for the discovery of new molecular treatment targets. Finally, we I provide convincing evidence for the use of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor channel blockers as substitution drugs. Important conclusions of this presentation are: (i) Learning from other addictive substances is very helpful—e.g., substitution therapies as applied to opiate addiction for decades could also be translated to alcoholics. (ii) The glutamate theory of alcohol addiction provides a convincing framework for the use of NMDA receptor antagonists as substitution drugs for alcohol-dependent patients. (iii) A combination of behavioral and pharmacological therapies may be the optimal approach for future treatment strategies—one promising example concerns the pharmacological disruption of reconsolidation processes of alcohol cue memories. (iv) Given that many neurotransmitter systems are affected by chronic alcohol consumption, numerous druggable targets have been identified; consequently, a “cocktail” of different compounds will further improve the treatment situation. (v) In silico psychopharmacology, such as drug repurposing will yield new medications, and finally, (vi) The whole organism has to be taken into consideration to provide the best therapy for our patients. In summary, there is no other field in psychiatric research that has, in recent years, yielded so many novel, druggable targets and innovative treatment strategies than for alcohol addiction. However, it will still be several years before the majority of the “treatment-seeking population” will benefit from those developments.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología
Dirección de Correo: rainer.spanagel@zi-mannheim.de

CONFERENCIA INTERNACIONAL

MODULACION DE LA FUNCION DE LOS RECEPTORES NICOTINICOS ALFA4BETA2. Non-agonist binding subunit interfaces and the function of alpha4beta2 nicotinic receptors.

Bermúdez, I.

Biological and Medical Sciences, Oxford Brookes University, UK.

Nicotinic receptors (nAChRs) are pentameric ligand-gated ion channels formed from homologous subunits, of which there are many different subtypes. In the brain, the vast majority of high-sensitivity 3H-nicotine binding sites are due to nAChRs containing $\alpha 4$ and $\beta 2$ subunits. These subunits assemble into pentamers with alternate subunit composition (alpha4beta2)₂beta2 and (alpha4beta2)₂alpha4. These two receptors differ in sensitivity to ACh, unitary current amplitude, selectivity for different agonists, antagonists, and potentiation by ions or drugs. The alternate stoichiometries are present in neurones and although they tend to co-express, there are regions in the brain such as the striatum, where only one stoichiometry is present. Recent studies of the (alpha4beta2)₂alpha4 nAChR have shown that this receptor type functions with three agonist sites, two of these are on the alpha4/beta2 interfaces of the receptor and are thus classical nAChR agonist sites, whereas the other site is on the $\alpha 4/\alpha 4$ interface, the signature interface of this receptor type. Pharmacological studies have shown convincingly that the site at the alpha4/alpha4 interface accounts for the unique pharmacology of the (alpha4beta2)₂alpha4 nAChRs and studies with chimeric receptors indicate that the extracellular N-terminal region of the alternate alpha4beta2 nAChRs is necessary and sufficient to define the pharmacological properties of the two receptor types. Using concatenated forms of the alpha4beta2 nAChRs, together with mutagenesis and the substituted cysteine scanning method, we examined how the alpha4/alpha4 and beta2/beta2 interfaces define the signature pharmacological properties of the alternate forms of the alpha4beta2 nAChRs. Our findings will be discussed in terms of their potential to inspire drug discovery programs focused on non-agonist binding subunit interfaces.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular

Dirección de Correo: iberbudez@brookes.ac.uk

Agradecimientos: Karina New, Simone Mazzaferro, Silvia Garcia del Villar.

CONFERENCIA DE CLAUSURA

¿QUE SABEMOS SOBRE LOS EFECTOS DE ETANOL EN RECEPTORES INHIBITORIOS EN EL CEREBRO?. What do we know about the effects of ethanol on inhibitory receptors in the brain?.

Aguayo, L.G.¹, Muñoz, B.¹, Lovinger, D.M.², and Homanics, G.E.³

¹University of Concepcion, Concepcion, Chile. ²National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA. ³University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA 15261, USA.

Alcohol abuse is a worldwide problem that causes major social, medical and economic burdens. Therefore, the search for novel, mechanistically oriented therapies is of utmost importance. However, after more than 20 years of studying ethanol effects on GABAAR, there is no agreement whether they are affected or not by pharmacological concentrations. On the other hand, basic residues in the intracellular loop of the glycine receptor (GlyR) $\alpha 1$ subunit (316-320 and 385/386) are important for the receptor's sensitivity to low concentrations of ethanol (5-50 mM). The pharmacological effects of the mutations are specific for ethanol, since the sensitivity to neurosteroids, isoflurane, propofol and Zn²⁺ are unchanged. Therefore, we generated and studied a Knock In (KI) mouse for $\alpha 1$ GlyRs with mutations in residues 385/386 of the receptor. The KI mice had normal behavior and most importantly did not display a hyperexcitable phenotype demonstrating that the mutation is primarily silent. The study of spinal and brain stem neurons with electrophysiological techniques showed that native GlyRs were less affected by ethanol- and G $\beta\gamma$ -mediated modulations. The data also showed that a tonic $\alpha 1$ GlyR-mediated current in accumbal neurons, that modulates neuronal excitability, was exclusively sensitive to ethanol only in WT mice. Behavioral studies demonstrated that the KI mice have higher binge drinking and conditioned place preference indicating that GlyRs in the nAc may have a protective role against abuse. Interestingly, the mice exhibited a reduced loss of righting reflex (LORR) time when compared with WT. Results from the DID protocol showed that the KI mice went into binge drinking from day 1 of exposure, drinking three times more than the WT mice. In conclusion, we identified important amino acids that participate in the modulation of GlyR by ethanol. The study opens a novel opportunity for pharmacotherapy development to treat alcohol use disorders.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular

Dirección de Correo: luisagua@gmail.com

Agradecimientos: Supported by Fondecyt DPI 20140008 Grant

SIMPOSIOS (SYMPOSIA)

SIMPOSIO 1: "LA BARRERA INTESTINAL COMO UN BLANCO FARMACOLÓGICO EN EL TRATAMIENTO DE DESÓRDENES SISTÉMICOS"

Coordina: Dra. Marcela Julio-Pieper

MODIFICACIONES TEMPRANAS DE LA MICROBIOTA INTESTINAL Y CONSECUENCIAS EN EL DESARROLLO DE ENFERMEDADES METABÓLICAS. Early changes in the gut microbiota and consequences in the development of metabolic diseases.

Magne, F.

Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El tracto gastrointestinal está colonizado por una comunidad microbiana conocida como microbiota, que contiene alrededor de 100 billones de bacterias, casi 10 veces más que el número total de células que forman el cuerpo humano. La microbiota intestinal desarrolla una relación simbiótica y mutualista con el hospedero, coexistiendo con él en un equilibrio beneficioso que determina su estado de salud. La microbiota participa en la nutrición del individuo, restringe la colonización por patógenos y contribuye al desarrollo y mantenimiento de la homeostasis inmune del hospedero. Perturbaciones de la microbiota intestinal (disbiosis) han sido observadas en diversas patologías, incluyendo enfermedades autoinmunes y/o inflamatorias como la enfermedad de Crohn y alergias, enfermedades metabólicas como la obesidad y la diabetes de tipo 2 y del sistema nervioso central como el autismo. Las disbiosis, por lo tanto, alteran las relaciones mutualistas e influyen negativamente en la fisiología del hospedero, comprometiendo su estado de salud. En el recién nacido y el infante antes de 3 años, la microbiota intestinal es poco estable comparado con la de los adultos. Varios factores tales como el tipo de parto, la alimentación, la edad gestacional y la administración de antibióticos influyen en la composición de la microbiota intestinal, induciendo eventualmente alteraciones a largo plazo. Estudios recientes en animales indican que estos cambios influyen en el metabolismo del hospedero y participan del desarrollo de las enfermedades metabólicas.

Area de la Farmacología: Otros

Dirección de Correo: fabienmagne@med.uchile.cl

AVANCES EN LOS MECANISMOS INMUNES DE LA MUCOSA INTESTINAL DE LOS TRASTORNOS DIGESTIVOS FUNCIONALES: PAPEL DE LAS ALTERACIONES EN EL EJE CEREBRO-INTESTINO. Advances in the immune mechanisms at intestinal mucosa of functional gastrointestinal disorders: the role of alterations of the gut-brain axis.

Beltrán, C.J.

Laboratorio de Inmunogastroenterología, Servicio de Gastroenterología, Hospital Clínico Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Los Trastornos Digestivos Funcionales (TDF), forman parte del grupo más común de desordenes gastrointestinales crónicos, caracterizados por la presencia de síntomas referidos a distintos segmentos del tubo digestivo, que no poseen alteraciones estructurales o explicaciones bioquímicas demostrables por los procedimientos diagnósticos disponibles. Entre sus síntomas clínicos se incluyen el dolor abdominal, la sensación de llenado post-prandial, la saciedad precoz y los cambios del hábito de defecación, siendo el Síndrome de Intestino Irritable (SII) uno de los TDF más prevalentes en Chile y en el mundo. Aunque su fisiopatología no está claramente definida, la presencia de un desequilibrio en la comunicación bidireccional en el eje cerebro-intestino se vincula al desarrollo de los síntomas clínicos. Factores psicosociales, tales como ansiedad y depresión, han sido relacionados a alteraciones en diversas respuestas biológicas de los pacientes, por lo que se les reconoce que responden a un modelo Biopsicosocial. Una elevada activación del eje Hipotálamo-Hipófisis-Suprarrenal (HHS), así como del sistema nervioso autónomo (SNA), inducen cambios fisiológicos que afectan diversos sistemas en estos pacientes, destacándose una alteración de la comunicación neuro-inmune. Entre los mecanismos mayormente documentados se encuentran el aumento de la activación de los mastocitos de la mucosa intestinal en proximidad a las terminaciones nerviosas, lo que a su vez es asociado a cambios en la permeabilidad epitelial y al aumento de la severidad del dolor visceral de los pacientes. Los avances en las investigaciones dirigidas hacia la descripción sistémica de mecanismos fisiopatológicos subyacentes a los TDF, permitirán no solo acceder al uso de biomarcadores, sino también aproximar futuras intervenciones terapéuticas.

Area de la Farmacología: Otros

Dirección de Correo: cbeltran@med.uchile.cl

Agradecimientos: FONDECYT 111-21527. Servicio de Gastroenterología, Hospital Clínico Universidad de Chile

MANIPULACIÓN DE LA PERMEABILIDAD INTESTINAL Y ACTIVACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO Y CENTRAL. Manipulation of gut permeability and activation of peripheral and central nervous system.

Julio-Pieper, M.

Grupo de NeuroGastroBioquímica, Instituto de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Alteraciones en la composición de la microbiota intestinal han sido asociadas a diversas patologías extra-intestinales que incluyen la obesidad, diabetes y desórdenes alérgicos. De similar manera, afecciones relacionadas con el sistema nervioso central y la conducta, como la ansiedad, la depresión y la dependencia al alcohol también se asocian a un estado de disbiosis a nivel intestinal. Se ha verificado en pacientes y en modelos animales que terapias dirigidas a generar cambios en el microambiente luminal intestinal pueden traducirse en efectos observables en órganos distantes, con la potencial participación de uno o más sistemas integradores como el endocrino, inmune o nervioso. La modificación transitoria o estable de la permeabilidad del epitelio

intestinal podría ser parte de esta cadena de eventos que se inicia en el lumen intestinal y finaliza en un blanco distante. Al respecto, hemos utilizado un modelo animal con permeabilidad intestinal aumentada para integrar diversos aspectos del eje microbiota-intestino-cerebro, con un foco en los mecanismos involucrados en la activación directa o indirecta del sistema nervioso periférico y/o central.

Area de la Farmacología: Farmacología gastrointestinal

Dirección de Correo: marcela.julio@pucv.cl

Agradecimientos: Proyecto PUCV DI 125.709/2016

SIMPÓSIO 2: "NUEVAS ESTRATEGIAS FARMACOLÓGICAS EN LA PREVENCIÓN DE LA ENFERMEDAD CORONARIA Y SUS FACTORES DE RIESGO: DESDE EL MODELO ANIMAL AL ENSAYO CLÍNICO"

Coordina: Dr. Rodrigo Castillo Peñaloza

CARDIOPROTECCIÓN POR ALFA 2 AGONISTAS EN LA ISQUEMIA MIOCÁRDICA. Alpha 2 agonists cardioprotection in myocardial ischemia.

Ibacache, M.E.1, Riquelme, J.A.2, Westermeier, F.2, Pedrozo, Z.2,3, Sánchez, G.3, Lavandero, S.2,3,4

1División de Anestesiología, Facultad Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 2Advanced Center for Chronic Disease (ACCDiS), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas & Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 3Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 4Department of Internal Medicine (Cardiology Division), University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, Texas, USA.

La patología cardiovascular es la primera causa de muerte en Chile y en el mundo. Las complicaciones cardíacas perioperatorias, como la isquemia y el infarto miocárdico, son las causas predominantes de la morbimortalidad en pacientes quirúrgicos. Con el fin de disminuir la incidencia de estas complicaciones en pacientes quirúrgicos de alto riesgo cardiovascular, se recomienda la administración perioperatoria de fármacos cardioprotectores, pero esta intervención continúa siendo controvertida. En modelos animales, diversos fármacos han demostrado gatillar mecanismos de cardioprotección, durante episodios de isquemia y reperfusión (I/R) miocárdica. Esta cardioprotección farmacológica se basa en la inhibición de la formación del poro de transición de permeabilidad mitocondrial, a través de la activación de proteínas quinasas asociadas a sobrevivencia como la vía RISK (Reperfusion Injury Salvage Kinases, por su sigla en inglés). En este contexto, el uso de agonistas alfa 2 adrenérgicos ha demostrado reducir la mortalidad y la incidencia de infarto miocárdico en cirugía cardiovascular. El mecanismo de protección propuesto en estos estudios, sería la modulación del sistema nervioso autónomo. La disminución de la frecuencia cardíaca y la presión arterial observada durante su uso, evitarían el desbalance entre aporte y demanda de oxígeno miocárdico y atenuarían el estrés sobre placas ateromatosas inestables. La dexmedetomidina (DEX) es un agonista alfa-2-adrenérgico de uso frecuente en anestesia. La evidencia sugiere que tiene propiedades cardioprotectoras y anti-inflamatorias que beneficiarían a pacientes quirúrgicos de alto riesgo cardiovascular. En modelos animales de I/R miocárdica se ha demostrado que DEX

posee una marcada capacidad preconditionante. Sin embargo, pocos estudios han abordado los mecanismos farmacológicos implicados en el preconditionamiento inducido por DEX. En consecuencia, nuestro grupo ha llevado a cabo dos investigaciones intentando dilucidar estos mecanismos. En una primera investigación demostramos que los efectos cardioprotectores de DEX, son mediados en parte, por la activación de la vía RISK (ERK 1-2, Akt y eNOS), mediante la estimulación de receptores alfa 2 adrenérgicos cardíacos. Recientemente, hemos descrito el rol del endotelio y la vía eNOS-óxido nítrico, en el pre-condicionamiento miocárdico con DEX. Demostramos que DEX es incapaz de reducir la muerte celular en cardiomiocitos aislados de ratas adultas sometidas a (I/R), en ausencia de células endoteliales. Así, el efecto preconditionante inducido por DEX, requiere de la participación de receptores alfa 2 adrenérgicos endoteliales.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular

Dirección de Correo: mibacach@med.puc.cl

Agradecimientos: FONDECYT (3140532 F.W., 1130407 G.S., 1150377 L.S, 1150887 Z.P.), CONICYT (FONDAP 15130011 to S.L.).

MECANISMOS DE CARDIOPROTECCIÓN ASOCIADOS A LA SUPLEMENTACIÓN CON ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3 EN MODELOS ANIMALES Y HUMANOS DE HIPOXIA CARDIOVASCULAR. Cardioprotective mechanisms associated with omega 3 fatty acids supplementation in human and animal models of cardiovascular hypoxia.

Castillo, R.L.1, Farías, J.G.2, Herrera, E.A.1, Carrasco-Pozo, C.3, Sepúlveda, N.4

1Programa de Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile. 2Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de la Frontera, Casilla 54-D, Temuco, Chile. 3Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 4Laboratorio de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

La hipoxia es una condición fisiopatológica asociada con varias respuestas a nivel cardiovascular, pulmonar y vascular, que pueden derivar en enfermedades crónicas (no transmisibles). Esto es relevante en poblaciones humanas expuestas a una gran altura, ya sea en habitantes permanentes (hypoxia continua crónica) o hipoxia intermitente (IH) (trabajadores a gran altitud, turistas y montañeros). En Chile, se estima que 1.000.000 personas viven en regiones montañosas y más de 35.000 trabajan en turnos de gran altitud. La IH se asocia con el desarrollo de hipertensión arterial sistémica y disfunción ventricular izquierda. Sin embargo, en la actualidad, nuestra comprensión de los mecanismos que unen la IH y la disfunción cardiovascular están limitados por la heterogeneidad fisiopatológica de los pacientes expuestos a hipoxia y la presencia de múltiples comorbilidades, incluyendo la obesidad y los trastornos estructurales previos. Dentro de los factores de riesgo cardiovascular identificados, además de la altura, destacan el ascenso acelerado > 500 m por día y factores individuales como el tener historia previa de patologías agudas de altura. También pueden producirse consecuencias de salud a largo plazo por la exposición crónica a altitud intermitente como son la policitemia, hipertrigliceridemia y el daño renal crónico. En este contexto el estudio de modelos animales que permitan

determinar la heterogeneidad fisiopatológica de los pacientes expuestos a hipoxia y la presencia de múltiples comorbilidades, incluyendo la obesidad y los trastornos estructurales previos, han cobrado importancia los últimos años. Nuestros estudios se han basado en aproximaciones *ex vivo* e *in vivo* a través del uso de la cámara hipobárica que permite simular el ambiente de altura, además de variadas intervenciones farmacológicas, como ácidos omega 3, ascorbato y melatonina, que tienden a reducir el estrés oxidativo y la inflamación, siendo estos mecanismos fisiopatológicos los que contribuirían al efecto funcional agudo y las consecuencias sobre la remodelación cardiovascular.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular

Dirección de Correo: rcastillo@med.uchile.cl

Agradecimientos: Grant: Fondecyt 11110246 (RLC.); 1151119 (EHV.); 1130232 (CCP.)

NUEVAS ESTRATEGIAS FARMACOLÓGICAS EN EL TRATAMIENTO DE LAS DISLIPIDEMIAS. New pharmacological strategies in the treatment of dyslipidemia.

Prieto, J.C.

Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La teoría lipídica de la enfermedad aterosclerótica, ha sido refrendada mediante ensayos clínicos que han demostrado que la disminución de LDL colesterol plasmático por estatinas, reduce de manera significativa el riesgo cardiovascular, en especial en prevención secundaria de la enfermedad aterosclerótica. El concepto de “más bajo el LDL colesterol-mejor evolución”, está en constante evaluación. Las estatinas han logrado reducciones significativas de riesgo cardiovascular, sin embargo, sea porque en algunos pacientes no se logran las metas, sea por intolerancia de este tipo de fármacos, se han buscado alternativas de tratamiento orientadas a la reducción de LDL colesterol. Una alternativa para tratar el LDL colesterol elevado, es reducir la absorción intestinal de colesterol mediante la disminución de la actividad de la proteína Niemann-Pick C1-Like 1 [NPC1L1]. Este efecto lo logra ezetemibe, que recientemente demostró un beneficio clínico marginal, pero significativo, en la reducción de complicaciones cardiovasculares cuando se asocia a simvastatina comparado con simvastatina como único hipolipemiente. Otro modo eficiente de reducir el colesterol plasmático, se basa en impedir la degradación del receptor LDL mediante la neutralización de la acción de la proproteína convertasa subtilisina-kexina tipo 9 [PCSK9], proteína responsable de facilitar la metabolización de este receptor en el lisosoma celular. Esto ha sido posible mediante el empleo de anticuerpos monoclonales humanizados que se unen selectivamente a la [PCSK9], lo que impide que este receptor sea internalizado en la célula y destruido en el lisosoma. La mayor densidad de receptores LDL en la superficie del hepatocito, favorece la reducción de esta lipoproteína circulante. Alirocumab, evolocumab y bococizumab son los anticuerpos monoclonales actualmente en evaluación clínica, los que logran reducciones de colesterol LDL de hasta 65%. Se discute en esta presentación cual será el beneficio clínico adicional cuando se asocian a estatinas y si tendrán futuro como monoterapia en el tratamiento de la hiperlipidemia. Un nuevo compuesto que también actúa en la vía de síntesis de colesterol es el ácido bempedoico, que

específicamente inhibe la enzima ATP citrato liasa, enzima clave en el aporte de sustratos para la síntesis de colesterol. Actualmente se desarrollan estudios clínicos fase II con este compuesto.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular

Dirección de Correo: jprieto@med.uchile.cl

Agradecimientos: SOFARCHI

SIMPOSIO 3: “FUENTES NATURALES DE COMPUESTOS BIOACTIVOS: INNOVACIÓN EN NUEVAS APLICACIONES FARMACOLÓGICAS Y BIOMÉDICAS”

Coordina: Dra. Jaqueline Sepúlveda

USO DE EXTRACTO PURIFICADO DE *Stevia rebaudiana* COMO EXCIPIENTE EN FORMULACIONES FARMACÉUTICAS PARA DIABÉTICOS. Using purified extract of *Stevia rebaudiana* as an excipient in pharmaceutical formulations for diabetics.

Sepúlveda, J.

1Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. 2 Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción.

La resistencia a la insulina y la diabetes son patologías con altos índices de incidencia a nivel nacional e internacional. Las personas que padecen estas enfermedades deben, entre otras cosas, restringir el consumo de azúcar, tanto en la dieta como en los medicamentos básicos que ingieren. Actualmente, la industria farmacéutica carece de formulaciones farmacéuticas diseñadas específicamente para estos pacientes. De especial importancia es el caso de formulaciones farmacéuticas de administración oral, en las cuales, para enmascarar sabores, se utiliza como excipiente principalmente azúcar. Frente a ello surge la necesidad de buscar nuevos compuestos que puedan ser utilizados como excipientes con características endulzantes, para la formulación de medicamentos que puedan ser utilizados por personas con resistencia a la insulina y diabetes. Las hojas de *Stevia Rebaudiana* Bertoni contienen a lo menos 10 diferentes glicósidos, siendo el steviósido y el rebaudiósido A, los que se encuentran en mayor proporción. El grado de dulzor aportado solo por el uso de las hojas desecadas es 15 veces mayor al de la sacarosa, mientras que los extractos purificados llegan a ser 250 a 300 veces más dulces, lo que la convierte en un excipiente potencial en el desarrollo de formulaciones farmacéuticas en pacientes diabéticos. Además de su uso como edulcorante, se le han asociado ciertas propiedades terapéuticas, tales como efecto antihiperlipémico, antihipertensivo y antiinflamatorio. Como edulcorante, se ha establecido una Ingesta Diaria Admisible (IDA) de 4mg/kg de peso corporal, expresados como equivalentes de steviol.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales

Dirección de Correo: jsepulve@udec.cl

Agradecimientos: INNOVA - 14IDL2-30151

DEFENSAS CELULARES DE LAS PLANTAS Y SUS POSIBLES USOS EN PATOLOGÍAS HUMANAS. Cellular defences of plants and their possible uses in human pathologies.

Letelier, M.E.1; Galindo, H.2

1Laboratorio de Farmacología y Toxicología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. 2Centro del Cáncer, Pontificia Universidad Católica.

Todas las patologías, en mayor o menor grado están asociadas a estrés oxidativo, fenómeno estrechamente relacionado con inflamación. Bajo estrés oxidativo los mecanismos antioxidantes enzimáticos (SOD, catalasa, peroxidasa) y los no enzimáticos (GSH, vitaminas A, C y E) son sobrepasados. En estas condiciones las especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno alteran la estructura de las biomoléculas afectando su función biológica. La célula reacciona activando la inmunidad innata, la que a su vez responde activando procesos de cicatrización cuya primera fase es la inflamación. El cáncer se describe como una patología asociada a procesos inflamatorios crónicos. Es por ello que las células tumorales tienen diversos procesos regulatorios alterados (potencial replicativo ilimitado, angiogénesis sostenida, evasión de la apoptosis, resistencia a fármacos, etc.); ellas sobreviven evadiendo las defensas de las células normales. Esta es la razón por la cual ha sido difícil encontrar terapias curativas para cáncer. Cabe destacar que: 1) el desbalance redox causado durante el proceso inflamatorio crónico favorece la multiplicación de las células tumorales., 2) la quimioterapia provoca serios efectos adversos los cuales están asociados a procesos inflamatorios; 3) las plantas poseen alta concentración de antioxidantes, anti-inflamatorios y activadores del sistema inmune, 4) estos compuestos ejercen su actividad biológica a través de diferentes mecanismos, por lo que sus efectos farmacológicos son sinérgicos. Por lo tanto, postulamos que fitofármacos ricos en el tipo de compuestos mencionados aumentarían las defensas del organismo humano, mitigarían los efectos adversos de las terapias anti-cáncer y podrían también potenciar sus efectos terapéuticos. Los primeros resultados de la co-terapia con un protocolo fitoterápico conteniendo los principios activos mencionados, se mostrará a través de un caso clínico.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales

Dirección de Correo: mel@cig.uchile.cl

Agradecimientos: Laboratorios Ximena Polanco por la formulación de los preparados herbales utilizados.

COMPUESTOS DE ORIGEN MARINO Y SU APLICACIÓN EN FARMACOLOGÍA. Marine compounds and their application in pharmacology.

Astuya, A.1, Llanos-Rivera, A.2, Gallardo-Rodríguez, J.J.3, Fuentealba, J.4

Departamento de Oceanografía y COPAS Sur- Austral, Facultad de Cs. Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción; 2Departamento de Oceanografía, Facultad de Cs. Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción; 3 Depto de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Concepción; 4 Depto de Fisiología, Facultad de Cs Biológicas, Universidad de Concepción.

Los complejos mecanismos biológicos y químicos desarrollados para la defensa, ataque y señalización en los organismos marinos requieren una gran diversidad de compuestos, los cuales representan una valiosa fuente de compuestos bioactivos con potencial farmacológico. Existen varios ejemplos de fármacos naturales de origen marino, como trabectedina (antineoplásico), pseudopterósina (antiinflamatorio) y ziconotida (anestésico). Hasta ahora lo que limita el uso de varios de estos compuestos, es la obtención de cantidades significativas de éstos. Dadas sus estructuras complejas, en muchos casos la síntesis química queda descartada, por lo que la única solución es escalamiento de cultivos masivos. Es así como productos derivados desde microalgas constituyen una de las fuentes marinas más atractivas cuyas ventajas son significativas tanto en producción como en diversidad y calidad de productos. En este contexto, las fuentes de biofármacos para el manejo del dolor presentan importantes representantes en los dinoflagelados, cuyas toxinas paralizantes como tetrodotoxina y saxitoxina, son reconocidas por su elevada potencia y especificidad de bloqueo de canales de sodio voltaje-dependientes (VGSC). Nuestro grupo ha generado importante data respecto del estudio de microalgas rafidofíceas, las que han causado importantes pérdidas en la industria acuícola y cuyo potencial tóxico se asocia a la producción de neurotoxinas. Estas toxinas, son capaces de inhibir los VGSC en neuronas en cultivo, de forma reversible y con efecto similar a tetrodotoxina. Adicionalmente el estudio del potencial anestésico fue evaluado in vivo en pez cebra, cuyos resultados demuestran ventajas en inducción y recuperación respecto a otros anestésicos naturales y en base a los cuales proyectamos el desarrollo de una formulación anestésica natural de origen marino.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales

Dirección de Correo: aastuya@udec.cl

Agradecimientos: COPAS Sur-Austral-CONICYT PIA PFB31

EFFECTOS DE ALCALOIDES NEUROPROTECTORES OBTENIDOS DE FUENTES NATURALES. Neuroprotective Effects of Alkaloids Obtained From Natural Sources.

Fuentealba, J.1; Gavilán, J.1; Mennicket, D.1

1 Depto de Fisiología, Fac. de Cs. Biológicas, U. de Concepción

La neurotransmisión colinérgica es un elemento fundamental en procesos neurofisiológicos claves del desarrollo cognitivo de los individuos (memoria y aprendizaje), ha sido un foco permanente de atención en los procesos de deterioro y falla neuronal en patologías neurodegenerativas, como la Enfermedad de Alzheimer (EA). De hecho, la teoría colinérgica ha mantenido un rol central en la terapéutica farmacológica de la EA, y la modulación particular de alguna de sus subunidades, como la alfa-7 y alfa3beta4, el principal objetivo en el diseño y síntesis de nuevas estructuras químicas bioactivas. Por otra parte, la farmacología, se ha nutrido históricamente de compuestos de naturaleza alcaloidea, para caracterizar y modular las principales funciones fisiológicas del organismo; así, podríamos nombrar la muscarina, la nicotina, la cocaína, entre otros. Hoy, nuestro interés se centra en una familia de compuestos de naturaleza quinolizidinica, que han demostrado tener una potente actividad neuroprotectora principalmente asociados a la activación de receptor nicotínico alfa-7, y las vías de señalización intracelular asociadas a su

activación, fundamentalmente PI3K y AKT-P. Nuestros resultados muestran que dos de los alcaloides mayoritarios contenidos en las semillas de especies del género *Cytisus* sp, tienen una potente actividad neuroprotectora frente a la toxicidad del péptido beta-amiloide, en neuronas de hipocampo y en líneas celulares de linaje neuronal.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales
Dirección de Correo: jorgefuentelba@udec.cl
Agradecimientos: Fondecyt 1130747 (JF); Fondecyt 1161078 (JF).

SIMPOSIO 4: "AVANCES RECIENTES EN LA NEUROBIOLOGÍA DEL DOLOR: NUEVOS BLANCOS MOLECULARES PARA EL DESARROLLO FARMACOLÓGICO"
Coordina: Dr. Gonzalo E. Yévenes

LA ALTERACION EN LA COMPOSICION Y DISTRIBUCION DE CANALES KV1 TIPO SHAKER EN FIBRAS MIELINIZADAS SUPRIME LA HIPER-EXCITACION EN DOLOR NEUROPATICO. Altered shaker-type Kv channel composition and distribution in myelinated axons suppresses hyperexcitability in neuropathic pain.

Calvo, M., Richards, N., Schimid, A.B., Barroso, A., Zhu, L., Ivulic, D. Zhu, N., Anwandter, P., Bhat, M.A., Court, F.A., McMahon, S.B. and Bennett, D.L.H.

Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Introduction: Neuropathic pain (NP) following peripheral nerve injury is associated with hyperexcitability in damaged myelinated sensory axons, which begins to normalise over time. Shaker type voltage-gated potassium channels (Kv1 channels) are key determinants of neuronal excitability. However, in normal conditions they do not contribute to axon conduction properties, as they are located in the juxtaparanode where they are electrically insulated from the node of Ranvier. But, during development and following primary demyelination Kv1 channels are re-distributed into the paranode, and can act to suppress excitability. Here we sought to determine if Kv1 channels play any role in the adaptive mechanisms to suppress hyper-excitability that follows nerve injury. **Material and Methods** We investigated the composition and distribution of Kv1 channels in myelinated axons after axotomy in rats and in patients, using immunofluorescence, western blots, and electron-microscopy. The functional role of Kv1 channels was studied in the rat using electro physiology and behavioral experiments by applying a Kv1 channel blocker (α DTX). **Results** At the site of neuroma in the rat, expression of Kv1.1 and 1.2 (normally localised to the juxtaparanode) was markedly decreased. In contrast Kv1.4 and 1.6, which were hardly detectable in the naïve state, showed increased expression within juxtaparanodes and paranodes following injury. In humans healthy control subjects Kv1.2 was normally localised to the juxtaparanode, while nerves from neuroma patients had very low expression of Kv1.2 and de novo expression of Kv1.4 and 1.6, which were present both in paranode and juxtaparanode. Blockade of Kv1 channels with α DTX after injury reinstated hyperexcitability of A-fibre axons and enhanced mechanosensitivity. **Discussion** Changes in the molecular composition and distribution of axonal Kv1 channels, therefore represents a protective mechanism to suppress the

hyperexcitability of myelinated sensory axons that follows nerve injury.

Area de la Farmacología: Farmacología del dolor
Dirección de Correo: mcalvob@uc.cl
Agradecimientos: Fondecyt Regular 116-1019

PAPEL DE LA CORRIENTE DE FRENO IKD EN LA TRANSDUCCIÓN DEL FRÍO Y LA ALODINIA AL FRÍO. Role of the excitability brake potassium current IKD in cold transduction and cold allodynia.

González, A.1; Ugarte, G.1; Restrepo, C.1; Herrera, G.2; Piña, R.1; Pertusa, M.1; Orio, P.2; Madrid, R.1

1Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. 2Centro Interdisciplinario de Neurociencia de Valparaíso (CINV), Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

La hipersensibilidad dolorosa al frío inocuo, o alodinia al frío, es una forma común de dolor neuropático inducido por daño de los nervios periféricos. Los mecanismos moleculares y neurales que subyacen a esta alteración sensorial siguen sin ser esclarecidos en su totalidad. En las neuronas sensoriales primarias del sistema somatosensorial, la sensibilidad al frío está determinada principalmente por un balance en la expresión funcional del canal de iones TRPM8, activado por frío, y de los canales de potasio tipo Shaker Kv1.1-1.2, responsables de la corriente de freno IKD. Esta corriente de K⁺ de activación rápida e inactivación lenta amortigua el efecto de la corriente despolarizante dependiente del canal TRPM8 en respuesta a frío, desplazando el umbral térmico de la neurona hacia temperaturas más bajas. La corriente IKD ejerce su acción a voltajes subumbrales al disparo de potenciales de acción en las neuronas sensoriales primarias, reduciendo la sensibilidad térmica de los termorreceptores de frío y previniendo la activación inespecífica por frío de neuronas de otras modalidades somatosensoriales. En este simposio, revisaremos las principales propiedades biofísicas de la IKD, su papel central en la termotransducción, y su contribución a la hipersensibilidad dolorosa al frío en respuesta al daño axonal en nervios periféricos.

Area de la Farmacología: Fisiología
Dirección de Correo: rodolfo.madrid@usach.cl
Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 1131064 y 1161733 (RM), 1130862 (PO), 11130144 (MP), 3150431 (AG) y Anillo CONICYT ACT-1113 (RM, PO, MP, GU).

FUNCIÓN Y REGULACIÓN DE CDK5 DURANTE EL DOLOR INFLAMATORIO. Role of Cdk5 during inflammatory pain.

Utreras, E.

Laboratorio de Mecanismos Celulares y Moleculares del Dolor. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El fenómeno doloroso está asociado al concepto de enfermedad influyendo negativamente en la calidad de vida de las personas. En particular, el dolor facial localizado en la región de la cabeza y el

cuello, incluye varias patologías como migraña y dolor dental, entre otros. La inflamación juega un papel fundamental en estas patologías, ya que mediadores inflamatorios sensibilizan nociceptores incrementando la sensación dolorosa. Recientemente, reportamos que Cdk5 participa en la regulación de las vías señalización del dolor. Cdk5 es una serina/treonina quinasa principalmente activa en neuronas postmitóticas cuya función es fundamental para el correcto desarrollo y función del cerebro. Interesantemente, determinamos una disminución en la conducta nociceptiva en ratones con reducidos niveles de actividad de Cdk5. En cambio, esta respuesta fue aumentada en ratones con una elevada actividad de Cdk5. Demostramos además que Cdk5 fosforila TRPV1, un canal iónico clave en la señalización dolorosa, modulando su función y posiblemente su transporte hacia la membrana. Similarmente, Cdk5 fosforila el receptor purinérgico P2X2, afectando el proceso de desensibilización. Finalmente, reportamos que la inflamación periférica aumenta la actividad quinasa de Cdk5 en neuronas nociceptivas. En particular, las citoquinas TNF-alfa y TGF-beta 1, importantes mediadores inflamatorios durante el dolor facial, aumentaron la actividad de Cdk5 con un subsecuentemente aumento en la fosforilación y función de TRPV1. En conjunto estos resultados sugieren que Cdk5 puede ser un nuevo blanco terapéutico para el tratamiento del dolor inflamatorio facial.

Area de la Farmacología: Farmacología del dolor
Dirección de Correo: elias.utreras@uchile.cl
Agradecimientos: Fondecyt 115-103

MODULACIÓN CONFORMACIÓN-ESPECÍFICA DE RECEPTORES INHIBITORIOS: UNA NUEVA APROXIMACIÓN HACIA NUEVOS FÁRMACOS ANALGÉSICOS. Conformation-specific modulation of inhibitory receptors: a new approach towards novel analgesics.

Yévenes, G.E.1; Acuña, M.2; Lara, C.O.1; Muñoz, B.1; Burgos, C.F.1; Ralvenius, W.2; Di Lio, A.2; Moraga-Cid, G.1; Corringier, P.J.3, Zeilhofer, H.U.2

1Departamento de Fisiología, Universidad de Concepción, Chile, 2Instituto de Farmacología y Toxicología, Universidad de Zürich, Suiza, 3Instituto Pasteur, Francia.

Evidencias recientes han demostrado que la disminución de la neurotransmisión glicinérgica en el asta dorsal de la médula espinal contribuye al desarrollo y el mantenimiento del dolor crónico. Este fenómeno está relacionado a la activación de receptores EP2 por prostaglandinas endógenas y la subsecuente fosforilación de receptores de glicina compuestos de la subunidad alfa3 (alfa3-R-Gli) por PKA en el residuo S346. Por consiguiente, la recuperación de la función de alfa3-R-Gli por medio de moduladores alostéricos ha emergido como una alternativa racional contra el dolor crónico. En este contexto, moduladores que aumenten la actividad de alfa3-R-Gli sinápticos en estado fosforilado podrían revertir de manera específica la pérdida de inhibición sináptica a nivel espinal. Utilizando registros electrofisiológicos en combinación con modelamiento molecular y estudios de comportamiento, hemos investigado la actividad de diversos moduladores alostéricos de R-Gli que poseen configuraciones y conformaciones diferentes. Estos estudios han mostrado que el modulador 2,6-di-tert-butilfenol (2,6-DTBP) es capaz de potenciar alfa3-R-Gli de configuración sináptica en

estado fosforilado. Interesantemente, 2,6-DTBP logró revertir la pérdida de la inhibición sináptica en el asta dorsal de la médula espinal y mostró efectos anti-hiperalgésicos en modelos de dolor in vivo, los cuales fueron en gran parte dependientes de la presencia de alfa3-R-Gli. Estos resultados demuestran que 2,6-DTBP posee un perfil farmacológico único que permite la modulación selectiva de alfa3-R-Gli sinápticos modificados por eventos de fosforilación relacionados a la presencia persistente de mediadores inflamatorios en la médula espinal. Nuestros hallazgos sugieren que el estudio sistemático de moléculas que interaccionen con los sitios moleculares asociados a la modulación funcional de alfa3-R-Gli por 2,6-DTBP pudiera contribuir al diseño y a la generación de nuevos fármacos contra el dolor crónico.

Area de la Farmacología: Farmacología del dolor
Dirección de Correo: gvevenesc@gmail.com
Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 114-0515, Schweizerischer National Fonds and Forschungskredit of the University of Zurich.

SIMPOSIO 5: “NEUROCIRCUITRIES INVOLVED IN DRUG ADDICTION: NOVEL THERAPEUTIC DIANAS”
 Coordina: Dr. Mario Herrera-Marschitz

EL CIRCUITO DOPAMINERGICO MESOLIMBICO COMO MAESTRO PARA EL PLACER Y LA ADICTIVIDAD. The mesolimbic dopamine pathway as the master for pleasure and addictivity.

Herrera-Marschitz, M.1; Morales, P.1

1Programme of Molecular & Clinical Pharmacology, ICBM, Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago, Chile.

The detailed anatomy of the monoamine pathways of the rat by Urban Ungerstedt at the Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden, provided the basis for a neurocircuitry-targeted pharmacology, leading to important therapeutic breakthroughs. In 1971, Ungerstedt described the mesolimbic dopamine (DA) system, with cell bodies dorsal to the nucleus interpeduncularis and axons ascending together with the nigro-striatal system, but following a medial route. At the level of the commissure anterior, one branch enters into the nucleus accumbens (NAc) and the nucleus interstitialis stria terminalis, while the other turns latero-ventrally to enter the tuberculum olfactorium. These ventrally and medially located areas are part of the archi-striatum, involved in the acquisition and expression of motivation and reinforcement. Microdialysis studies in the rat led Gaetano Di Chiara et al. (2007) to propose that appetitive taste stimuli release DA in NAc (shell and core), as well as in prefrontal cortex. However, while DA release in the shell subregion is stimulated by novelty and appetitiveness, in the core DA release is an expression of generic motivational value, implying activation of learning and complex instrumental patterns, an issue to be further developed by Prof. Di Chiara at the symposium. Cecilia Scorza will expand the idea of a common neuronal substrate for reward and addiction, showing that adulteration of drug of abuse with no addictive substances, such as caffeine, increases the motivational value of the drug, providing information for understanding drug traffic and the enslaving of potential customers. Maria Elena Quintanilla will discuss about two mechanisms involved in the acquisition and maintenance of ethanol intake. One related to the generation of

active metabolites following the intracerebral metabolism of ethanol, and other related to cue conditioned mechanisms following chronic use of the substance. The participation of glutamate neurotransmission is proposed, that can be normalised by increasing the clearance of extracellular glutamate levels, by example by stimulating the cystine/glutamate antiporter with N-acetylcysteine. Mario Rivera-Meza will develop further the idea that acetaldehyde is a motivational and reinforcing molecule, supported by gene modification studies showing that ethanol consumption is decreased by increasing the catalytic activity of brain mitochondrial aldehyde dehydrogenase (ALDH2), suggesting that activation of brain ALDH2 is a mechanism for reducing the appetite for ethanol.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología
Dirección de Correo: mh-marschitz@med.uchile.cl
Agradecimientos: FONDECYT-Chile 1120079, 1110263; Millennium Initiative-2010 BNI (P09-015-F; Chile).

HISTORIA NEURONAL DE LA ADICCIÓN A DROGAS: DE LA EXPERIENCIA PLACENTERA A LA DEPENDENCIA. Neural history of drug addiction: from pleasure experience to dependence.

Di Chiara, G.

Department of Biomedical Sciences , University of Cagliari, Italy.

Drug addiction is a complex behavioral disorder where genetic factors interact with life events and environmental factors along a history of chronic exposure to drugs and substances of abuse. A theory that has gained wide consensus posits that a reduction in basal dopamine (DA) transmission due to a reduction of D2 receptors in the striatum results in a general genetic predisposition favouring the seeking and taking of drug and non-drug rewards, such as food, gambling , sex, shopping etc. These stimuli have in common the ability to activate DA specifically in the shell of the nucleus accumbens (NAc) by different mechanisms, thus providing a way to compensate for the basic deficit of DA transmission and the resulting negative behavioral consequences (apathy, low mood tone, irritability, etc.). A role of DA in reward and hedonia has been long debated but recent optogenetic studies largely support this role. Thus optogenetic activation of DA neurons to the NAc is able by itself to support intracranial self stimulation, thus providing not only the activational component but also the positive valence necessary to induce instrumental responding. Also, without assigning such a positive, hedonic valence to the activation of DA transmission one would not be able to explain why drugs, like amphetamine, that release DA in specific brain areas, are also able to support iv self-administration of the same drugs. With continuing drug exposure to drugs, DA neurons innervating dorsal striatal areas become involved. On this basis it has been speculated that full addiction is the result of the acquisition of a drug-habit. This theory however does not account for the fact that a habit is such a normal modality of responding that abstinence from it does not result in craving or in switching to an outcome-driven responding, as is instead the case of drug dependence. Therefore, while DA provides a good tread to describe the natural history of addiction, hypotheses alternative to habit responding should be proposed to account for the final drug dependence stage, characterized by compulsive drug taking.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología
Dirección de Correo: dichiara@unica.it

ROL DE ADULTERANTES ACTIVOS EN DROGAS DE ABUSO. Role of active adulterants in drug abuse.

Scorza, C.

Department of Experimental Neuropharmacology IIBCE, Montevideo, Uruguay.

Adulteration of drugs of abuse involves the intentional addition of pharmacologically active substances in order to use less of the intended product without making the user aware. Depending on the type of drug and how it is consumed, adulterants are selected. Caffeine is one of the most frequently found substances in seized samples of psychostimulants, including cocaine hydrochloride. Defined as an active adulterant, it is believed that caffeine is added to increase the weight and volume but also to mimic or potentiate the stimulant and the reinforcing effects of cocaine. Especially interesting for us is the role of caffeine in the central effects induced by Coca-paste (CP). Like crack, CP is another form of cocaine used for smoking. CP is a drug of abuse widely consumed throughout South America mainly in vulnerable populations. Its chronic consumption elicits an intense euphoria, fast/high dependence, impulsivity/aggressiveness and cognition alterations describing a prototypical clinical profile in CP users. We demonstrated that caffeine is also used to adulterate CP seized samples. However, the role of caffeine in CP brain effect has not been studied so far. During the talk, firstly I will present and discuss experimental evidence showing that, caffeine is able to potentiate the acute stimulant effect induced by different CP seized samples injected intraperitoneally and also volatilized in rats. Secondly, caffeine accelerates and potentiates the behavioral sensitization phenomenon elicited after CP repeated administration. In third place, using the self-administration paradigm we demonstrated that the breaking point of animals treated with the combination of cocaine plus caffeine (as a surrogate of CP) was significantly higher than that treated with cocaine only, suggesting that caffeine enhances the reinforcing effects of cocaine and the motivational value of the drug. Overall, our results may shed light on the fast and high dependence observed in CP users and provide relevant information for the understanding of the dynamics of traffic and its potential impact on consumer health. Finally, our data highlight the role of active adulterants commonly used in illicit street drugs.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología
Dirección de Correo: scorzacecilia@gmail.com

ADQUISICIÓN Y MANTENIMIENTO DE LA INGESTA DE ETANOL: DOS MECANISMOS. Acquisition and maintenance of ethanol intake: two mechanisms.

Quintanilla, M.E.1; Rivera-Meza, M.2; Karahanian, E.3; Berríos-Cárcamo, P.1; Salinas-Luypaert, C.2; Herrera-Marschitz, M.1; Israel, Y.1

1Molecular and Clínica Pharmacology Program, ICBM, Faculty of Medicine, University of Chile. 2Department of Pharmacological

and Toxicological Chemistry, Faculty of Chemical and Pharmaceutical Sciences; University of Chile. 3 Center for Biomedical Research, Faculty of Health Sciences, Universidad Autónoma de Chile, Santiago Chile.

Ethanol-derived brain acetaldehyde has been shown to generate ethanol reinforcement and sensitization in animals. Dopamine condenses with acetaldehyde forming (R/S)-salsolinol which has marked motivational, sensitization and reinforcing effects. Ethanol, acetaldehyde and salsolinol release DA in nucleus accumbens (NAc). We have shown that intracranial (VTA) or systemic administration of (R/S)-salsolinol greatly increase ethanol voluntary intake in ethanol-naïve animals. Studies aimed at reducing VTA acetaldehyde levels showed that animals that have ingested ethanol chronically do not require brain acetaldehyde generation to perpetuate high drinking, also suggesting that salsolinol is no longer required. Studies on a number of other addictive drugs show that chronic drug intake is maintained by cued conditioned mechanisms. Under this condition, altered extracellular glutamate levels in the mesolimbic system appear to generate a memory trace, which perpetuates drug intake. Extracellular levels of glutamate in the mesolimbic system can be normalized by administration of N-Acetyl cysteine. Our recent studies show that administration of N-acetyl cysteine to rats that had ingested ethanol chronically greatly reduces (60-70%) voluntary ethanol intake. The studies suggest that N-Acetyl cysteine- a clinically used drug- may be considered as a new adjunct in the treatment of alcohol use disorders.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología
Dirección de Correo: equintanilla@med.uchile.cl
Agradecimientos: Supported by Fondecyt #113-0012, #111-30241, and #112-0079

ALDA-1 UN ACTIVADOR FARMACOLÓGICO DE LA ALDEHÍDO DESHIDROGENASA REDUCE EL CONSUMO DE ALCOHOL EN RATAS BEBEDORAS UCHB. ALDA-1 a pharmacological activator of the aldehyde dehydrogenase reduces alcohol consumption in alcohol preferring uchb rats.

Rivera-Meza, M.1; Vásquez, D.1; Quintanilla, M.E.2; Campanini, J.1; Andrades, J.1; Herrera-Marschitz, M.2; Israel, Y.2

1 Faculty of Chemical and Pharmaceutical Sciences; University of Chile, Santiago, Chile. 2 Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago, Chile.

Several studies have showed that acetaldehyde, the first metabolite of ethanol, is a motivational and reinforcing molecule. Gene modification studies aimed at modifying ethanol metabolism in the brain have showed that decreasing the bioavailability of acetaldehyde results in a reduction of alcohol consumption in animals. ALDA-1 is a novel small molecule that seems to act as a chaperone of the mitochondrial aldehyde dehydrogenase (ALDH2) increasing the catalytic activity of this enzyme. Here, we report studies aimed at determining the effects of the systemic administration of ALDA-1 on the voluntary alcohol consumption by UChB rats. ALDA-1 was acutely administered (25 mg/kg/day i.p.) during five consecutive days to UChB rats and its effects on the voluntary alcohol consumption of alcohol-naïve and chronic

alcohol-exposed animals were determined. Also, the effects of ALDA-1 on saccharine preference and ethanol elimination rate were assessed. Results showed that ALDA-1 administration reduces completely and reversibly the alcohol consumption in naïve UChB rats. Chronic alcohol-exposed UChB rats showed 70% reduction of voluntary ethanol intake upon ALDA-1 administration. Neither saccharine preference nor ethanol metabolism rate were affected by ALDA-1 treatment. We conclude that ALDA-1 is effective into reducing selectively ethanol consumption in alcohol-preferring UChB rats, positioning the pharmacological activation of brain ALDH2 as an attractive mechanism to reduce the appetite for alcohol.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología
Dirección de Correo: mario.rivera@ciq.uchile.cl
Agradecimientos: FONDECYT #111-30241

SIMPÓSIO 6: "ACTUALIDAD LATINOAMERICANA DE LA FARMACOLOGÍA EN ODONTOLOGÍA"

Coordina: Dr. José Antonio Jara

LOS POLIFENOLES: EFECTOS RELEVANTES EN LA FORMACIÓN Y MANTENIMIENTO DE LOS HUESOS EN ODONTOLOGÍA. The polifenoles: significant effects formation and maintenance of bones in dentistry.

Virga, M.C., Aguzzi, A.

Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

Introducción: El aceite de oliva tiene propiedades beneficiosas para el organismo, gran parte de estas propiedades son debidas a los fenoles, agentes antioxidantes naturales. Estudios previos han demostrado que los bisfosfonatos son potentes inhibidores de la resorción ósea. **Objetivo:** Estudiar el efecto del tratamiento combinado de bisfosfonatos por vía subcutánea y de oliva vía oral sobre la neoformación ósea. **Materiales y métodos:** Las dosis fueron: 0,5 mg/kg de peso para AL (Alendronato), y de 0,6 mg/kg de peso para PA (Pamidronato). El O (Oliva) se administró junto con la dieta, 50 g/ Kg de comida. Ratas macho de la línea Wistar de peso 160 ± 20 g, se dividieron en 6 grupos: control (C), AL, PA, O, alendronato + oliva (ALO) y pamidronato + oliva (PAO). Las variables analizadas fueron radiografías, fosfatasa alcalina (FA) en sangre, estudios histopatológicos. **Tiempos experimentales** 0, 7, 15, 30, 60 y 90 días. **Los estudios estadísticos:** análisis de la variancia a dos y tres criterios de clasificación **Resultados:** Los estudios radiográficos demostraron un incremento en la densidad mineral ósea promedio (DMO) conforme avanza el tiempo de todos los grupos problemas con respecto al control, siendo más evidentes los tratamientos con PA a los 60 días. FA mostró diferencias significativas de los grupos problema con respecto al C en todos los tiempos de tratamiento. El análisis histológico sólo mostró diferencias significativas a los 15 días en las áreas de osteocitos de PA respecto a AL. La histomorfometría demostró que la Densidad trabecular se incrementó en todos los grupos. **Conclusiones:** Esto sugiere que O representa una opción terapéutica prometedora para la prevención y / o tratamiento de las patologías óseas.

Area de la Farmacología: Farmacología Odontológica
Dirección de Correo: maria.virga@unc.edu.ar
Agradecimientos: Al personal de las Cátedras de Farmacología.

DESARROLLO DE LA FARMACOVIGILANCIA Y TOXICOVIGILANCIA EN LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA – UDELAR. LA FARMACIA ODONTOLÓGICA. Pharmacovigilance and toxicovigilance development of the Faculty of Dentistry UdeLAR. The institutional pharmacy.

Romero, M.R.

Facultad de Odontología Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

La seguridad del paciente se ha convertido en una prioridad de los sistemas sanitarios, incluyendo a la odontología. Diversos estudios afirman que la atención sanitaria destinada a mejorar la salud de las personas es una fuente importante de daños. Los problemas relacionados a los medicamentos son una de las principales causas de daño también en la práctica de la Odontología. Los buenos hábitos de prescripción pretenden maximizar la efectividad y el cumplimiento terapéutico, minimizar riesgos y costos, respetar la elección del paciente desde un genérico, pero además y desde el momento de la prescripción deben tenerse en cuenta la supervisión eventos relacionados al medicamento. La Farmacovigilancia tiene que entenderse como una práctica clínica en Odontología. La mayor dificultad para la implementación de guías de buenas prácticas de prescripción y de Farmacovigilancia, que deberían aplicarse de manera conjunta, radica en la existencia de mitos y tradiciones en el uso de algunos medicamentos y los usos off label. No existe una cultura establecida de la notificación por parte de los odontólogos en Uruguay. La Farmacia de la Facultad de Odontología, proyecto institucional que se viene desarrollando desde 2006, se encuentra en un proceso de transformación. Se está implementando el funcionamiento del Nodo Odontología de Farmacovigilancia, aferente al Sistema Nacional de Farmacovigilancia y al Upsalla Monitoring Centre. La incorporación de la Toxicovigilancia es reciente. La función y seguridad de los elementos traza en odontología se conoce poco. El uso extendido de cosméticos colutorios dentífricos medicamentos y materiales de uso odontológico, así como la exposición a contaminantes químicos a través de los hábitos de vida de la población, exigen una información exhaustiva y actualizada para establecer medidas.

Area de la Farmacología: Farmacología Odontológica
Dirección de Correo: reromero@odon.edu.uy
Agradecimientos: Proyecto financiado por la Universidad de la República.

NUEVAS ESTRATEGIAS FARMACOLÓGICAS CONTRA BIOFILMS DE CANDIDA ALBICANS DE PACIENTES CON ESTOMATITIS PROTÉSICA. New pharmacological strategies against Candida albicans biofilms from denture stomatitis patients.

Molina-Berrios, A.

Laboratorio de Farmacología, Instituto de Investigación en

Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

La estomatitis protésica es una de las patologías más frecuentes de la mucosa oral en paciente portadores de prótesis. Esta condición inflamatoria, está fuertemente asociada a la presencia de biofilms o biopelículas de levaduras del género Candida, los cuales una vez establecidos, se caracterizan por poseer alta resistencia a los antifúngicos convencionales. En la búsqueda de nuevas estrategias para la erradicación de biofilms, se han testeado diversos fármacos sin actividad antifúngica conocida. Al respecto, la inhibición de síntesis de prostaglandinas a través de antiinflamatorios no esteroideos (AINES) ha tenido resultados prometedores, puesto que el hongo utiliza prostaglandinas para el establecimiento, desarrollo y permanencia de los biofilms. Por otro lado, fármacos liberadores de óxido nítrico también han demostrado ser capaces de inhibir diversos procesos clave en el desarrollo de biofilms, presumiblemente por las acciones antifúngicas del óxido nítrico. De acuerdo a estos antecedentes, en nuestro laboratorio hemos utilizado la aspirina liberadora de óxido nítrico (NCX-4040) como una nueva estrategia antibiofilm de Candida albicans resistentes obtenidas de pacientes con estomatitis protésica. Nuestros resultados muestran que NCX-4040 es capaz de inhibir la adhesión, morfogénesis, viabilidad y microarquitectura de biofilms en desarrollo y ya establecidos. Además, NCX-4040 es capaz de potenciar el efecto de antifúngicos convencionales o clásicos como fluconazol. Frente a la escasa presencia de fármacos antibiofilm efectivos, nuestros resultados resultan prometedores para futuras investigaciones en el campo.

Area de la Farmacología: Farmacología Odontológica
Dirección de Correo: aemolina@u.uchile.cl
Agradecimientos: Dra. Ximena Lee y Profesora Leyla Gómez de la Facultad de Odontología, quienes amablemente donaron los aislados de *Candida spp.* para la realización de este estudio. Proyecto FONDECYT de iniciación 111-40227 (CONICYT), Proyecto URED-2014-007 y UINICIA-2014-82383 de la Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo (VID) de la Universidad de Chile.

BÚSQUEDA DE NUEVAS ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO PARA EL CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS ESCAMOSAS. Search for new treatment options for oral squamous cell carcinoma.

Jara, J.A.1; Aguilera, J.1; Castro-Castillo, V.2; Ferreira, J.3; Catalán, M.3; Rodríguez, C.1; Peñailillo, C.A.1.

1Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas (ICOD), Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 2Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 3Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

El carcinoma oral de células escamosas es un tipo de cáncer agresivo, diagnosticado generalmente en estadios avanzados de la enfermedad. Está asociado principalmente al consumo excesivo de tabaco o alcohol en pacientes adultos, así como también a la presencia del virus papiloma humano. Esta patología afecta principalmente labios, lengua, piso de boca y otras regiones de la cavidad oral. A pesar de que la incidencia del cáncer oral a nivel

mundial y en Chile es de alrededor de un 2 a 3 %, la tasa de supervivencia a los cinco años es pobre (entre un 50 y un 60%). El tratamiento disponible en la actualidad incluye cirugía, radioterapia, quimioterapia y regímenes de combinaciones de estas. En relación a la quimioterapia, los fármacos utilizados no han variado mucho en los últimos veinte años. Hasta ahora ningún fármaco nuevo ha demostrado en estudios clínicos modificar significativamente las expectativas de vida de los pacientes con estadios avanzados de este tipo de cáncer. Por otra parte, las células de carcinoma oral tienen algunas características metabólicas que hacen posible el ensayo de nuevas moléculas dirigidas en forma selectiva hacia éstas. Así por ejemplo, estas células presentan un aumento en el metabolismo de glucosa y una importante capacidad de sobrevivir en bajas concentraciones de oxígeno. Estos cambios metabólicos están asociados a quimio y radio resistencia, así como también a la recurrencia del tumor. Es por esto que en nuestro laboratorio se han ensayado numerosas moléculas con diversas características químicas; desde aquellas extraídas de plantas hasta moléculas semi-sintéticas o moléculas sintéticas, con las cuales se busca alterar las funciones bioenergéticas de las células de carcinoma oral en forma potente y selectiva.

Area de la Farmacología: Farmacología Odontológica

Dirección de Correo: jsandovalj@u.uchile.cl

Agradecimientos: Proyecto U-inicia 2014-82379 , Programa Ayuda de Viajes VID de la Universidad de Chile.

SIMPOSIO 7: "NUEVAS PERSPECTIVAS SOBRE EL MECANISMO DE ACCIÓN Y EFECTOS FARMACOLÓGICOS DE METFORMINA"

Coordina: Dr. Gonzalo Cruz

BENEFICIOS DEL USO DE METFORMINA EN EMBARAZO EN MUJERES PORTADORAS DE SINDROME DE OVARIO POLIQUISTICO. Benefits of the use of metformin during pregnancy in women with polycystic ovary syndrome.

Crisosto, N.

Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile.

El Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP) es una disfunción endocrino metabólica compleja cuya etiopatogenia aun no ha sido completamente dilucidada incluyendo una combinación de factores genéticos y ambientales. Las mujeres portadoras de SOP tiene un mayor riesgo de complicaciones durante el embarazo incluyendo abortos, pre-eclampsia, parto prematuro y diabetes gestacional. La insulinoresistencia esta presente en hasta el 80 % de estas pacientes y es un componente fisiopatológico central en las complicaciones asociadas a este síndrome. La Metformina es el fármaco mas ampliamente utilizado en mujeres SOP insulinoresistentes. Su utilización durante el embarazo se ha extendido dada la amplia evidencia de seguridad en los últimos años para su uso en esta condición. En el contexto de la mujer SOP se ha demostrado utilidad en la reducción de abortos y desarrollo de diabetes gestacional, y pudiese asociarse a un mejor control metabólico comparado con otras estrategias tales como uso de insulina u otros fármacos hipoglucemiantes. En nuestra experiencia

con el uso de este fármaco en pacientes SOP chilenas durante el embarazo hemos demostrado menor incremento de peso, menores tasas de diabetes gestacional, ausencia de recién nacidos pequeños o grandes para la edad gestacional y mejoría de los niveles de andrógenos e insulina. Todo esto refleja una mejoría del perfil metabólico y hormonal de la mujer SOP embarazada lo que impacta en marcadores precoces de reprogramación fetal en la descendencia de estas pacientes. La Metformina es un fármaco seguro y con amplios beneficios durante el embarazo de la mujer SOP que no solo impacta la salud de la madre sino que pudiese evitar la programación del síndrome en la descendencia de estas pacientes.

Area de la Farmacología: Farmacología endocrina-reproductiva

Dirección de Correo: nicolascrisostok@gmail.com

Agradecimientos: FONDECYT Regular: 107-1007 FONDECYT Iniciación 113-0126

METFORMINA Y CÁNCER: ¿CUÁNTO SABEMOS SOBRE SU MECANISMO DE ACCIÓN ANTITUMORAL? Metformin and cancer: ¿How much we know about its antitumoral mode of action?.

López-Muñoz, R.¹

¹Laboratorio de Farmacología y Fisiopatología Pulmonar, Instituto de Farmacología y Morfofisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

Metformina es el fármaco de primera línea en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo II. Estudios retrospectivos asocian el uso de metformina con una reducción de la incidencia de diversos tipos de cáncer. A pesar de la extensa investigación sobre los efectos moleculares de la metformina sobre las células tumorales, su mecanismo de acción sigue siendo controversial. Algunos autores describen que metformina inhibe el complejo I mitocondrial, restringiendo la capacidad de la célula para combatir el estrés energético. Más aún, dado que metformina inhibe el ciclo de Krebs, las estas alteraciones en la función mitocondrial generarían un incremento compensatorio del lactato y el ATP glicolítico. Por otra parte, estudios de metabólica no dirigida han agregado evidencia que la metformina además altera los ciclos del folato y de la metionina, con una disminución concomitante disminución de la síntesis de nucleótidos. De hecho, purinas como timidina e hipoxantina reestablecen la proliferación de células tumorales tratadas con metformina in vitro. Por tanto no es aún posible definir si el efecto de metformina sobre la proliferación tumoral es debido a un efecto toxico mitocondrial o a un comportamiento tipo antimetabolito. Por otra parte, existe una pobre correlación entre las concentraciones usadas los experimentos in vitro y las concentraciones clínicas encontradas en pacientes tratados con metformina. En nuestro laboratorio hemos estudiado el efecto combinado de metformina con fármacos antitumorales en un modelo in vitro de células de cáncer de pulmón. Sorpresivamente, metformina antagoniza el efecto de los antitumorales, especialmente a concentraciones bajas. De hecho, metformina aumenta la viabilidad de las células de cáncer de pulmón a concentraciones bajas, efecto que es dependiente de los niveles de glucosa en el medio, y que por tanto podría influenciar el efecto antagonico descrito en nuestras combinaciones.

Area de la Farmacología: Otros

Dirección de Correo: rodrigo.lopez@uach.cl

Agradecimientos: Financiado por proyecto FONDECYT 116-0807

ADMINISTRACIÓN DE METFORMINA EN RATAS GESTANTES OBESAS. EFECTOS SOBRE LA FUNCIÓN REPRODUCTIVA Y METBÓLICA EN LA DESCENDENCIA. Metformin administration in obese pregnant rats. effects on reproductive and metabolic function in offspring.

Álvarez, D.1, Olguín, S.1, Ceballos, K.1, Fernandois, D.2, Martínez, J.3, Sotomayor-Zárate, R.3 and **Cruz, G.1**

1 Laboratorio de Alteraciones Reproductivas y Metabólicas, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile. 2 Laboratorio de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile 3 Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

En nuestro laboratorio hemos demostrado que la obesidad gestacional en ratas se relaciona con obesidad, disfunción hepática, aumento de estradiol sérico, pubertad precoz y alteraciones foliculares ováricas en la progenie. Nuevos descubrimientos en relación al mecanismo de acción de metformina han sugerido un efecto del fármaco que es independiente de la sensibilización a insulina. En este contexto creemos que metformina puede mejorar el perfil metabólico de madres gestantes obesas y prevenir efectos deletéreos sobre la descendencia. Administramos metformina antes de la preñez, durante la preñez y durante la lactancia a madres que recibieron una dieta alta en grasa por 1 mes y luego se cruzaron con machos fértiles. La metformina falló en evitar el aumento de peso en las hijas de madres obesas. En ratas descendientes metformina tendió a evitar el aumento de estradiol al día postnatal (PND) 14, mientras que al PND60 metformina impidió significativamente el aumento de estradiol. Coherentemente, CYP3A2 hepática (enzima que metaboliza el estradiol) se redujo en los hijos de madres obesas y esta disminución fue evitada por el tratamiento con metformina. La generación de quistes ováricos también fue prevenida por la metformina en ratas hijas de madres obesas. En conclusión, la metformina previno algunas alteraciones reproductivas provocadas por la obesidad materna en la descendencia. Es interesante notar que la descendencia de madres obesas tratadas con metformina tuvo un mayor peso que las ratas tratadas solo con dieta alta en grasa, lo que hace pensar que metformina puede ejercer un efecto sobre el feto durante la gestación.

Area de la Farmacología: Farmacología endocrina-reproductiva

Dirección de Correo: gonzalo.cruz@uv.cl

Agradecimientos: FONDECYT Iniciación N° 111-30707, Programa FONDECYT-CONICYT

SIMPOSIO 8: "MICRO Y NANOENCAPSULACIÓN TERAPÉUTICA"

Coordina: Dr. Marcos Fernández Escobar

MICROENCAPSULACIÓN PARA LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS. Microencapsulation for controlled drug release.

Fernández Escobar, M.

Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción.

La investigación y desarrollo de sistemas farmacéuticos que liberen el fármaco en forma controlada y continua durante largos periodos de tiempo, resulta especialmente adecuado y necesario en el tratamiento de enfermedades crónicas. Tal es el caso de los sistemas de liberación controlada de fármacos, que tienen como objetivo principal obtener una respuesta terapéutica continua y uniforme durante el tiempo deseado, reduciendo el número de administraciones y disminuyendo los efectos secundarios, permitiendo así un uso más racional de los fármacos. Dentro de las tecnologías utilizadas para la obtención de dichos sistemas, la microencapsulación de fármacos en matrices poliméricas biocompatibles y biodegradables resulta particularmente interesante, ya que se obtiene un sistema reservorio de liberación controlada de fármacos en un área biológica confinada, el cual desaparece del lugar de acción una vez ejercido su efecto terapéutico. Además, permiten modular más selectivamente la liberación del fármaco, de manera que en biofase se mantienen niveles terapéuticos durante periodos de tiempo prolongados.

Area de la Farmacología: Otros

Dirección de Correo: marferna@udec.cl

Agradecimientos: CONICYT Proyecto Fondecyt de Iniciación N°111-30387

NANOPARTICULAS PARA LA ENTREGA, TERAPIA, DIAGNOSTICO Y TERANOSIS DE ENFERMEDADES CRONICAS. Nanoparticles for drug delivery, therapy, diagnostic and theranostics of Chronic Diseases.

Kogan, M.J.

Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

The advent of nanotechnology has radically changed the way we diagnose, image and treat diseases, with novel nanoplatforms capable clinically important functions, including detecting cancer at its earliest stages and location, as well as delivering anticancer therapeutics specifically to tumor cells or to disaggregate toxic aggregates of proteins (1) which is very relevant for Alzheimer's disease treatment. The nanotechnology approach to diseases has focused on three main avenues: early detection; imaging for diagnostics or assessment of targeted delivery. Also multifunctional therapeutics are of interest, whereby nanoplatforms are loaded with multiple functional moieties capable of selective targeting, imaging and delivery of specific drugs (2-4). In relation with this is possible to mention the so called theranostics which consist in the diagnostic and treatment

of pathologies in a unique procedure (5). In the talk will be discussed the potential use of different nanomaterials multifunctionalized with different biomolecules for chronic diseases (cancer and Alzheimer's disease) theranostics, diagnostic in vitro for the ultrasensible detection of biomarkers and nanoplatforms for drug delivery. The state of the art of clinical applications of nanomaterials in diagnostic and treatment will be commented. References 1. ACS Appl. Mater. Interfaces, 2013, 5 (10), pp 4076–4085 2. Nanomedicine 2014 ,9, 13, 2023-2039. 3. Current Pharmaceutical Design 2015, 21, 29, 4145–4154. 4. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, Volume 145, 1 September 2016, Pages 634-642 5. Biomaterials. 2016;103:265-277.

Area de la Farmacología: Otros

Dirección de Correo: mkogan@ciq.uchile.cl

Agradecimientos: Projects Fondecyt 113-0250, Fondecyt 113-0425, Fondap 1513001

MECANISMOS CELULARES DE INTERNALIZACIÓN DE DENDRÍMEROS PAMAM. Cellular internalization mechanisms of PAMAM dendrimers.

Vidal, F.1, Vásquez, P.1, Díaz, C.2, Nova, D.1, Alderete, J.2, **Guzmán, L.1**

1. Laboratorio de Neurobiología Molecular, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. 2. Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Concepción.

Loa dendrímeros de poliamidoamina (PAMAM) son polímeros

ramificados muy utilizados como nanotransportadores de drogas, por lo que es importante entender sus mecanismos de internalización celular, debido a que esto determina su distribución intracelular, asociación a organelos, cinética de ingreso a los tejidos y liberación de la droga. Aunque los mecanismo de internalización de dendrímeros ha sido estudiado en distintos tipos de células, en el caso de las neuronas no han sido descritos. Dendrímeros con distinto tipo de sustituciones en su superficie poseen distintas características en cuanto a encapsulación de fármacos y de interacción con células. En este trabajo analizamos la internalización en neuronas hipocampales de dendrímeros PAMAM (G4) sustituidos con polietilenglicol (PP50), ácido fólico (PFO) y acrilato (PAC). Nuestra aproximación experimental involucra el análisis de procesos de endocitosis mediante microscopía confocal y el uso de inhibidores específicos para endocitosis. De esta forma confirmamos que los dendrímeros con cargas neutras o negativas (PP50 y PAC) no son capaces de ser internalizados que, en cambio, los que poseen cargas superficiales positivas (G4 y PFO) si son capaces de ingresar a neuronas hipocampales. De acuerdo a los resultados con uso de inhibidores y en base a colocalización de marcadores específicos, esto se lleva a cabo mediante procesos asociados a clatrina y caveolina. Debido a la alta importancia que han tomado las enfermedades neurodegenerativas, estos resultados cobran relevancia ya que contribuyen a formar una base de conocimiento sobre el cual introducir variantes de nanotransportadores con capacidad de ser internalizados en forma específica al tejido.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular

Dirección de Correo: joleguzman@gmail.com

Agradecimientos: FONDECYT 113-1004, FONDECYT 113-0531, Becas de Doctorado de CONICYT. Centro de Microscopía Avanzada del Bio Bio (CMA).

COMUNICACIONES ORALES (ORAL PRESENTATIONS)

SESIÓN 1: INCORPORACIÓN A LA SOFARCHI.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y EFECTO ANSIOLÍTICO DE EXTRACTOS SECOS ESTANDARIZADOS DE MELISSA OFFICINALIS Y ROSMARINUS OFFICINALIS EN RATAS SPRAGUE DAWLEY. Antioxidant activity and anxiolytic effect of standardized dry extracts of *Melissa officinalis* and *Rosmarinus officinalis* in Sprague Dawley rats.

Gallardo, C.A.; Letelier, M.E.

Laboratorio de Farmacología y Toxicología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Todas las enfermedades asociadas estrés oxidativo, enfermedades neurodegenerativas, tales como Parkinson y Alzheimer, se han asociado a estrés oxidativo, probablemente por las altas concentraciones neuronales de cobre y hierro. Así también desordenes psiquiátricos, como depresión y ansiedad, se han asociado a niveles elevados de productos de peroxidación lipídica. Las plantas poseen una gran cantidad de compuestos antioxidantes los cuales están involucrados en sus mecanismos de defensa contra las injurias de su medio ambiente. *Melissa officinalis* es una planta que se ha caracterizado por su acción ansiolítica y *Rosmarinus officinalis*, por su efecto depresivo; sin embargo, los estudios farmacológicos son escasos. Es por ello que surge nuestro interés en la evaluación de la capacidad antioxidante y el efecto ansiolítico de la administración de preparados herbales de estas plantas en un modelo murino. Para evaluar la actividad antioxidante se indujo estrés oxidativo a través del sistema oxidante Cu^{2+} /ascorbato utilizando microsomas hepáticos de rata. Los extractos de ambas plantas previnieron la oxidación de los lípidos y de los tioles microsómicos inducida por Cu^{2+} , tanto en presencia como en ausencia de ascorbato. Esto indica que los principios activos presentes en estos extractos podrían ejercer su acción antioxidante por atrapamiento de radicales libres del oxígeno y quelando iones metálicos que generan ROS a través de las reacciones de Haber-Weiss y/o Fenton. Por otra parte, ambos extractos inhibieron la actividad N-desmetilante de aminopirina del sistema citocromo P450. Interesantemente, ambos extractos produjeron un efecto significativo sobre la actividad motora y exploratoria de las ratas, lo que indica efecto ansiolítico. Estos resultados, aunque preliminares, nos permiten avanzar en el desarrollo de nuevos fitofármacos seguros y eficaces para el tratamiento de enfermedades psiquiátricas.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales

Dirección de Correo: carlos.gallardo@ug.uchile.cl

Agradecimientos: Financiamiento por parte del Laboratorio de Farmacología y Toxicología a cargo de la Prof. María Eugenia Letelier. Agradecimientos a Laboratorio Ximena Polanco por preparar y donar los extractos vegetales, y a la Prof. Gabriela Díaz-Veliz por su ayuda en el desarrollo de los experimentos conductuales.

Socio Patrocinante: Dra. María Eugenia Letelier M.

SESIÓN 1: INCORPORACIÓN A LA SOFARCHI.

AGENTES CON TROPISMO MITOCONDRIAL INDUCEN EFECTO DESACOPLANTE Y APOPTOSIS SELECTIVA EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER COLORECTAL HUMANO. Mitochondriotropic agents induce uncoupling effect triggering apoptosis selectively in human colorectal cancer cell lines.

Catalán, M.1*, Jara, J.A.2, Rojas, D.1, Castro-Castillo, V.3, Rebolledo, S.4, Pavani, M.1, Ferreira, J.1

1Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 2Programa de Farmacología y Farmacogenética, IICO, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 3Departamento de Físicoquímica y Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 4Departamento de Química, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación, Santiago, Chile.

Las células tumorales presentan un elevado potencial de membrana mitocondrial, alta actividad glicolítica y reducida masa mitocondrial. Estas propiedades han hecho interesante a este organelo como blanco farmacológico en la búsqueda y diseño de nuevas moléculas que afecten la bioenergética de estas células. En relación a los antecedentes previos, se ha descrito la utilización de cationes lipofílicos, como el trifenilfosfonio, ser capaces de conducir diversos farmacóforos a la mitocondria. Previamente, se diseñó y utilizó derivados del ácido gálico adosados a una cadena alifática de diez carbonos unida a un trifenilfosfonio (TPP+C10). Se evidenció efectos citotóxicos en diferentes células tumorales tanto de ratón como humanas, estableciéndose como mecanismo de acción desacoplar la fosforilación oxidativa. En este trabajo estudiamos nuevos fármacos, mono (SA-TPP+C10) y di-hidroxi benzoatos (GA-TPP+C10) acoplados a una cadena de diez carbonos unida a un grupo trifenilfosfonio para establecer actividad citotóxica en relación a los números y posiciones de los hidroxilos en el anillo benzoico, en líneas tumorales de cáncer de colorectal. A través del ensayo de MTT, evaluamos la citotoxicidad de estos compuestos en las líneas celulares HCT-15, COLO 205 y CCD841 CoN. El efecto desacoplar fue evaluado a través de polarografía, niveles de ATP por luminiscencia, potencial de membrana mitocondrial a través de TMRM, activación de AMPK por western blot y la apoptosis por citometría de flujo por la tinción anexina V/yoduro de propidio. Los resultados mostraron que todos los compuestos producen efecto citotóxico en las líneas estudiadas, en forma selectiva, provocando el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, disminuyendo el potencial de membrana mitocondrial y el ATP, activando AMPK, llevando posteriormente a la apoptosis celular.

Area de la Farmacología: Otros

Dirección de Correo: mabelcatalan@med.uchile.cl

Agradecimientos: Proyecto Inserción a la Academia (PAI) Mabel Catalán N°791220004., Proyecto Enlace ENL022/16 Universidad de Chile.

Socio Patrocinante: Dr. Jorge Ferreira Parker

SESIÓN 1: INCORPORACIÓN A LA SOFARCHI.

LA FRAGMENTACIÓN MITOCONDRIAL AFECTA LA ABSORCIÓN DE GLUCOSA DEPENDIENTE DE INSULINA MEDIANTE LA MODULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE AKT A TRAVÉS DE LA CAPTACIÓN DE Ca^{+2} MITOCONDRIAL. Mitochondrial fragmentation impairs insulin-dependent glucose uptake by modulating Akt activity through mitochondrial Ca^{+2} uptake.

del Campo, A., Parra, V., Vásquez-Trincado, C., Gutiérrez, T., Morales, P.E., López-Crisosto, C., Bravo-Sagua, R., Navarro-Márquez, M.F., Verdejo, H.E., Contreras-Ferrat, A., Troncoso, R., Chiong, M., Lavandero, S.

Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS)-CEMC, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas y Facultad Medicina, Santiago, Chile; Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile; and Department of Internal Medicine-Cardiology, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, Texas.

Insulin is a major regulator of glucose metabolism, stimulating its mitochondrial oxidation in skeletal muscle cells. Mitochondria are dynamic organelles that can undergo structural remodeling in order to cope with these ever-changing metabolic demands. However, the process by which mitochondrial morphology impacts insulin signaling in the skeletal muscle cells remains uncertain. To address this question, we silenced the mitochondrial fusion proteins Mfn2 and Opa1 and assessed insulin-dependent responses in L6 rat skeletal muscle cells. We found that mitochondrial fragmentation attenuates insulin-stimulated Akt phosphorylation, glucose uptake and cell respiratory rate. Importantly, we found that insulin induces a transient rise in mitochondrial Ca^{+2} uptake, which was attenuated by silencing Opa1 or Mfn2. Moreover, treatment with Ruthenium red, an inhibitor of mitochondrial Ca^{+2} uptake, impairs Akt signaling without affecting mitochondrial dynamics. All together, these results suggest that control of mitochondrial Ca^{+2} uptake by mitochondrial morphology is a key event for insulin-induced glucose uptake.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular

Dirección de Correo: andreadelcamposfeir@gmail.com

Agradecimientos: Dr. Enrique Jaimovich, Dr. Sergio Lavandero, Dr. Leonel Rojo Castillo

Socio Patrocinante: Dr. Leonel Rojo Castillo

SESIÓN 1: INCORPORACIÓN A LA SOFARCHI.

EFFECTO DEL ASCORBATO, DEFEROXAMINA Y N-ACETILCISTEÍNA SOBRE EL TAMAÑO DE INFARTO EN UN MODELO MURINO DE ISQUEMIA-REPERFUSIÓN GLOBAL EN LANGENDORFF. Effect of ascorbate, deferoxamine and N-acetylcysteine on infarct size in a Langendorff global ischemia-reperfusion murine model.

Castillo, G.1, González, J.1, Brito, R.1, Sánchez, G.2, Prieto, J.C.3,4, Rodrigo, R.1

1Laboratorio de Estrés Oxidativo y Nefrotoxicidad, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2Programa de Fisiopatología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 3Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 4Centro Cardiovascular, Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

Introducción. El estrés oxidativo cumple un rol central en la fisiopatología del infarto agudo de miocardio. El uso de antioxidantes debiera resultar plausible para disminuir el tamaño del infarto. Objetivo. Conocer la concentración óptima de ascorbato, deferoxamina y N-acetilcisteína en la disminución del tamaño de infarto en un modelo murino de isquemia global-reperfusión (IR). Materiales y métodos. Los corazones de 38 ratas (250-300 g) fueron perfundidos de forma retrógrada con Ringer Krebs-Henseleit durante 20 minutos. Se detuvo el flujo por 30 minutos (tiempo de isquemia global) y se reperfundió por 60 minutos adicionando ascorbato (AA), deferoxamina (DFO) ó N-acetilcisteína (NAC) según los grupos (en mM): IR+AA10, IR+AA5, IR+AA1, IR+DFO0,3, IR+DFO0,1, IR+DFO0,06, IR+DFO0,03, IR+NAC1 e IR+NAC0,1). Se midió el tamaño del infarto marcando con cloruro de trifeniltetrazolio y calculando la relación porcentual entre área de miocardio infartado y miocardio total. Resultados. El grupo control (sólo isquemia y reperfusión) mostró un tamaño de infarto de un 41% (n=13). En los grupos de ascorbato fue de 66% y 28% para 10 mM (n=3) y 1 mM (n=4), respectivamente. Deferoxamina 0,06 mM (n=3) mostró 8,8% de tamaño de infarto en comparación con 1 (n=3) y 0,03 mM (n=2) (19,5% y 30% de tamaño de infarto cada grupo). Con NAC 1 mM (n=3) hubo un tamaño de infarto de 11,8% y NAC 0,1 mM de 6% (n=1). Conclusión. Los datos sugieren que el efecto de ascorbato fue cardiotóxico a 5 y 10 mM y moderadamente protector a 1 mM sobre el tamaño de infarto. Deferoxamina y N-acetilcisteína tuvieron un marcado efecto protector a concentraciones de 0,06 y 1 mM, respectivamente. El efecto de estos antioxidantes amerita mayor estudio para reducir el tamaño del infarto inducido por isquemia-reperfusión. Se debe aumentar el tamaño muestral para análisis estadístico.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular

Dirección de Correo: gabrielcastillor@ug.uchile.cl

Agradecimientos: (FONDEF ID15I10285).

Socio Patrocinante: Dr. Juan Carlos Prieto

SESIÓN 1: COMUNICACIÓN ORAL LIBRE.

DIFERENCIA DE GENERO EN LA SENALIZACION MICROGLIAL DE CX3CR1 DETERMINA LA SUCEPTIBILIDAD A LA OBESIDAD. Gender differences in microglial CX3CR1 signaling determine obesity susceptibility.

Dorfman, M.D.; Douglass, J.D.; Fasnacht, R.; Thaler, J.P.

University of Washington, Seattle WA, USA.

Obesity in rodents consuming high fat diets (HFD) is associated with a hypothalamic injury response that includes increased microglial activation and inflammatory signaling. Since it is unknown whether these alterations are markers of obesity or contributors to its pathogenesis, we investigated the metabolic consequences of increasing microglial activation. In the CNS, neurons tonically suppress microglial activity by producing fractalkine (CX3CL1), which binds its receptor CX3CR1 on microglia. Accordingly, Cx3cr1 knockout (KO) mice have hyperactive microglia and increased susceptibility to CNS inflammatory diseases. Metabolic phenotyping of KO mice and their wild-type (WT) and heterozygous (HT) littermate controls revealed that HFD-fed female KOs gained more weight and fat mass than both controls. The predisposition to obesity in female KOs resulted from reduced energy expenditure rather than altered food intake. Consistent with their increased adiposity, female KOs displayed mild glucose intolerance after 21 weeks on HFD. In contrast with HFD-fed females, females fed chow and males on either diet were metabolically indistinguishable on the basis of genotype. Furthermore, both male HT and KOs displayed the expected increase in hypothalamic microglial number after HFD exposure, but only female KOs (not HTs) showed the same microgliosis, consistent with the presence of a Cx3cr1-dependent protective mechanism in females. Conversely, administration of the CX3CR1 ligand CX3CL1 into the CNS or overexpressing the peptide specifically in the hypothalamus of HFD-fed males converts them to a female-like metabolic phenotype with reduced microglial activation and weight gain. Together, these data implicate neuron-microglia crosstalk in modulation of energy homeostasis and identify microglial CX3CR1 signaling as a potential obesity therapeutic target.

Area de la Farmacología: Otros

Dirección de Correo: dorfmanm@uw.edu

Agradecimientos: This work was supported by the American Diabetes Association (Pathway Award to JPT), American Heart Association (Scientist Development Grant to MDD) and the NIH (K08 to JPT and NORC P&F to MDD).

Socio Patrocinante: Dr. Ramón Sotomayor-Zárate

SESIÓN 2: INCORPORACIÓN A LA SOFARCHI.

GENÉTICA FUNCIONAL DE EAAT3 EN TRASTORNO OBSESIVO-COMPULSIVO. Functional Genetics of EAAT3 in Obsessive-Compulsive Disorder.

Moya, P.R.

Laboratorio de Neurogenética, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

El Trastorno Obsesivo-Compulsivo (TOC) es una enfermedad psiquiátrica crónica, grave y debilitante. El TOC se caracteriza por la presencia de obsesiones -pensamientos intrusivos, recurrentes y progresivos, que generan ansiedad- y por compulsiones -rituales mentales o conductas repetitivas que se realizan en respuesta al pensamiento obsesivo, con el fin de aliviar temporalmente la ansiedad. El TOC afecta a un 2-3% de la población mundial, siendo por tanto uno de los trastornos psiquiátricos más prevalentes. Aunque su etiología es desconocida, existe fuerte evidencia que el TOC tiene bases genéticas, avalado por estudios de ligamiento, casos-controles, y recientes meta-análisis. El 2009, en el estudio de asociación casos-controles más grande publicado a la fecha, identificamos variantes genéticas del gen SLC1A1, que comprenden un haplotipo asociado significativamente con TOC, y que además representan loci de rasgo cuantitativo de expresión (eQTL) de SLC1A1. SLC1A1 codifica para el transportador neuronal de glutamato EAAT3, miembro de la familia de transportadores de glutamato encargados de regular los niveles extracelulares de este neurotransmisor, controlando así su actividad tanto temporal como espacial en la comunicación entre neuronas. Respecto al TOC, existen múltiples líneas de evidencia que sugieren que el sistema glutamatérgico está alterado en la patología, desde análisis de metabolitos en líquido cefalorraquídeo de pacientes; ensayos clínicos con fármacos antiglutamatérgicos, y estudios de neuroimagenología que indican alteraciones del circuito cortico-estriado-tálamo-cortical, cuya comunicación ocurre fundamentalmente por glutamato y GABA. Del mismo modo, dos modelos murinos con deleciones selectivas de proteínas de sinapsis glutamatérgicas, exhiben fenotipos tipo-compulsivos homologables a humanos. Colectivamente, estos estudios otorgan soporte a la hipótesis glutamatérgica en el TOC. Nuestro objetivo es comprender el posible rol funcional que tiene EAAT3 en la manifestación de conductas tipo-compulsivas. Para ello, hemos generado ratones genéticamente modificados para manipular EAAT3 en grupos neuronales discretos. Nuestros resultados indican que la sobre-expresión de EAAT3, en sinapsis glutamatérgicas, dirigida por el promotor CamKII α , resulta en un aumento significativo de conductas tipo ansiosas y compulsivas. Este cambio está directamente relacionado a la sobre-expresión por este promotor, por cuanto la sobre-expresión dirigida por GAD65 (promotor con actividad restringida a neuronas GABAérgicas) no gatilla cambios en la conducta. Interesantemente, el fenotipo de este ratón con sobre-expresión de EAAT3 bajo CamKII α puede ser recuperado completamente luego de la administración crónica oral de clomipramina (40 mg/kg, 21 días) o fluoxetina (30 mg/kg, 21 días), otorgando validez predictiva a este nuevo modelo genético de TOC. Nuestros esfuerzos actuales están centrados en dilucidar el mecanismo a nivel sináptico que explicaría la aparición de las conductas tipo compulsivas en nuestro modelo de TOC a partir de cambios en la expresión de EAAT3. Pretendemos posicionar a este transportador

como una nueva diana farmacológica para TOC.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología

Dirección de Correo: pablo.moya@uv.cl

Agradecimientos: Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral CNPC, proyecto DIUV-CI N° 01/2006 Centro Interdisciplinario en Neurociencias de Valparaíso CINV, proyecto ICM-P09-022-F Núcleo Milenio NuMIND, Proyecto ICM 130011 Fondecyt Regular 1141272
Socio Patrocinante: Dra. Georgina M. Renard

SESIÓN 2: INCORPORACIÓN A LA SOFARCHI.

TGF-BETA1 REGULA A TRAVÉS DE FOXO1 LA DIFERENCIACIÓN Y LA DEFENSA ANTIOXIDANTE EN FIBROBLASTOS CARDIACOS.

FoxO1 mediates TGF-beta1-dependent cardiac fibroblasts differentiation and antioxidant defense.

Vivar, R.1,2,3, Lavandero, S.1, Chiong, M.1, Díaz-Araya, G.A.1,2

1Advanced Center of Chronic Diseases (ACCDiS). 2Laboratorio de Farmacología Cardiovascular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. 3Programa de Farmacología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Patologías como, infarto cardiaco, hipertensión y diabetes, tienen en común inducir daño al corazón y fibrosis miocárdica. Los fibroblastos cardiacos (FC) mantienen la homeostasis de la matriz extracelular (MEC) en el corazón, mientras que frente a daño tisular, se diferencian y vuelven más activos, secretando grandes cantidades de componentes de la MEC y favoreciendo finalmente la fibrosis cardiaca. Los mecanismos que inducen su diferenciación y larga permanencia en la zona dañada post reparación tisular, continúa siendo materia de debate. TGF-beta1 es la principal proteína asociada a diferenciación de FC, mientras que su rol en la supervivencia de FC no ha sido dilucidada. Respecto a esto, la apoptosis por estrés oxidativo es uno de los mecanismos que inducirían la desaparición de los FC post-reparación. Por otro lado, FoxO1 un factor de transcripción involucrado en diferenciación y regulación del estrés oxidativo, es importante para algunas funciones del TGF-beta1. Sin embargo, se desconoce su rol en los efectos del TGF-beta1 sobre FC. Nuestros resultados señalan que TGF-beta1 regula la actividad y expresión de FoxO1, induciendo diferenciación de FC (expresión de proteínas profibróticas, mayor capacidad contráctil y menor capacidad proliferativa), lo cual fue inhibido por el silenciamiento y potenciado por la sobreexpresión de FoxO1. Por otro lado, TGF-β1 previno la apoptosis inducida por estrés oxidativo (H2O2), paralelo a mayor expresión de SOD2 y Catalasa. El silenciamiento de ambas enzimas antioxidantes inhibió los efectos citoprotectores del TGF-beta1. Además, los efectos antiapoptótico/antioxidante del TGF-beta1 fueron prevenidos por el silenciamiento y potenciados por la sobreexpresión de FoxO1. En conjunto estos resultados sugieren a FoxO1 como un novedoso blanco farmacológico en la prevención de la fibrosis cardiaca inducida por TGF-β1 en diversas patologías.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular

Dirección de Correo: raulvivar@med.uchile.cl

Agradecimientos: Proyecto Postdoctoral #3130657 (CONICYT) Concurso Ayuda Viajes 2016 (Universidad de Chile).

Socio Patrocinante: Dr. Guillermo Díaz-Araya

SESIÓN 2: INCORPORACIÓN A LA SOFARCHI.

ANÁLISIS DE MUTACIONES CAUSANTES DE HIPERKPLEXIA, USANDO LA ESTRUCTURA ATÓMICA DEL RECEPTOR DE GLICINA HUMANO. Examination of the hiperkplexia phenotype in the x-ray structure of the human glycine receptor α1 subunit.

Moraga-Cid, G., Sauguet, L., Huon, C., Malherbe, L., Girard-Blanc, C., Petres, S., Murail, S., Taly, A., Baaden, M., Delarue, M., Corringer, P.J.

Universidad de Concepción. Instituto Pasteur, 75015 Paris, Francia. Universidad Paris Diderot 75015 Paris, Francia.

El receptor de glicina (RGLi) es un canal iónico activado por ligando pentamérico (pLGICs) que cumple un rol clave en la modulación de la transmisión inhibitoria en el sistema nervioso central. El canal funcional está formado por el ensamble de 5 subunidades idénticas (homopentámeros) o diferentes (heteropentámeros). Cada subunidad presenta un dominio de unión a ligando en su porción extracelular (ECD), 4 dominios transmembrana (TMD1-4) responsables de la formación del poro acuoso y un largo dominio intracelular conectado los TMD3 y TMD4. Los TMD han sido caracterizados como importantes blancos de acción de variadas moléculas moduladoras tales como etanol y anestésicos generales. En la misma línea, los TMD son el mayor locus para mutaciones congénitas causantes de la enfermedad de sobresalto o hiperkplexia, cuyo efecto es la alteración de la transición alostérica durante los procesos de activación o desensibilización. Recientemente, hemos reportado una quimera funcional entre el ECD del receptor procarionte GLIC y los TMDs de la subunidad alfa 1 del RGLi. En este trabajo, la estructura atómica de esta quimera fue resuelta a 3.5Å. La estructura tridimensional de los TMDs muestra la orientación y la interacción de aminoácidos claves para los mecanismos de activación del receptor, además de aquellos formando los bolsillos de unión a etanol. Análisis funcionales de mutaciones en estos aminoácidos se correlacionan con la pérdida en estas interacciones y la subsecuente alteración de la transición alostérica. De esta forma, la combinación de datos estructurales y funcionales ha permitido sugerir un modelo estructural de los efectos de una serie de mutaciones causantes de hiperkplexia, así como un mecanismo molecular que explican los efectos moduladores de etanol en el RGLi. Finalmente, esta primera estructura atómica de los TMDs del RGLi permite abrir nuevas líneas de investigación tendientes al diseño de nuevas fármacos alostéricos del RGLi.

Area de la Farmacología: Farmacocinética

Dirección de Correo: gumoraga@udec.cl

Agradecimientos: Fondation pour la Recherche Medicale. Postdoctoral Fellow SPF20120523888. Proyecto Fondecyt 1160851

Socio Patrocinante: Dr. Jorge Fuentealba Arcos

SESIÓN 2: INCORPORACIÓN A LA SOFARCHI.

INTERACCIÓN DE CATIONES BIVALENTES: COBRE Y MAGNESIO CON METADONA EN UN MODELO DE DOLOR NEUROPÁTICO EN EL RATÓN. Interaction divalent cation: copper and magnesium methadone in a model of neuropathic pain in mouse.

González, V.¹, Pelissier, T.1, López, J.1, Hernández, A.2, Constandil, L.2

¹Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; ²Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile

El cobre y el magnesio son minerales trazas que participan en diversos procesos fisiológicos como cofactores enzimáticos y moduladores de la excitabilidad neuronal del sistema nervioso central. Ambos minerales han mostrado efectividad como analgésicos en modelos de dolor agudo, sin embargo, su efecto en el alivio de dolores neuropáticos no ha sido comprobado. El objetivo de este trabajo fue investigar si el cobre y magnesio presentan efectos antinociceptivos y/o si estos potencian el efecto de la metadona, un opioide comúnmente usado en clínica como analgésico en dolores crónicos. Para esto, se estudiaron los efectos antinociceptivos de cobre, magnesio, la interacción entre ellos y la interacción con metadona, en un modelo de dolor neuropático en el ratón generado por la sección del nervio sural. El CuSO₄ (10 mg/kg, i.p.), MgSO₄ (300 mg/kg, i.p.) y metadona (3 mg/kg, i.p.) presentaron un efecto antinociceptivo durante 60 minutos, evaluado en el test de hot-plate. La administración crónica por 7 días de CuSO₄ y MgSO₄ mediante bomba Alzet®, mostró que la actividad antinociceptiva de ellos perdura más allá de la entrega de los fármacos, siendo de 7 días para el CuSO₄ y 3 días para el MgSO₄. Las asociaciones CuSO₄/MgSO₄ y MgSO₄/metadona fueron de tipo supra-aditivo, mostrando en el isoblograma, un índice de interacción de 0.488 y 0.632 respectivamente, mientras que CuSO₄/metadona fue solamente aditiva, con un índice de interacción de 1.148. Estos estudios preclínicos sugieren que los iones Cu²⁺ y Mg²⁺ podrían utilizarse en el tratamiento de dolores crónicos y debido a que Mg²⁺ potencia el efecto analgésico de metadona, esta asociación permitiría disminuir la dosis de este opioide en clínica y por consiguiente sus efectos secundarios.

Area de la Farmacología: Farmacocinética

Dirección de Correo: val.isabel.gonzalez@gmail.com

Agradecimientos: Financiado por Proyecto CEDENNA FB0807 y DICYT 021543CC

Socio Patrocinante: Dra. Teresa Pelissier

SESIÓN 2: INCORPORACIÓN A LA SOFARCHI.

INFLUENCIA DE LA GLICOSILACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE BIOFÁRMACOS RECOMBINANTES. Glycosylation and biopharmaceuticals production.

Montesino, R.

Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencia Biológicas, Universidad de Concepción.

La selección de los sistemas de expresión para la producción de biofármacos ha estado determinada por la posibilidad de manipular genéticamente las células hospederas, su capacidad para realizar modificaciones post-traduccionales acorde a los requerimiento del biofármaco, los niveles de expresión de la proteína de interés y los costos asociados a su producción. Estos aspectos han sido motivo de investigación y desarrollo con el objetivo de adecuar los sistemas de expresión y las condiciones de cultivos para obtener líneas celulares que expresen biofármacos con incrementada actividad biológica. Se conoce que la glicosilación, es una modificación co/post-traduccionales presente en la mayoría de los biofármacos mediante la cual se enlazan cadenas de carbohidratos a las asparaginas presentes en el sequon Asn-X-Ser/Thr. Esta modificación enzimática, célula específica, que ocurre durante la síntesis y secreción de las proteínas, puede modular la actividad biológica de las biofármacos. El desarrollo de líneas celulares productivas con modificación en la ruta de secreción, mediante la introducción de enzimas glicosiltransferasas y glicosidasas ha posibilitado la generación de nuevos sistemas productivos de biofármacos con actividad biológica potenciada.

Area de la Farmacología: Otros

Dirección de Correo: rmontesino@udec.cl

Agradecimientos: Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Biológicas. Proyecto Fondec ID14110335

Socio Patrocinante: Dr. Jorge Roberto Toledo

SESIÓN 1: COMUNICACIÓN ORAL LIBRE.

PROPÓLEOS COMO COADYUVANTE EN EL PROCESO DE CICATRIZACIÓN DE HERIDAS DE PIE EN PACIENTES DIABÉTICOS DEL POLICLÍNICO DE ESPECIALIDADES DEL HOSPITAL REGIONAL DE TALCA. Propolis as adjuvant in the healing of human diabetic foot ulcer receiving care the Polyclinic of Specialties Regional Hospital of Talca.

Zúñiga-Hernández, J.1; Orrego, R.2,3; Mujica, V.4; Fuentealba, R.5; Ovalle, P.6; Leiva, E.7

1Unidad de Farmacología Clínica, Escuela de Medicina, Universidad de Talca, Talca, Chile. 2Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunohematología, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile. 3PIEI-ES, Universidad de Talca 4Escuela de Medicina, Universidad Católica del Maule, Talca, Chile. 5Programa de Doctorado en Investigación y Desarrollo de Productos Bioactivos, Universidad de Talca, Chile. 6Departamento de Investigación, Laboratorio Rotterdam LTDA, San Javier, Chile. 7Laboratorio Clínico Loncomilla LTDA, Talca, Chile.

En Chile (2014), 3.466 pacientes diabéticos sufrieron amputación, y más de 16.000 fueron tratados por úlceras del pie. En USA se estima que se gastan más de 10,9 billones de dólares, entre tratamiento de úlceras y amputaciones de pies. Esta es una patología compleja, multifactorial, de difícil manejo que causa importante morbilidad e invalidez. Propóleos, una resina producida por las abejas, con efectos antiinflamatorios, antimicrobianos y antioxidantes, ha sido usado en forma oral o tópica en modelos murino y humano, mejorando la cicatrización de heridas. Objetivo: Evaluar el efecto de la administración de extracto de propóleos producido en la Región del Maule, como coadyuvante en el tratamiento de heridas de pies en pacientes diabéticos del Policlínico de Especialidades del Hospital Regional de Talca. Pacientes y Métodos: 31 pacientes con heridas de pie ingresaron aleatoriamente al estudio, todos mantuvieron curaciones habituales entre 2 y 3 veces por semana; 20 recibieron propóleos sobre la herida durante la curación y 11 fueron controles, al final 3 pacientes se excluyeron. Se obtuvieron muestras de sangre y tejido a los 0, 15 y 75 días (o antes en caso de cierre de la herida) para medir marcadores de inflamación, estrés oxidativo y cicatrización. Resultados: Los pacientes tratados con propóleos muestran una disminución significativa del área de la herida (-4 cm vs -3 cm; $p < 0,05$); a nivel tisular se observó una disminución de los niveles de TNF- α , e incremento de los niveles de IL-10 y GSH. A nivel sérico no hubo diferencias. Conclusión: La administración tópica de propóleos contribuye a la curación de heridas de pie diabético, disminución de actividad inflamatoria y mejora del proceso de cicatrización.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales

Dirección de Correo: jezuniga@utalca.cl

Agradecimientos: Financiado: FIC Región del Maule BIP: 30.136.439-0

Socio Patrocinante: Dra. Jessica Zúñiga-Hernández

COMUNICACIONES EN PANELES (POSTER PRESENTATIONS) SESIÓN 1

01- MODULACIÓN DEL CANAL DE IONES TRPM8 POR FOSFORILACIÓN. Modulation of the TRPM8 ion channel by phosphorylation.

Lavanderos, B.1; Rivera, B.1; Campos, M.1; Madrid, R.1 y Pertusa, M.1

Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

TRPM8 es un canal de iones permeable a calcio, activado por frío, por voltaje, y por compuestos refrescantes como el mentol, siendo la principal entidad molecular responsable de la transducción del frío en el sistema somatosensorial. Algunos estudios han sugerido que la función de TRPM8 podría modularse por la fosforilación del canal, más específicamente, por la activación de la proteína quinasa C (PKC). Sin embargo, a pesar de la relevancia de TRPM8 en la transducción del frío y en patologías como el cáncer y el dolor neuropático e inflamatorio, las bases moleculares de este tipo de modulación postraduccional todavía se desconocen. En este trabajo hemos estudiado la respuesta de TRPM8 después del tratamiento con activadores e inhibidores de quinasas, tanto en neuronas termorreceptoras, como en células HEK293 transfectadas con el canal. Utilizando imagen de calcio, hemos encontrado que la inhibición de quinasas utilizando estaurosporina causa un aumento en la respuesta de TRPM8 a frío y mentol, sugiriendo que esta proteína está fosforilada en condición basal regulando negativamente su respuesta. La activación de la PKC con forbol-12-miristato-13-acetato produce una importante reducción de las respuestas del canal a frío y mentol, indicando que esta quinasa es un importante modulador de la función de TRPM8. Estos resultados fueron corroborados en termorreceptores de frío corneales, donde el tratamiento con PMA redujo la frecuencia de disparo basal y la respuesta al frío en estas neuronas, ambas dependientes de TRPM8. Estos resultados sugieren que algunas quinasas, entre ellas PKC, son parte de un mecanismo relevante de modulación reversible de la función de TRPM8 en el sistema somatosensorial.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular

Dirección de Correo: maria.pertusa@usach.cl

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 111-30144 (MP), 116-1733 (RM) CONICYT 211-61660 (BR), y Anillo CONICYT ACT-1113 (RM, MP).

02- DISEÑO Y DESARROLLO DE DOS EJERCICIOS PARA GUIAR LA ENSEÑANZA DE LA FARMACOLOGÍA EN LA FACULTAD DE MEDICINA, UNAM. Design and development of two exercises to guide the teaching of pharmacology in medicine school, UNAM.

Magos-Guerrero, G.A.1; Santiago, J.2; Marín, Y.3; Escobar, J.L.4; Segura, C.5.; Carrasco, O.F.5

1Jefatura de Farmacología, Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, UNAM. 2Coordinación de Evaluación, Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, UNAM. 3 Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, UNAM. 4 Laboratorio de Fitofarmacología, Departamento de Farmacología,

Facultad de Medicina, UNAM. 5Coordinación de Enseñanza, Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, UNAM.

Con el propósito de orientar el estudio, la enseñanza y la evaluación de la farmacología médica se realizaron dos sesiones farmacológicas interactivas, digitalizadas intituladas: "Farmacología de la Hipertensión Arterial Sistémica" (HAS) y "Farmacología de los Medicamentos Antituberculosos" (FMT). Cada una de las sesiones se aplicó, dentro de un tiempo de tres horas programado para su realización, a 1058 alumnos de la Facultad de Medicina, UNAM, generación 2015-2016. Para conocer la opinión de los estudiantes, al término de cada sesión se les aplicó un cuestionario de 31 reactivos. Del total de alumnos, 60% voluntariamente contestaron el cuestionario. Los resultados muestran que ambos ejercicios fueron bien recibidos, sobre todo si se comparan con el resto de las 30 sesiones que no fueron desarrolladas en la propia Facultad. Se encontró una relación lineal entre la proporción de la sesión revisada y la calificación otorgada por los estudiantes. Los alumnos que realizan más del 80% de cada sesión, otorgan las más altas calificaciones aprobatorias en cada categoría evaluada, y que los alumnos que realizaron menos del 60% de las sesiones, dan calificaciones más bajas, incluso reprobatorias. La sesión FMT fue la mejor evaluada y en opinión abierta de los alumnos, fue significativamente mejor por requerir menos tiempo para realizarse, claridad, empleo de literatura en español y amigabilidad del programa. Los autores de este trabajo concluimos que es valioso desarrollar material didáctico adecuado a los contenidos temáticos programados, debido a que ofrece varias ventajas: es fácilmente perfectible; se adapta a las necesidades requeridas por nuestro programa; contribuye a dirigir adecuadamente el estudio de los estudiantes, la enseñanza de los profesores y la evaluación sumativa y formativa pertinente a la medicina.

Area de la Farmacología: Educación en farmacología

Dirección de Correo: gamagos@unam.mx

Agradecimientos: Proyecto aprobado por la UNAM. PAPIIME-26-PE204915

03- EFECTO DE LA N-SUSTITUCIÓN DE LA LORCASERINA SOBRE LAS AFINIDADES POR RECEPTORES 5-HT₂. Effect of N-substitution of lorcaserin on 5-HT₂ receptor affinities.

Acevedo-Fuentes, W.A.1; Brea, J.2; Loza, M.I. 2: Cassels, B.K.1

1 Laboratorio de Química Bionómica, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. 2 Centro de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas, Universidad de Santiago de Compostela.

La lorcaserina [(S)-7-cloro-1-metil-3-benzacepina] es un anorexígeno aprobado por la FDA que funciona activando receptores 5-HT_{2C}. En el trascurso de su desarrollo se exploraron distintos patrones de sustitución en diversas posiciones de la molécula, pero ni las patentes respectivas ni las publicaciones científicas ulteriores muestran los efectos de la sustitución en el átomo de nitrógeno. Un aspecto que dominó estos estudios fue la búsqueda de selectividad 5-HT_{2C}/5-HT_{2A} que solo se logró en un

grado moderado, limitando su empleo a casos de obesidad mórbida o sobrepeso asociado con otras patologías. Se sabe que la N-bencilación de agonistas 5-HT₂ tales como feniletilaminas o triptaminas se asocia con aumentos de diez o más veces de su afinidad por estos receptores. Postulamos entonces que esta modificación de lorcaserina y análogos originaría un aumento similar de las afinidades de estos productos. Sintetizamos una serie de 15 derivados de lorcaserina N-sustituidos con grupos alilo, bencilo, 2-hidroxibencilo y 2-metoxibencilo, de su análogo sin cloro, de su derivado metoxilado en el C-8, del metoxiderivado sin cloro y del precursor de este último con un metileno en lugar del metilo. Se determinó su capacidad de desplazar radioligandos ([¹H]ketanserina y [¹H]mesulergina) desde receptores humanos 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C} expresados establemente en células CHO y HeLa. Todos los derivados menos los N-2-hidroxibencilados mostraron una disminución importante en dos últimos subtipos pero un aumento leve en los receptores 5-HT_{2A}, especialmente en el caso de la lorcaserina. Inesperadamente, los derivados N-2-hidroxibencilados evidenciaron una mayor disminución de afinidad por los receptores 5-HT_{2A}. Esta observación se contrapone con lo que se sabe de los derivados análogos de feniletilaminas alucinógenas y podría contribuir al desarrollo de nuevos anorexígenos con menores efectos colaterales.

Area de la Farmacología: Farmacoquímica
Dirección de Correo: bcassels@uchile.cl
Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 1150868
Socio Patrocinante: Dr. Miguel Iván Reyes Parada

04- EVALUACIÓN DEL POSIBLE POTENCIAL ANTIATEROSCLERÓTICO DE PRODIGIOSINAS BACTERIANAS. Evaluation of possible antiatherosclerotic potential of bacterial prodigiosins.

Cuevas, A.1,2; Saavedra, N.2; Silva, J.C.3; Cavalcante, M.F.3; Salazar, L.A.2; Abdalla, D.S.3

1 Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera; 2 Centro de Biología Molecular & Farmacogenética, Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco Chile; 3 Departamento de Análisis Clínicos y toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

Introducción: Las prodigiosinas son una familia de pigmentos rojos de origen bacteriano, caracterizados por tener en común un esqueleto pirrolilpirrometano. Ha sido demostrado que poseen actividad antiproliferativa e inmunomoduladora, destacando la modulación de linfocitos T. La aterosclerosis es una patología inmunoinflamatoria cuya progresión se asocia con inmunidad adaptativa, demostrándose que la presencia de linfocitos Th-1 induce un fenotipo proaterosclerótico y linfocitos Th-2 o T-reg uno antiaterosclerótico. Así, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de prodigiosina y undecylprodigiosina en ensayos in vitro asociados a procesos relacionados con aterosclerosis y evaluar el efecto del tratamiento oral con prodigiosina o undecylprodigiosina sobre marcadores séricos de linfocitos Th-1/Th-2 en ratones C57BL/6 LDLR^{-/-}. Resultados: El tratamiento con 2 a 8 µM de prodigiosina o undecylprodigiosina demostró inhibir de forma dosis dependiente la migración de células endoteliales y de musculo liso (p<0.05), así como también la formación de

estructuras capilares en un ensayo de angiogénesis en matrigel (p<0.01). Por otra parte, ambos tratamientos demostraron tener un efecto acotado sobre la captación de partículas de Dil-LDL(-) (electronegativa) por parte de macrófagos derivados de monocitos THP-1 (-17%, p<0.01). El tratamiento oral con prodigiosina (50 y 500 µg/kg/día) demostró inhibir significativamente Tnf-alfa (-43%), Inf-gamma (-93%), Il-2 (-60%) e Il-4 (-99%). Undecylprodigiosina logró inhibir significativamente Inf-gamma (-66% con dosis de 50 y 500 µg/kg/día), Il-5 (-69% con 500 µg/kg/día) e incrementar la concentración de Il-4 con 500 µg/kg/día de tratamiento (83%, p<0.05). Conclusión: las prodigiosinas bacterianas modifican favorablemente la respuesta de células implicadas en la fisiopatología de la aterosclerosis y modulan la expresión de citosinas asociadas a linfocitos T-colaboradores, con un sesgo hacia un fenotipo antiaterosclerótico.

Area de la Farmacología: Biotecnología
Dirección de Correo: alejandro.cuevas@ufrontera.cl
Agradecimientos: Proyecto Fondecyt Iniciación N°111-40906

05- MODIFICACIÓN DE LA GLICOSILACIÓN DE HEPO RECOMBINANTE EXPRESADA EN CÉLULAS EPITELIALES DE GLÁNDULA MAMARIA. Modification of the glycosylation of recombinant hEPO expressed in mammary gland epithelial cells.

Leiva, M.J., Montesino, R., Jiménez, S.P., Toledo, J.R.

Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.

La glicosilación o adición de oligosacáridos a la secuencia de una proteína es una de las modificaciones post-traduccionales de mayor complejidad. El patrón de glicosilación influye en la actividad biológica y la vida media in vivo de una glicoproteína, por esto la producción de gran parte de los biofármacos proteicos de uso terapéutico en su forma activa requiere de la maquinaria biosintética de células de mamíferos que imitan la glicosilación humana. En los últimos años la expresión de proteínas recombinantes en leche de mamíferos ha sido ampliamente estudiada. Sin embargo, la glándula mamaria posee una maquinaria de glicosilación limitada que genera diferencias en el patrón de glicosilación de las proteínas recombinantes secretadas en leche en comparación a su contraparte nativa. Estas diferencias limitan la utilización de este atractivo sistema de expresión a proteínas cuya actividad biológica no esté comprometida con un patrón de glicosilación específico. Estudios previos han demostrado que el patrón de glicosilación puede ser controlado intracelularmente mediante la modulación de la expresión de las enzimas glicosiltransferasas. En el presente trabajo logramos modificar el patrón de glicosilación de una variante de hEPO recombinante in vivo mediante la sobre-expresión de GnTasa IV en glándula mamaria de cabras. Estos resultados sugieren que es posible "humanizar" el patrón de proteínas recombinantes secretadas a la leche mediante modificación enzimática de la glándula mamaria.

Area de la Farmacología: Biotecnología
Dirección de Correo: mariaileiva@udec.cl
Agradecimientos: VIU 130056
Socio Patrocinante: Dr. Jorge Toledo Alonso

06- EFECTO PROTECTOR DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO SOBRE LA BIOENERGÉTICA MITOCONDRIAL EN UN MODELO MURINO DE ENVEJECIMIENTO ACCELERADO. Protective effect of growth hormone on mitochondrial bioenergetic in a murine model of accelerated aging.

Forman, K.^{1,2}, Vara, E.3, García, C.3, Kireev, R.4, Cuesta, S.4, Tresguerres, J.A.F.4

1 Departamento de Nutrición y Dietética, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Chile. 2 Centro de Microscopía Avanzada, CMA BIO BIO, Universidad de Concepción, Chile. 3 Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, España. 4 Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, España.

El envejecimiento se asocia con alteraciones en la estructura y función cardiovascular. El estrés oxidativo, la disminución del número de mitocondrias funcionales y los procesos inflamatorios son procesos vitales para su instauración. El objetivo de este trabajo fue investigar el efecto protector de la administración de hormona de crecimiento (GH) sobre la bioenergética mitocondrial y sobre el contenido de ATP cardiaco en un modelo murino de envejecimiento acelerado. Se utilizaron 16 ratones SAMP8 macho de 10 meses de edad que se dividieron aleatoriamente en dos grupos: un grupo a los que se les administró GH (2mg/kg/día) (Omnitrope-Sandoz, España) vía subcutánea y otro grupo control viejo no tratado. Como control joven se utilizó un grupo de ratones de 2 meses de edad. Finalizado el tratamiento, se extrajeron los corazones y se determinó la actividad mitocondrial (complejos I, II, III y IV) y el contenido de ATP mediante técnicas espectrofotométricas. Los resultados fueron analizados con pruebas de ANOVA de dos vías (Statgraphics Plus 5.1). La edad redujo significativamente la actividad de los complejos mitocondriales e indujo una menor producción de ATP en el corazón de los ratones SAMP8- viejos. GH fue capaz de mejorar la bioenergética mitocondrial alterada por el envejecimiento e incrementar el contenido de ATP, este efecto podría estar mediado al menos en parte por el aumento de la actividad antioxidante ejercida por GH o por la normalización de los niveles de óxido nítrico y de iNOS inducidos por la hormona.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular
Dirección de Correo: forman_diaz@yahoo.es
Agradecimientos: FONDECYT 312-0159, PIA-ECM-12.
Socio Patrocinante: Dr. Marcos Fernández E.

07- LA LOVASTATINA PREVIENE EFECTOS INDUCIDOS POR LDL-OX EN CELULAS DE CANCER CERVICO-UTERINO. The lovastatin prevents effects induced by oxLDL on cervix-uteri cancer cells.

Cifuentes, P.¹, González, I.1, Sandoval, F.A.1, Cerro, R.P.1, Gutiérrez, N.1, Espinoza, F.I.1, González-Horta, E. E.1, Rodríguez, F.S.1, Vargas, Y.1, Toledo, J.R.1

Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Las estatinas son drogas conocidas por disminuir el colesterol circulante al inhibir una de las principales enzimas de la vía del mevalonato, la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (HMGCR). Estudios recientes demuestran que algunas estatinas disminuyen el crecimiento tumoral asociado al arresto del ciclo celular y posterior apoptosis en diversos tipos de cáncer. Además, se ha observado que las estatinas lipofílicas bloquean la interacción de la lipoproteína de baja densidad oxidada (LDL-ox) con su receptor (LOX-1), los cuales se encuentran aumentados en cáncer. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de tratamientos con lovastatina y LDL en su forma nativa y oxidada, en la expresión de marcadores de invasión tumoral en la línea celular de cáncer cérvico-uterino HeLa. El análisis del bloqueo del receptor LOX-1 con lovastatina se realizó marcando las LDLs nativa y oxidada con la sonda fluorescente infrarroja DiR (DiR18) en células HeLa que expresan el trazador fluorescente infrarrojo IRFP682. Luego, se analizó el efecto de tratamientos con ambas LDLs y lovastatina en la expresión de marcadores de invasión tumoral in vitro. Para estudiar el bloqueo in vivo se realizaron xenografts subcutáneos de células HeLa en ratones hembras inmunodeficientes. Se realizaron inyecciones intravenosas por la cola de las LDL-DiR y lovastatina en tumores de 1 mm³ realizándose registros cada 5 días en el equipo LI-COR Pearl Impulse. Los resultados obtenidos indican que existe un aumento en la expresión de marcadores de invasión tumoral asociados a una mayor captación de LDL-ox y no de LDL nativa, situación que es mejorada al utilizar lovastatina en ensayos in vitro e in vivo.

Area de la Farmacología: Biotecnología
Dirección de Correo: pauli.cifuentes13@gmail.com
Agradecimientos: Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos
Socio Patrocinante: Dr. Jorge Roberto Toledo Alonso

08- EFECTO DE LA COMBINACIÓN ENTRE DFMO Y FÁRMACOS ANTITUMORALES SOBRE LA PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS DE CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULAS NO PEQUEÑAS (NSCLC). Effect of the combination of DFMO and anti-tumor drugs on proliferation of cells of non-small cell lung cancer (NSCLC).

López, F. J.; Arce, P.C.; Leiva, M.; López, R.A.

Laboratorio de Farmacología y Fisiopatología Pulmonar, Instituto de Farmacología y Morfofisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

Las poliaminas putrescina, espermidina y espermina, son fundamentales en los procesos de crecimiento, desarrollo, diferenciación y apoptosis celulares. Difluorometilornitina (DFMO) es un inhibidor irreversible de la Ornitina Descarboxilasa (ODC), enzima limitante del metabolismo de las poliaminas. La monoterapia con DFMO ha demostrado tener buen efecto sobre las células tumorales. Así mismo, está ampliamente descrito el uso de como Gemcitabina para el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC); y de Carboplatino, Paclitaxel y Pemetrexed como agentes quimioterapéuticos en el tratamiento del cáncer, en general. En base a lo descrito anteriormente, se postuló que la combinación de DFMO con drogas quimioterapéuticas, presenta efecto sinérgico sobre células de NSCLC, afectando la proliferación in vitro. La línea celular H1975 de NSCLC fue sembrada en placas de 96 pocillos e incubada a 37°C

en una atmósfera húmeda al 5% de CO₂. Posteriormente, las células fueron expuestas a la combinación de las drogas con DFMO en 8 concentraciones decrecientes durante 96 horas. Se realizó ensayo de MTT y se midió la absorbancia a 570/690 nm. Los resultados fueron analizados por GraphPad Prism 6 Software para los efectos individuales y por Combeneft 2 Software para los efectos combinados de ambos fármacos. Contrario a lo esperado, en el análisis de sinergia usando el método de BLISS, se observaron resultados variables, predominando un leve efecto antagónico en ciertas concentraciones de las combinaciones de drogas quimioterapéuticas con DFMO en las células H1975. Estos datos son la base de nuevos estudios de combinaciones de fármacos en células H1975.

Area de la Farmacología: Farmacología oncológica
Dirección de Correo: freddy.lopez@postgrado.uach.cl
Agradecimientos: Proyecto FONDECYT Regular Número 1160807 de CONICYT.
Socio Patrocinante: Dr. Rodrigo A. López Muñoz

09- ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD NEUROPROTECTORA DE ERITROPOYETINA HUMANA RECOMBINANTE GENERADA EN LA GLANDULA MAMARIA DE CABRA. Study activity recombinant human erythropoietin neuroprotective generated in mammary goat.

Villagrán, R., Sotomayor, K., Montesino, R., Leiva, M.J., Toledo, J.R.
Laboratorio de Biotecnología y Biofarmacos, Depto. Fisiopatología, Facultad de Biología, Universidad de Concepción.

Actualmente existe una problemática en cuanto a la efectividad con los tratamientos tempranos ante un accidente cerebrovascular (ACV). Este evento fisiopatológico agudo genera una alta mortalidad; además de los efectos secundarios graves que en su mayoría son invalidantes. Por lo que surge la necesidad de un tratamiento que sea efectivo a corto plazo, tras sufrir el infarto cerebral. Una posible solución a esta problemática es el uso de la Eritropoyetina (EPO), ya que es un biofármaco que posee un tropismo a nivel cerebral, se encuentran receptores de este en: neuronas, astrocitos y vasos sanguíneos cerebrales, y aún más importante, genera una disminución del daño en la zona periférica al infarto. Sin embargo, la neuro EPO posee un patrón de glicosilación diferente a la EPO mayormente tetra-anténaria y tetra-sialilada circulante con actividad hematopoyética. En nuestro grupo de investigación, hemos desarrollado una variante de EPO recombinante expresada en la glándula mamaria de cabras, con un patrón de glicosilación similar a la neuro EPO. Esta diferencia estructural, también produce diferencia a nivel funcional, ya que al ser administrada vía endovenosa, posee un tiempo de vida media menor al de la EPO nativa, reduciendo así, su actividad hematopoyética y por ende, posibles complicaciones, como poliglobulia, aumento del hematocrito, que puede llevar a hipertensión y formación de trombos. En presente trabajo, se muestra la acción de la EPO expresada en glándula mamaria en células pc-12 (modelo neuronal). Observando su efecto en condiciones hipóxicas, de estrés oxidativo y privación de glucosa.

Area de la Farmacología: Biotecnología

Dirección de Correo: romivillagran@udec.cl
Agradecimientos: Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos
Socio Patrocinante: Dr. Roberto Toledo

10- CRECIMIENTO DE CÉLULAS C2C12 EN SEIS FORMULACIONES BIOPOLIMÉRICAS DE ALGINATO DE CALCIO, EXCIPIENTES PLASTIFICANTES Y GELIFICANTES. Growth of C2C12 cells in six biopolymeric formulations of calcium alginate, plasticizers and gelling agents.

Brown, D.I.1; Weinstein-Oppenheimer, C.2; Pino, K.1; Orellana, N. 2; Sánchez, E.3; Acevedo, C.3,4

1 Unidad de Biología de la Reproducción y del Desarrollo, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. 2 Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso. 3 Centro de Biotecnología Daniel Alkalay, Universidad Técnica Federico Santa María. 4 Departamento de Física, Universidad Técnica Federico Santa María.

La recuperación, así como la producción de músculo esquelético comprometen estudios básicos de biología regenerativa que permitan su utilización en ingeniería de tejidos como solución terapéutica y/o producir músculo esquelético como carne consumible. La combinación de biopolímeros que emulan la matriz extracelular, células sembradas en estas matrices y factores de crecimiento han permitido diferenciación celular en la vía deseada. En este trabajo analizamos la adaptación de células de la línea mioblástica C2C12 de ratón sembradas en matrices biopoliméricas con distintas formulaciones de alginato de calcio, excipientes plastificantes y gelificantes. En 6 matrices de distintas formulaciones de 10 mm de diámetro y 3 mm de espesor, se sembraron 100.000 células C2C12 y luego de 48 h se fijaron en Bouin acuoso, procesaron por técnica histológica de rutina; finalmente, cortes de 5 micrómetros de espesor fueron teñidos con un método tricrómico. En cortes seriados se cuantificó como viables las células normales en interfase y en mitosis, y como no viables las células picnóticas y en cariorrexis. Entre las distintas formulaciones hay diferencias en la sobrevivencia como lo indican el número de células viables y su relación con las no viables. También hay actividad de proliferación diferencial dentro del biopolímero, aunque dicha actividad es baja. Las células viables, de morfología variable, se observan aisladas y formando grupos de distintos tamaños. Estos resultados preliminares indican una colonización diferencial de las células C2C12 en las distintas formulaciones. Aún cuando este experimento ha sido a un tiempo corto de cultivo; nos permite reconocer los primeros signos de adaptación de estas células para determinar las formulaciones más biocompatibles a utilizar como matriz de soporte en su diferenciación a células musculares esqueléticas.

Area de la Farmacología: Biotecnología
Dirección de Correo: donald.brown@uv.cl
Agradecimientos: PROYECTO FONDECYT 116-0311

11- SÍNTESIS, DOCKING Y EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA ENZIMA HISTONA DEACETILASA DE NUEVOS DERIVADOS TIAZOLILCUMARÍNICOS. Synthesis, docking and evaluation of thiazolylcoumarin derivatives on histone deacetylase enzyme inhibition.

Pardo-Jiménez, V.1,2; Díaz-Araya, G.A.2; Navarrete-Encina, P.A.1.

1 Laboratorio de Síntesis Orgánica Avanzada, Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica. 2 Laboratorio de Farmacología Molecular, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Las histonas deacetilasas (HDACs) son una familia de enzimas dependientes de zinc, involucradas en la expresión génica a través de la regulación de la transcripción y de otros procesos celulares, incluyendo la detención del ciclo celular, proliferación celular y diferenciación terminal de distintos tipos de células. Los inhibidores de las HDACs se consideran una nueva clase de fármacos con múltiples posibilidades de acción terapéutica, entre las que destacan las actividades antineoplásicas, antiinflamatorias y antifibróticas. La estructura de estos inhibidores se ajusta a un fármaco común de tres zonas: una cabeza de grupo hidrofóbica, un espaciador hidrofóbico y un grupo de unión al Zn²⁺. Basados en esta estructura general, se diseñaron los derivados de tiazolilcumarinas -N- substituidas (lipoil, adipoil, hidroxamil y 3,4 dihidroxibenzoil). Usando el núcleo tiazolilcumarina como cabeza de grupo y los grupos quelantes derivados de distintos ácidos carboxílicos. La síntesis comprende la obtención de los núcleos cumarina y del anillo tiazolil por una reacción de condensación y posterior funcionalización con las cadenas de los distintos derivados de ácidos. Se realizó un análisis de las conformaciones que adoptan estos compuestos en el sitio catalítico de las HDACs, comprobando que nuestro diseño de inhibidores cumplen con las características necesarias para posicionarse dentro del sitio catalítico con constantes de inhibición entre -10 y -15 Kcal/mol. La actividad inhibitoria se analizó en extractos nucleares de células Hela, obteniéndose IC₅₀ del orden de 10 micromolar para todos los compuestos estudiados. Para determinar que los compuestos sintetizados no sean citotóxicos en células no tumorales, se realizó un ensayo de viabilidad en fibroblastos cardíacos de ratas neonatas, concluyendo que en el rango de concentración de 10 uM a 100 nM, los derivados tiazolilcumarinas no son citotóxicos.

Area de la Farmacología: Farmacoquímica

Dirección de Correo: vivianapardo@ug.uchile.cl

Agradecimientos: Financiado por Beca Doctorado Nacional CONICYT N° 211-40371.

Socio Patrocinante: Díaz-Araya, G.A.

12- PRODUCCION Y CARACTERIZACIÓN DE UN INTERFERON BOVINO EXPRESADO EN *Escherichia coli*. Production and characterization of bovine interferon expressed in *Escherichia coli*.

Donoso, J.C.; Espinoza, F.I.; Beltrán, M.J.; Montesino, R.; Maldonado, M.; Toledo, J.R.

Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad De Concepción.

Frente casos de infecciones virales unas de las moléculas más activas de la respuesta inmunológica son los interferones (IFNs), de los cuales existen diversos tipos. Estos inducen un estado antiviral en las células regulando la expresión de ciertos genes codificantes para proteínas que arrestan la replicación viral, además de inducir la muerte programada de aquellas células ya infectadas, conteniendo así la multiplicación del virus. Otro de sus efectos importantes es su capacidad immuno-moduladora, estimulando la maduración de las células dendríticas encargadas de procesar el material genético antigénico y presentarlo a las células especializadas del sistema inmunitario, mayoritariamente linfocitos T reguladores, induciendo su maduración y sirviendo de vínculo entre ambas respuestas. Es por estas propiedades que el IFN se utiliza como una molécula de interés en el ámbito terapéutico dando paso a diversos estudios para su uso clínico en humanos. En nuestro trabajo se desarrolló un proceso de expresión y purificación de una variante del interferón bovino, de uso farmacológico veterinario, manteniendo su actividad biológica antiviral. Para esto se realizó su expresión recombinante en la cepa *Escherichia coli* "SHuffle T7 express", el que posteriormente fue purificado del lisado celular mediante cromatografía de afinidad a iones metálicos basado en la adición de una secuencia de seis histidinas en su diseño. Después se realizaron ensayos de actividad biológica in vitro en línea celular bovina MDBK. Esta información podrá ser usada para el desarrollo de futuros biofármacos veterinarios antivirales para el control de patologías virales en especies de importancia ganadera.

Area de la Farmacología: Biotecnología

Dirección de Correo: javidonoso@udec.cl

Agradecimientos: Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos.

Socio Patrocinante: Dr. Jorge Roberto Toledo Alonso

13- EVALUACIÓN DEL EFECTO INMUNOMODULADOR DE UNA CITOQUINA RECOMBINANTE PORCINA. Evaluation of the immunomodulator effect of a porcine recombinant cytokine.

Hidalgo, A.; Gutiérrez, N.; Escobar, F.; Montesino, R.; Toledo, J.R.

Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Dpto. de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

La prevención de patologías infecciosas generadas por microorganismos con ciclos de multiplicación intracelular es un problema persistente en la sanidad veterinaria. La industria porcina en Chile, corresponde al 40% de la producción total de carne, por lo que las pérdidas de cerdos por enfermedades infecciosas, genera un impacto económico significativo. El problema de la prevención efectiva mediante vacunación se agrava cuando los patógenos ingresan e infectan a través de las mucosas, ya que las vacunas convencionales se aplican generalmente por vía intramuscular buscando una respuesta de anticuerpos neutralizantes basados en IgG. En este contexto, surge el uso de los coadyuvantes moleculares para potenciar la efectividad de las vacunas existentes u otras que se estén

desarrollando. Una opción para este uso son las citoquinas propias del sistema inmune del animal, estas son proteínas que regulan el sistema inmune y son relevantes en las respuestas tempranas a patógenos, que además podrían incrementar la respuesta inmune celular. El objetivo de este trabajo es expresar de forma recombinante y caracterizar una variante soluble de una interleuquina porcina como citoquina inmuno-moduladora e inductora de interferón gamma. Nuestros resultados apuntan a que la administración de nuestra citoquina recombinante tiene un efecto inmuno-regulador positivo sobre linfocitos porcinos con un alto potencial de incrementar los niveles de protección inmune ante patógenos infectivos intracelulares.

Area de la Farmacología: Biotecnología

Dirección de Correo: angehidalgo@udec.cl

Agradecimientos: Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos Plataforma de innovación biotecnológica INN BIO

Socio Patrocinante: Jorge Roberto Toledo Alonso

14- METFORMINA ANTAGONIZA EL EFECTO DE ANTITUMORALES SOBRE CÉLULAS DE CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULAS NO PEQUEÑAS (NSCLC). Metformin antagonizes the effect of antitumorals over non-small cell lung cancer (NSCLC) cells.

Arce, P.C.; Leiva, M.; López, F. J.; López-Muñoz, R.

Laboratorio de Farmacología y Fisiopatología Pulmonar, Instituto de Farmacología y Morfofisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

La metformina es una biguanida ampliamente prescrita para el tratamiento de diabetes tipo II que ha ganado interés como un agente antineoplásico. Trabajos recientes sugieren que metformina disminuye el crecimiento de células tumorales a través de su efecto en el complejo I mitocondrial. Adicionalmente se ha investigado a mTOR como principal vía metabólica en la proliferación celular y el efecto inhibitorio que la metformina tendría sobre este. Sin embargo, los mecanismos por los cuales metformina ejerce su efecto en la proliferación celular permanecen sin ser comprendidos completamente. También se ha planteado que metformina podría aumentar el efecto de la radioterapia y quimioterapia antitumoral. Debido a esto, nos planteamos evaluar el efecto combinado de metformina con antitumorales usados contra el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). Se sembró la línea celular H1299 en placas de 96 pocillos y posteriormente se procedió a combinar metformina con los fármacos taxol, pemetrexed, gemcitabina y carboplatino, a 8 concentraciones decrecientes, en un esquema de matriz de concentraciones (64 combinaciones en total) durante 96 horas. Se realizó ensayo de MTT y se midió la absorbancia a 570-690 nanómetros en un lector de placas. Los resultados fueron analizados con el software de combinación Combenefit usando el modelo de Independencia de Bliss. Contrariamente a lo esperado, se evidenció un antagonismo marcado en todas las combinaciones realizadas, tanto a bajas como altas concentraciones de metformina en las células H1299. Al analizar el efecto de metformina a bajas dosis, se evidenció que el efecto "inductor" de la viabilidad es dependiente de los niveles de glucosa, por tanto, el efecto antagónico podría ser dependiente de la concentración de

glucosa en el medio.

Area de la Farmacología: Farmacología oncológica

Dirección de Correo: pablo.arce.90.vet@gmail.com

Agradecimientos: Financiado por proyecto FONDECYT #116-0807

Socio Patrocinante: Dr. Rodrigo A. López Muñoz

15- ATP MEDIA LA RESPUESTA RESPIRATORIA A HIPERCAPNIA EN EL BULBO RAQUÍDEO CAUDAL. ATP mediates the respiratory response to hypercapnia in the caudal medulla.

Gómez, K., Ochoa, M., Eugenin, J.L.

Laboratorio de Sistemas Neurales, Facultad de Química y Biología, USACH, Santiago.

ATP es liberado por los astrocitos en el núcleo retrotrapezoide (RTN) en respuesta a la hipercapnia aumentando la frecuencia de la respiración ficticia en ratones. Sin embargo, en otros núcleos quimiosensoriales como el núcleo del rafe (NR) y el núcleo del tracto solitario (NTS), el papel de ATP como mediador de la respuesta respiratoria a la hipercapnia se desconoce. Hemos demostrado que existe liberación de ATP desde las de regiones más caudales de la columna respiratoria ventral (CRV) frente a la estimulación hipercápnic. En este trabajo deseamos ver si el ATP liberado en el bulbo raquídeo caudal participa en la respuesta respiratoria inducida por hipercapnia, hasta el momento característica única del RTN. Para esto evaluamos los efectos del bloqueo de los receptores P2 en la respuesta respiratoria inducida por hipercapnia en rebanadas troncoencefálicas caudales. Estas contienen los núcleos quimiosensoriales (NR, NTS y CRV, entre otros), pero no contienen el el RTN. Se registró la respiración ficticia en rebanadas bulbares (700 µm de grosor) de ratones CF1 (P0-P8) con un electrodo de succión colocado en la CRV en condiciones basales, es decir, superfundidos con líquido cefalorraquídeo artificial equilibrado con 5% CO₂, 95% O₂ y en hipercapnia equilibrado con 10% CO₂, 90% O₂ en ausencia y en presencia de PPADS (200 µM, antagonista P2R) La hipercapnia aumentó en un 200% (n=8 P=0.0078, Wilcoxon test) la frecuencia de las descargas inspiratorias en las rebanadas durante la condición control. Este aumento de frecuencia respiratoria no se observó durante la hipercapnia cuando la rebanada se incubó previamente con PPADS. Estos resultados sugieren que el ATP, al igual que lo hace en el RTN, participa como mediador de la respuesta respiratoria a hipercapnia en los núcleos caudales troncoencefálicos actuando sobre receptores P2R.

Area de la Farmacología: Fisiología Sensorial

Dirección de Correo: ktgomez@uc.cl

Agradecimientos: Fondecyt 113-0874

16- EFECTO DE MOLECULAS PRO- Y ANTI-INFLAMATORIAS EN LA EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DEL TRANSPORTADOR ABCB1 EN CULTIVOS PRIMARIOS DE CÉLULAS ENDOTELIALES CEREBRALES PORCINAS. Effect of pro- and anti-inflammatory molecules on the expression and activity of the ABCB1 transporter in primary cultures of porcine brain endothelial cells.

Torres-Vergara, P., 1,2; Penny, J.I.2

1Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Chile; 2Manchester Pharmacy School, The University of Manchester, Reino Unido.

El transportador ABCB1 (P-glicoproteína), perteneciente a la familia de los ATP-binding cassette transporters, es considerado como el más relevante para la disposición de fármacos en el cerebro por los altos niveles de expresión en células endoteliales de la barrera hematoencefálica. La expresión y/o actividad de ABCB1 puede ser regulada a nivel transcripcional como interacciones físicas con el transportador y la membrana plasmática. En este trabajo, cultivos primarios de células endoteliales cerebrales porcinas fueron tratadas por 24 horas con los glucocorticoides hidrocortisona y dexametasona, la citoquina pro-inflamatoria interleukina-1 beta y los ácidos grasos insaturados ácido araquidónico, ácido docosahexaenoico y ácido eicosapentaenoico. La actividad del transportador ABCB1 fue determinada a través de la captación celular de calceína, mientras que los cambios en su expresión fueron analizados mediante western blotting. El efecto de los ácidos grasos sobre la fluidez de membrana fue determinado a través de recuperación de fluorescencia post fotoblanqueo (FRAP). El análisis estadístico de los datos fue realizado a través del test de Mann-Whitney. Los tratamientos con glucocorticoides e interleukina-1 beta disminuyeron la acumulación intracelular de calceína ($P < 0.0001$) y aumentaron la expresión de ABCB1 ($P < 0.05$) comparado con el control. El tratamiento con los ácidos grasos estudiados incrementó la acumulación intracelular de calceína ($P < 0.0001$) pero sin modificar la expresión de ABCB1. El uso de ácidos grasos a la forma de co-tratamiento contrarrestó el efecto sobre la acumulación intracelular de calceína causada por glucocorticoides e interleukina-1 beta pero sin alterar el aumento en la expresión de ABCB1. El estudio FRAP mostró que los ácidos grasos estudiados no modificaron la fluidez de membrana, sugiriendo que el efecto sobre la acumulación de calceína estaría mediado por otros mecanismos.

Area de la Farmacología: Otros

Dirección de Correo: pabltorr@udec.cl

Agradecimientos: CONICYT - Beca para estudios de doctorado en el extranjero otorgada al Sr. Pablo Torres-Vergara y a la Universidad de Concepción.

17- EXPRESIÓN DIFERENCIAL DEL TRANSPORTADOR DE VITAMINA C SVCT2 EN UN MODELO *IN VITRO* DE LA ESTEATOSIS HEPÁTICA NO ALCOHÓLICA. Differential expression of vitamin C transporter SVCT2 in an *in vitro* model of non-alcoholic fatty liver disease.

Peña, E.; Aguilar, P.; Meza, C.; Vera, J.C.; Rivas, C.I. y Maldonado, M.

Laboratorio de Antioxidantes, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

La Esteatosis Hepática no Alcohólica (EHNA) es una enfermedad crónica progresiva de gran importancia a nivel mundial, ya que está asociada a patologías crónicas como la obesidad y diabetes. Consiste en la acumulación citoplasmática de triglicéridos en hepatocitos lo cual produce un aumento de la beta-oxidación de

ácidos grasos en el hígado lo que altera la capacidad oxidativa de la mitocondria y el aumento de la generación de especies reactivas del oxígeno provocando daño celular e inflamación. Se ha propuesto que este mecanismo patológico puede disminuirse mediante el uso de agentes antioxidantes tales como la vitamina C. En este trabajo, analizamos la expresión de los transportadores de vitamina C (SVCT) para lo cual establecimos un modelo *in vitro* de EHNA utilizando la línea celular de carcinoma hepatocelular humano HepG2, mediante el tratamiento de los cultivos celulares con ácidos grasos libres (oleato y palmitato), permitiendo la acumulación de vesículas lipídicas que fueron verificadas mediante tinción con Oil Red. Posteriormente, analizamos la expresión y localización celular de SVCT2 por medio de ensayos de inmunofluorescencia y observamos un cambio en la localización de SVCT2 (disperso en el citoplasma) hacia la mitocondria, con un coeficiente de correlación de Pearson (valores entre 0-1) de aproximadamente 0.8. Cuando se utilizó la concentración más alta de ácidos grasos libres, los niveles de SVCT2 detectados por western blot aumentaron sobre un 50% respecto de las células sin tratamiento. Nuestros estudios iniciales muestran efectos importantes tanto en la localización como la expresión de SVCT2 en nuestro modelo de esteatosis hepática, sugiriendo una posible implicancia clínica del uso de vitamina C para prevenir o disminuir la progresión crónica de la enfermedad

Area de la Farmacología: Fisiopatología

Dirección de Correo: edpena@udec.cl

Agradecimientos: Proyectos Fondecyt 109-0501, 113-0842 y 114-0429

Socio Patrocinante: Dra. Coralía I. Rivas

18- COMBINACIÓN DE ALQUIL TRIFENILFOSFONIO DERIVADO DEL ÉSTER DE ÁCIDO GÁLICO CON DOXICICLINA ELIMINA LA CARGA TUMORAL EN UN MODELO MURINO SINGÉNICO. Derivatives of alkyl gallate triphenylphosphonium in combination with doxycycline eliminate the tumor burden in a syngeneic mouse model.

Fuentes-Retamal, S.1; Peredo-Silva, L.1; Pavani, M.1; Castro-Castillo, V.2; Kemmerling, U.3; Ferreira, J.1.

1Programa Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2Departamento de Química Orgánica y Físico Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. 3Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Galatos de alquilo unidos a un grupo trifenilfosfonio (TPP+) presentan actividad antiproliferativa debido a un efecto desacoplante de la fosforilación oxidativa. Esta actividad es altamente selectiva debido al tropismo que genera la incorporación del grupo TPP+ por mitocondrias de células tumorales, como consecuencia al significativamente mayor potencial de transmembrana que presentan en comparación a sus pares normales. En el presente trabajo se evaluó la actividad antitumoral de tres derivados (TPP+C8, TPP+C10 y TPP+C12) en un modelo singénico murino de cáncer de mama utilizando la línea de adenocarcinoma TA3/Ha. De estos compuestos, destacó TPP+C10, porque indujo un aumento significativo de AMP y la razón

ADP/ATP de manera concentración-dependiente, reflejando un fuerte desbalance metabólico. Además, mediante un modelo murino singénico se logró comprobar que TPP+C10 indujo una disminución significativa de marcadores de proliferación celular y la activación de caspasa-3 en ratones portadores de tumor, reflejando una fuerte inhibición del crecimiento tumoral. Mediante un tratamiento conjunto con el antibiótico doxiciclina (TPP+C10 10 mg/Kg/48h – doxiciclina 10 mg/Kg/24h) el efecto antiproliferativo fue ampliamente potenciado, destacando la completa eliminación de la carga tumoral en ratones (n=6), sin presentar recidivas luego de 60 días post-tratamiento. Este efecto se debe a que doxiciclina presentó un mecanismo de inhibición de la biogénesis mitocondrial, evidenciado por una pérdida de masa mitocondrial y la sobreexpresión de PGC1- α (regulador maestro de la biogénesis mitocondrial) como respuesta adaptativa. Cabe destacar que el tratamiento con TPP+C10 no generó daños en órganos importantes para el metabolismo y excreción, demostrado por análisis hematológicos y bioquímicos. Estos hallazgos sugieren que la combinación de TPP+C10 con doxiciclina es una potencial terapia para el tratamiento del cáncer de mama.

Area de la Farmacología: Farmacología oncológica

Dirección de Correo: sebastianfuentesr@gmail.com

Agradecimientos: FONDECYT 113-0772 y Proyecto ENL022/16 VID U. Chile (JF), Beca doctorado CONICYT (F-R, S. 21150774, P-S, L. 2110084), Proyecto Enlace ENL022/16 Universidad de Chile

Socio Patrocinante: Dr. Jorge Ferreira

19- ESTUDIO TEORICO BASADO EN SIMULACION MOLECULAR DE SERIE DE ISOFLAVONOIDES CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA CONOCIDA PARA 5-, 12- Y 15-LIPOXIGENASA. Theoretical molecular-simulation-based study of a number of isoflavonoids with known biological activity against 5, 12- and 15-lipoxygenase.

Cabezas, F.; Mascayano, C.

Laboratorio de Físicoquímica Orgánica y Simulación Molecular, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Las lipoxigenasas (LOX) son enzimas que catalizan la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados que poseen un átomo de hierro no hémico en el sitio activo. Están implicadas en la cascada del ácido araquidónico involucrándose en la inflamación entre otras funciones. Por esto, la búsqueda de inhibidores para dichos blancos ha emergido fuertemente en los últimos años. Los isoflavonoides poseen un amplio espectro de actividades biológicas, además de baja citotoxicidad. Nuestro laboratorio demostró que estos compuestos inhibían a las diferentes isoformas de LOX. Esta tesis permitió dilucidar a través de metodologías computacionales, las interacciones más relevantes que gobiernan la potencia y selectividad. Estudios de “docking” mostraron que algunas moléculas se ubicaron en un sitio diferente al sitio activo, dando una mayor correlación frente a 5-LOX que con respecto a 12 y 15-LOX, además de que las energías de unión más favorables fueron con 5-LOX. Los SMD demostraron que la selectividad de los isoflavonoides es llevada a cabo en la entrada de éstas y no en la salida de la proteína, ya que el potencial de fuerza media se correlacionó para buenos y malos inhibidores, encontrándose que las interacciones generadas para IR-213

fueron débiles y además con residuos externos a la proteína provocando la imposibilidad de ingresar al sitio activo de 5-LOX. Adicionalmente, estudios de relación estructura actividad (QSAR) mostraron una buena correlación para 5-LOX y 12-LOX con un 96% y 95% respectivamente, y una mala correlación para 15-LOX con un 79%. Finalmente, un análisis farmacofórico determinó que potenciales moléculas debieran poseer una región dador/acceptor y centros aromáticos para favorecer las interacciones en el sitio activo. Con estos resultados se propusieron unas estructuras derivadas llamadas homoisoflavonoides, mostrando que serían buenos candidatos a inhibidor de 12-LOX, en el rango μ M.

Area de la Farmacología: Farmacoquímica

Dirección de Correo: francisco.cabezas@usach.cl

Agradecimientos: Proyecto Fondecyt 112-0379; Dicyt-Usach 021641MC

Socio Patrocinante: Dr. Juan Pablo García-Huidobro

20- EFECTO NEUROPROTECTOR DE LA ASTAXANTINA EN LA EXCITOTOXICIDAD MEDIADA POR NMDA, EN EL NEUROBLASTOMA HUMANO SH-SY5Y. Neuroprotective effect of astaxanthin on nmda-mediated excitotoxicity, in SH-SY5Y human cells.

García, F.1, Ardiles, A.2; **Muñoz, P.1**

1Laboratorio de Plasticidad Celular y Molecular, Departamento de Patología y Fisiología, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso; 2 CINV, Universidad de Valparaíso.

La astaxantina (ASX) es un carotenoide presente en diversas especies marinas que por poseer una potente actividad antioxidante y antiinflamatoria puede ser un promisorio agente terapéutico para combatir el estrés oxidativo observado en diversas condiciones fisiopatológicas. El receptor de glutamato del tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) juega un papel importante en la plasticidad sináptica y otros procesos neuronales; sin embargo, una sobre-activación del receptor de NMDA (NMDAR) genera excitotoxicidad asociada a superóxido mitocondrial (O₂⁻mit). En este trabajo evaluamos el efecto de ASX en la excitotoxicidad mediada por NMDAR, en células SH-SY5Y no diferenciadas. Encontramos que SH-SY5Y estimuladas con 4 y 200 micro-molar de NMDA aumentan significativamente el calcio intracelular y el superóxido mitocondrial O₂⁻mit, determinados por sondas fluorescentes sensibles a calcio (Fluo- 4) y a O₂⁻mit (MitoSox), respectivamente. Tanto el aumento de calcio como el de O₂⁻mit inducidos por 200 micro-molar de NMDA, fueron inhibidos significativamente por 200 micro-molar de AP-5, un antagonista del NMDAR, indicando que son mediados por NMDAR. De manera interesante encontramos que células SH-SY5Y tratadas por 24 horas con concentraciones crecientes de ASX, redujeron el O₂⁻mit de manera dosis dependiente, llegando a niveles basales a una concentración de 10 micro-molar. Al evaluar la función mitocondrial, como medida de viabilidad celular, mediante el ensayo de MTT, se encontró que 10 micro-molar ASX previno la muerte neuronal inducida por 200 micro-molar de NMDA, consistente con la disminución en el O₂⁻mit. Además, ASX previno la muerte celular inducida por 50 micro-molar de peróxido de hidrógeno. Estos datos sugieren que la ASX previene la excitotoxicidad mediada por sobreactivación del NMDAR por un

mecanismo que involucra la neutralización del estrés oxidativo.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales

Dirección de Correo: pablo.munozca@uv.cl

Agradecimientos: CORFO 13IDL2-1827. Biotex S.A. por donar la Astaxantina.

Socio Patrocinante: Dra. Georgina M. Renard

21- EFECTO PROTECTOR DE UN EXTRACTO DE PALTA RICO EN PROANTOCIANIDINAS FRENTE A LA ALTERACIÓN DE LA HOMEOSTASIA COLÓNICA INDUCIDA POR EL CONSUMO DE DIETA HIPERPROTEICA. Protective effect of an avocado extract rich in proanthocyanidins against the alteration of colonic homeostasis induced by high-protein diet.

Cires, M.J.¹, Navarrete, P.², Pastene, E.³, Carrasco-Pozo, C.¹, Beaumont, M.⁴, Gotteland, M.¹

1) Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile 2) Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile 3) Laboratorio de Farmacognosia, Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción 4) UMR 914 INRA/AgroParisTech, Nutrition Physiology and Ingestive Behavior, Paris, France.

Las dietas hiperproteicas aumentan el flujo de proteínas no digeridas desde el intestino delgado hacia el colon, en donde son hidrolizadas por proteasas bacterianas de la microbiota intestinal (MI). Este proceso libera aminoácidos que luego son fermentados y contribuyen a la formación de ácidos grasos volátiles y otros metabolitos potencialmente tóxicos. Las proantocianidinas (PACs) son polímeros de flavan-3-oles abundantes en frutas y verduras. Son poco absorbidas en el intestino y se acumulan en el colon donde pueden ser metabolizadas por la MI, generando metabolitos eventualmente beneficiosos para la salud. Hipótesis: Un extracto de palta rico en PACs (EPP) previene la producción *in vitro* de NH₄⁺, H₂S e indol por la MI en presencia de altas cantidades de proteína, y el impacto negativo de estos metabolitos sobre células intestinales *in vivo*. Metodología: Muestras de microbiota fecal humana se cultivaron en un biorreactor en presencia o ausencia de proteínas (2g/L) y/o EPP (0.35g/L de PACs) por 24 horas. Se determinó NH₄⁺ e indol por espectrofotometría, H₂S por cromatografía de gas, y el efecto de los sobrenadantes del biorreactor sobre células *in vitro* HT29glc-/+ y Caco-2. Resultados: la producción de NH₄⁺ y H₂S aumentó en presencia de proteínas, lo cual fue prevenido por el EPP. No se observaron cambios en la producción de indol. El sobrenadante del biorreactor con proteínas indujo citotoxicidad en células HT29glc-/+ sin afectar sus niveles intracelulares de ATP; y disminuyó la resistencia eléctrica transepitelial de células Caco-2, lo que fue prevenido por el EPP. Conclusión: el EPP reduce la producción de metabolitos bacterianos tóxicos derivados de la fermentación de aminoácidos y protege la función intestinal de barrera.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales

Dirección de Correo: mariajosecires@gmail.com

Agradecimientos: Beca de Doctorado Nacional Conicyt N° 211-20806 Gastos Operacionales Conicyt N° 211-20806 Fondecyt N°112-0290 Ecos-Conicyt C12S01 Fondecyt N°111-30232

Socio Patrocinante: Dra. Catalina Carrasco-Pozo

22- QUERCETINA REDUCE LA ABSORCIÓN DE COLESTEROL POR MEDIO DE LA MODULACIÓN EN LA EXPRESIÓN DE SUS TRANSPORTADORES: ESTUDIOS *IN VITRO* E *IN VIVO*. Quercetin reduces cholesterol absorption by modulating the expression of its transporters: *in vitro* and *in vivo* studies.

Tralma, K.; Reyes-Farías, M.; Gotteland, M.; Carrasco-Pozo, C.

Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina. Universidad de Chile, Chile.

El consumo de colesterol en exceso puede producir hipercolesterolemia, lo que es un factor de riesgo para la aterosclerosis. Estudios epidemiológicos demuestran una correlación entre el consumo de polifenoles y un menor riesgo de aterosclerosis. La quercetina (QUE) es un polifenol ubicuo en el reino vegetal y representa uno de los flavonoides más abundantes en la dieta occidental. El presente estudio tiene por objetivo evaluar el efecto de QUE sobre la absorción de colesterol en ratas alimentadas con una dieta alta en colesterol (HC) y en un modelo de monocapa de células Caco-2 expuestas a colesterol. QUE disminuyó el flujo transepitelial de colesterol a través de la monocapa celular. La dieta HC aumentó 3.2 veces la expresión del transportador de colesterol NCP1L1 en el yeyuno y este aumento fue aún mayor (5.1 veces) en presencia de QUE. Sin embargo, la dieta HC también aumentó al doble la expresión de los transportadores reverso de colesterol ABCG5 y ABCG8. En presencia de QUE, la expresión de dichos transportadores aumentó aún más (4.5 veces ambos). QUE previno el aumento de los niveles plasmáticos de colesterol total en ratas alimentadas con dieta HC y aumentó su excreción fecal. Los resultados con QUE fueron similares a los obtenidos con ezetimibe, un inhibidor de NCP1L1. QUE reduce el nivel plasmático de colesterol total inducido por una dieta HC al aumentar la expresión de los transportadores ABCG5 y ABCG8 en relación a la expresión de NCP1L1, disminuyendo de esta forma el flujo neto de colesterol y su absorción.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales

Dirección de Correo: catalinacarrasco@med.uchile.cl

Agradecimientos: Fondecyt 111-30232

Socio Patrocinante: Dr. Catalina Carrasco-Pozo

23- ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS RICOS EN TANINOS DE HOJAS DE CUATRO GENOTIPOS DE *Ugni molinae*. Antimicrobial activity of tannin-rich extracts from leaves of four *Ugni molinae* genotypes.

Valenzuela-Bustamante, P.¹; Campanini-Salinas, J.²; Avello, Z.¹; Salas-Duguet, V.¹; Seguel, I.³; Vásquez, D.²; Delporte, C.¹

1Laboratorio de Productos Naturales, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. 2Laboratorio de Desarrollo de fármacos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. 3Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Carillanca.

Ugni molinae Turcz., conocida como murtila o murta, es un arbusto silvestre con una amplia distribución en el centro-sur de Chile. Recientemente, se determinó que existen diferencias a nivel químico y farmacológico en las hojas de murtila dependiendo del genotipo y se identificó la presencia de taninos derivados de los ácidos gálico y eláxico en sus extractos etanólicos (EETs). Debido a que estos polifenoles poseen actividad antimicrobiana, el objetivo de este estudio fue evaluar comparativamente el efecto antimicrobiano de EETs de hojas de distintos genotipos de murta (8-2, 19-1, 22-1 y ZF-18) frente a bacterias que comúnmente infectan heridas de piel. Se cuantificó el contenido de taninos (CT) indirectamente a través del ensayo de Folin-Ciocalteu y se determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de cada extracto mediante el método de microdilución en caldo contra las cepas ATCC correspondientes a: *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (ATCC 43300), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25992) y *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603). Se obtuvieron diferencias significativas respecto al CT entre los cuatro EETs ($p < 0,05$), siendo el genotipo ZF-18 el que obtuvo la mayor concentración ($201,0 \pm 1,6$ mg Equivalentes de ácido tánico/g extracto seco). Todos los EETs presentaron actividad antimicrobiana frente a las bacterias estudiadas, siendo más potentes contra MRSA (CIM: 32-128 microgramos/mL) y menos potentes frente a *P. aeruginosa* y *E. coli* (CIM: 128-512 microgramos/mL). El genotipo ZF-18 presentó la menor CIM frente a *K. pneumoniae* (64 microgramos/mL). Los resultados obtenidos demuestran que las hojas de murtila poseen una alta cantidad de taninos y que los EETs presentan actividad antimicrobiana frente a distintas bacterias que infectan heridas, efecto que varía dependiendo del genotipo.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales
Dirección de Correo: p.valenzuelabustamante@gmail.com
Agradecimientos: FONDECYT 1130155; Beca Conicyt 211-30643; Beca Conicyt 211-50688

24- DETERMINACION DEL TIPO DE ACTIVIDAD INHIBITORIA FRENTE A ALFA-GLUCOSIDASA DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS DE HOJAS DE TRES GENOTIPOS DE *Ugni molinae Turcz.* Determination of the type of inhibitory activity against alfa-glucosidase of ethanolic extracts from leaves of three genotypes of *Ugni molinae Turcz.*

Arias-Santé, M.F., Arancibia-Radich, J.1, Seguel, I.2, Delporte, C.1

1Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago; 2INIA, Carillanca, IX Región, Chile.

Basados en estudios previos en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, se ha determinado que extractos etanólicos hechos a partir de hojas de murtila han tenido una potente actividad inhibitoria frente a alfa-glucosidasa, una exocarbohidrasa que cataliza la hidrólisis de los azúcares complejos a monosacáridos en la membrana superficial de las microvellosidades de las células intestinales, al inhibirse produce una reducción del peak de glucosa post-prandial. Dichos extractos poseen una buena concentración de compuestos fenólicos, entre ellos destacándose ramnósidos y glucósidos de quercetina,

glucósidos de miricetina y canferol, epicatequina y ácido gálico. El objetivo de este trabajo fue describir en forma comparativa el tipo de inhibición frente a alfa-glucosidasa de los extractos etanólicos, los cuales fueron preparados a partir de las hojas de tres genotipos de *Ugni molinae*, obtenidos desde el banco de germoplasma del INIA (Carillanca). Dichos genotipos fueron cultivados y recolectados en las mismas condiciones. El tipo de inhibición fue determinado a través del estudio de la cinética enzimática basado en la metodología descrito por Kim et al. (2005) con pequeñas modificaciones, para luego obtener las curvas de Michaelis-Menten y el diagrama de Lineweaver-Burk. La significancia de los datos se analiza estadísticamente mediante ANOVA y test de comparaciones múltiples de Tukey. Se obtiene que tanto el genotipo 14-4, 19-1 y 22-1 actúan de manera no competitiva frente a la enzima, lo cual indica que los compuestos activos en los extractos interactúan en un sitio diferente al que lo hace el sustrato.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales
Dirección de Correo: ma.fernanda.arias@gmail.com
Agradecimientos: FONDECYT 113-0155; Beca Conicyt 211-30672; Beca Conicyt 211-20377.

25- CORRELACION ENTRE LA POTENCIA VASODILATORA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES POLIFENOLES DERIVADOS DE LA DIETA, UN APORTE MOLECULAR A LA PARADOJA FRANCESA. Correlation between the vasodilator potency and the antioxidant potential of different polyphenols derived from diet, a molecular approach to the French paradox.

Mateluna, C.; Calfio, C; Huidobro-Toro, J.P.

Centro para el Desarrollo de la Nanociencia y Nanotecnología (CEDENNA), Laboratorio de Farmacología Facultad de Química y Biología Universidad de Santiago de Chile.

La paradoja francesa vincula el consumo de vino con la protección de enfermedades cardio- vasculares (PEC); recientemente se agregó a esta hipótesis que el consumo de berries y frutos rojos tiene similar efecto. Se postula que los polifenoles son el principal componente bioactivo de la dieta con propiedades PEC. Estas moléculas son metabolitos secundarios de plantas con actividad antioxidante celular (AAC) y vasodilatadora atribuidos a la actividad de eNOS. Para evaluar esta hipótesis y el rol de los polifenoles en PEC, correlacionamos la AAC con la actividad vasodilatadora de 10 polifenoles presentes en frutos y examinamos si es endotelio-dependiente. Con este fin, se perfundió la red vascular mesentérica de rata; se evaluó la AAC en cultivos primarios de células endoteliales del mismo tejido. De los 10 polifenoles, t-resveratrol es el más potente; su EC50 es $47,61 \pm 0,11 \mu\text{M}$ ($n=4$). La potencia relativa de estos polifenoles es: t-resveratrol >kaempferol >quercetina >catequina y ácido cafeico. Además, la vasodilatación correlaciona con la producción de óxido nítrico (NO) ($R^2 = 0,86$, $P < 0,05$); la remoción endotelial anula dicha relación. Respecto a AAC; t-resveratrol es el más potente, y ésta se correlaciona con la vasodilatación ($R^2 = 0,94$, $P < 0,05$, con 6 polifenoles); que se asocia positivamente con la producción de NO y con la AAC, de éste y otros polifenoles. En conclusión, estos resultados apoyan fehacientemente a los polifenoles como vasodilatadores endoteliales. Basado en un modelo bio-

informático de la eNOS, se sugiere que: i) los polifenoles actúan tanto como moduladores alostéricos positivos de eNOS y ii) la capacidad antioxidante se podría relacionar con la protección de tetrahidrobiopterina, co-factor de eNOS. Estas evidencias demuestran el efecto PEC de los polifenoles de la dieta.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales

Dirección de Correo: carlos.mateluna@usach.cl

Agradecimientos: Financiado parcialmente por CEDENNA FB0807 y Proyecto FONDECYT 114-1132

Socio Patrocinante: Juan Pablo García-Huidobro

26- ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LAS FRACCIONES ALCALOIDEAS DE *Amaryllis belladonna* L. SOBRE ACETILCOLINESTERASA. Inhibitory activity of alkaloids fraction from *Amaryllis belladonna* L. on Acetylcholinesterase.

Jara, C.1,2; Moraga, F.2,3; Iturriaga-Vásquez, P.2; Mutis, A.2; Quiroz, A.2; Becerra, J.4; Hormazábal, E.2

1.Estudiante de Bioquímica, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. 2.Laboratorio de Ecología Química, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. 3.Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. 4.Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, Chile.

El manejo de enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, relacionadas con bajos niveles del neurotransmisor acetilcolina están siendo principalmente controladas a través de la inhibición enzimática de acetilcolinesterasa. Orientado al desarrollo de nuevos inhibidores de origen natural, el género *Amaryllis* perteneciente a la familia Amaryllidaceae, destaca por la presencia de alcaloides con actividad inhibitoria de esta enzima, los que varían en composición y proporción dependiendo de su distribución geográfica. Aunque los fármacos utilizados frecuentemente en el control de enfermedades neurodegenerativas, han demostrado una alta eficacia, estos han reportado efectos secundarios tales como: hepatotoxicidad, vómitos, anorexia y síntomas gastrointestinales. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad inhibitoria, de las fracciones alcaloideas provenientes de bulbos de *Amaryllis belladonna* colectados en la comuna de Teodoro Schmidt (IX Región, Chile), sobre Acetilcolinesterasa. Los alcaloides presentes en *A. belladonna*, fueron obtenidos a través de un fraccionamiento dirigido. La putativa composición alcaloidea de las fracciones fue analizada por cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masa, destacando la presencia de alcaloides del tipo licorina, crinamina y hemantamina. La actividad inhibitoria de los extractos alcaloideos, fue evaluada mediante el método Ellman utilizando galantamina como control.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales

Dirección de Correo: Emilio.hormazabal@ufrontera.cl

Agradecimientos: Agradecimientos: los autores agradecen el financiamiento desde el proyecto FONDECYT 111-40668, proyecto DI 16-2007 Universidad de La Frontera y el soporte técnico al Laboratorio de Ecología Química, Departamento de Ciencias

Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile y a becas Conicyt 2014, folio 211-40301.

Socio Patrocinante: Dr. Patricio Iturriaga-Vásquez.

27- EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE CACALOL Y ACETATO DE CACALOL. Antiinflammatory effect of cacalol and cacalol acetate.

Almanza, P.J.1, Mora, R.B.1*, Rosiles, A.R.W.1*, Alarcón, A.F.J.1, Jiménez, E.M.2

1Lab. Farmacología, Depto. Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. San Rafael Atlixco 186, Vicentina, Iztapalapa, C.P. 09340, CDMX, México. 2Depto. de Productos Naturales. Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria. Delegación Coyoacán, C.P. 04510, CDMX, México. *Posgrado en Biología Experimental. Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa. CDMX, México.

La inflamación es la respuesta de un tejido vascularizado a estímulos que afectan su integridad. Existen diferentes condiciones patológicas que cursan por una inflamación sistémica, como el reumatismo, neuralgias, enfermedades gastrointestinales, entre otras. Para tratar dichos estados inflamatorios existe una gran variedad de fármacos como los AIEs y los AINEs. Independientemente de la naturaleza química, estos fármacos pueden generar efectos adversos, lo cual hace necesaria la búsqueda de nuevos compuestos antiinflamatorios. *Psacalium decompositum* es una planta con diversas propiedades farmacológicas, entre las que destacan el potencial antiinflamatorio, sin embargo, los principios activos y el mecanismo de acción aún se desconocen. El objetivo de la presente investigación fue evaluar *in vivo* y *in vitro* la actividad antiinflamatoria del cacalol y el acetato de cacalol, dos compuestos aislados de la raíz de *Psacalium decompositum*. La evaluación se realizó en un modelo *in vivo* de ratones machos de la cepa CD-1, a los que se les indujo inflamación tóxica mediante la administración de TPA en la oreja. Además, se cultivaron macrófagos Raw 264.7 que fueron estimulados con LPS y posteriormente tratados con los compuestos por diferentes tiempos. La expresión del ARNm y las concentraciones de citocinas fueron cuantificadas al final del estudio. Los resultados mostraron que tanto el cacalol como el acetato de cacalol inhiben significativamente el desarrollo del edema auricular hasta en un 40% con respecto al control. Por otro lado, los cultivos que fueron tratados con los compuestos disminuyeron significativamente las concentraciones de TNF, IL-6 e IL-1beta y no modificaron las concentraciones de IL-10. Estos resultados permiten concluir que el efecto antiinflamatorio del cacalol y del acetato de cacalol ocurre a través de la modulación de citocinas inflamatorias.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales

Dirección de Correo: jcap@xanum.uam.mx (J.C. Almanza-Pérez).

Agradecimientos: B. Mora-Ramiro recibió una beca de estudios de doctorado otorgado por CONACyT (México).

28- H. SABDARIFFA COMO FUENTE POTENCIAL DE AGONISTAS DUALES DE PPAR δ / γ . *H. sabdariffa* its a potential source of dual agonist PPAR δ / γ .

Giacoman, M.A.¹, Zamilpa, A.A.³, Alarcón, A.F.J.², Román, R.R.², Hidalgo, F.S.N.², Almanza, P.J.

¹Posgrado en Biología Experimental Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. ²Departamento de Farmacología, Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM-I. Ciudad de México, México. ³Departamento de Fitoquímica Farmacológica del Centro de Investigación Biomédica del Sur. Ciudad de México, México. Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Del. Iztapalapa, C.P. 09340, CDMX, México.

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad metabólica con incidencia mundial caracterizada por hiperglucemia debido a resistencia a la insulina, ocasionada por desbalance en el metabolismo de lípidos y carbohidratos y que es favorecida por obesidad, sedentarismo, estrés y factores genéticos. Los PPARs son factores de expresión nuclear dependientes de ligando que regulan la expresión de genes involucrados en el metabolismo de lípidos y carbohidratos. Por esta razón, se han propuesto como blancos terapéuticos para el tratamiento y/o prevención de la DM2, resistencia a la insulina y enfermedades asociadas al síndrome metabólico (SM). PPARdelta promueve la expresión de genes involucrados en el catabolismo de ácidos grasos, mientras que PPARgamma regula la expresión de genes involucrados en el transporte de lípidos y glucosa, eventos que favorecen la sensibilidad a la insulina. *H. sabdariffa* ha demostrado tener efecto sobre la dislipidemia y la hiperglucemia, sin embargo aún se desconocen si dichos efectos se deben a una acción agonista de PPARs. En el presente estudio se evaluó el efecto antihiperoglucémico de un extracto diclorometánico de *H. sabdariffa*. De este extracto se obtuvo una fracción que se caracterizó químicamente y se evaluó su papel como agonista dual PPARdelta/gamma, así como de sus genes río abajo FATP y GLUT4, respectivamente. Los resultados sugieren que esta fracción puede revertir el desbalance metabólico característico de la DM2. La caracterización química de la fracción constitutiva reveló la presencia de ácido palmítico, ácido linoleico, ácido 9, 12-octadecanoico y α -amirina. Mediante un estudio in silico de "docking molecular", el cual predice acoplamiento ligando-PPAR, se observó que estos compuestos tienen "scores" altos comparados con otros agonistas naturales de ambas isoformas. Por lo tanto, *H. sabdariffa* representa una opción importante para la obtención de moléculas con actividad dual.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales
Dirección de Correo: jcap@xanum.uam.mx (J.C. Almanza-Pérez).
Agradecimientos: A. Giacoman-Martínez recibe una beca de estudios de doctorado otorgado por CONACyT (México).

29- ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE ALCALOIDES Y QUINONAS COMO INHIBIDORES DE GLUTATION REDUCTASA HUMANA Y P.FALCIPARUM, TRIPANOTIÓN REDUCTASA Y LIPOXIGENASA. Biological Activities of Alkaloids and Quinones as Human and P.falciparum Glutathione Reductase, Trypanothione Reductase and Lipoxigenase Inhibitors.

Mascayano, C.1, Torrent, C.1, Espinosa, V.2, Sepúlveda-Boza, S.2

¹Departamento de Ciencias del Ambiente, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago, Santiago, Chile. ²Programa Centro de Investigaciones Biomédicas y Aplicadas, Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago, Santiago, Chile.

Los productos naturales son una gran familia de variadas estructuras químicas, con una amplia diversidad de actividades farmacológicas. Algunos de los más importantes metabolitos secundarios son alcaloides y quinonas, estos compuestos muestran muchas propiedades biológicas como: antitumoral, antimicrobiana, antiparasitaria, antiinflamatoria y cardiovascular [1]. En este estudio, evaluamos seis alcaloides (harmalina, harmano, harmino, harmol, harmanol y norharmano) y tres quinonas (lausona, plumbagina y lapachol) frente a Glutathione Reductasa humana (hGR) y de *P.falciparum* (pGR), T. Cruzi Tripanotión Reductasa (TR) y 15-Lipoxigenasa (15-LOX). La evaluación de los porcentajes de inhibición de hGR, pGR y TR fueron determinados siguiendo el consumo de NADPH a 340 nm. [2] Posteriormente, la actividad de 15-LOX fue determinada siguiendo la formación del producto de dioxidación a 234 nm del ácido araquidónico (AA) para generar ácido 15-hidroxicosatotetraenoico (15-HETE).[3] Los resultados obtenidos, mostraron que los alcaloides en especial harmano, harmino y norharmano mostraron selectividad por 15-LOX con valores de porcentajes de inhibición a concentraciones de 1 mg/mL de aproximadamente un 40%, lo que indicó que estos compuestos interfiere en la biosíntesis de leucotrienos(LT) y lipoxinas (LP). Por otro lado, las quinonas en especial plumbagina exhibió selectividad hacia las enzimas involucradas en la regulación y defensa del balance redox frente al estrés oxidativo en humanos y parásitos como son GR y TR. Finalmente, es importante mencionar la relación entre estructura y actividad frente a diferentes blancos farmacológicos de interés, y su importancia en el futuro diseño de drogas.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales
Dirección de Correo: carolina.mascayano@usach.cl
Agradecimientos: Proyecto Dicyt 021641MC
Socio Patrocinante: Dr. Juan Pablo García-Huidobro

30- ANÁLISIS FARMACOFÓRICO DE DERIVADOS DE ALCALOIDES Y QUINONAS COMO INHIBIDORES DE LAS ENZIMAS GLUTATION REDUCTASA HUMANA Y DE P.FALCIPARUM Y TRIPANOTIÓN REDUCTASA DE T.CRUZI. Pharmacophoric analysis of alkaloids and quinones derivatives as human and P.falciparum glutathione reductase and T.cruzi trypanothione reductase inhibitors.

Espinosa, V.1; Mascayano, C.2; Sepúlveda-Boza, S.3

¹Programa Centro de Investigaciones Biomédicas y Aplicadas, Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago, Santiago, Chile; ²Departamento de Ciencias del Ambiente, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago, Santiago, Chile; ³ Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago, Santiago, Chile.

La enzima Glutatión reductasa (GR) cataliza la reducción del glutatión disulfuro (GSSG) a glutatión reducido desde glutatión (GSH), la que corresponde a la principal defensa antioxidante celular. Esta enzima tiene una isoforma en *Plasmodium falciparum* (PfGR) la cual es relevante en la regulación del estado oxidativo del parásito causante de la malaria. En el *Trypanosoma cruzi*, vector causante de la enfermedad de Chagas, el glutatión es reemplazado por tripanotión con su respectiva reductasa (TcTR), y la inhibición de esta enzima también puede inducir estrés oxidativo. Algunos derivados de alcaloides y quinonas, han sido descritos como inhibidoras de las reductasas de glutatión y tripanotión. En este estudio, se analizó el efecto de 9 derivados de alcaloides y quinonas en la actividad de las enzimas hGR, PfGR y TcTR. El valor de IC50 para el efecto de los derivados en las actividades enzimáticas fue determinado a través del consumo de NADPH en el medio de ensayo a 340 nm, como se ha descrito anteriormente. Se desarrollaron estudios computacionales para los 9 compuestos, que incluyen la generación de conformeros de menor energía a través de optimización de la energía con campo de fuerza MMFF94x, utilizando el programa MOE 2009. Los análisis de QSAR fueron desarrollados utilizando GA-MLR y AutoQSAR MOE-MLR. El alineamiento flexible y el farmacóforo de consenso para los fueron obtenidos usando un esquema unificado. Ninguno de los compuestos inhibe a las enzimas humana o de parásitos con IC50 menor a 10 μ M, pero los derivados de quinonas plumbagina y lapachol mostraron un IC50 de 35 μ M y 65 μ M, respectivamente, pero son también capaces de inhibir a la enzima humana. Se reconocen en las moléculas inhibidoras centroides hidrofóbicos con estructura rígida y electrones en orbitales

Area de la Farmacología: Farmacoquímica
Dirección de Correo: victoria.espinosa@usach.cl
Agradecimientos: DICYT 021641mc
Socio Patrocinante: Dr. Miguel Reyes-Parada

31- CONSTRUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN IN SILICO DE LAS REDES BIOQUÍMICAS QUE INVOLUCRAN LA ACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES TIPO TOLL (TLRS). Construction and characterisation in silico modeling of biochemical-networks involved in the Toll-like receptors (TLRs) Activation.

Muñoz, C.A.1; Astuya, A.2; Toledo, J.R.1

1Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. 2Laboratorio de Genómica Marina y Cultivo Celular, Unidad de Biotecnología Marina, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.

La respuesta inmune innata en teleósteos, demuestra ser esencial en la defensa contra patógenos debido a las limitaciones de la respuesta inmune adaptativa. La activación de los mecanismos efectoras de la respuesta inmune innata (RII) requiere del reconocimiento de estructuras conservadas entre los patógenos, a través de Receptores de Reconocimiento de Patrones (PRRs), como los Receptores Tipo Toll (TLRs). La activación de los TLRs por sus ligandos inducen vías de señalización que finalizan en la

expresión de citoquinas pro-inflamatorias y/o interferón tipo I. Se ha descrito que los componentes y la regulación de estas vías de señalización se encuentran altamente conservados entre vertebrados. No obstante, se ha descrito que los teleósteos presentan un mayor número de genes codificantes de TLRs con respecto a mamíferos, los cuales en su mayoría son receptores exclusivos de peces con funciones desconocidas. Por lo tanto, la comprensión más detallada de estas vías de señalización, requiere la integración de toda la información funcional descrita en teleósteos, considerando además las analogías estructurales y funcionales de los componentes conservados entre vertebrados. Para ello, se propuso construir una red de reacciones integrada que represente este sistema biológico, con una definición temporal y espacial a nivel celular. Se utilizó el programa CellDesigner 4.4 para la construcción y caracterización matemática del modelo, y se realizaron simulaciones basadas en métodos determinísticos para predecir la dinámica del sistema. Las simulaciones demostraron un comportamiento coherente con la información experimental descrita, y sugieren que el tipo de respuesta generada con mayor magnitud y velocidad corresponde a la expresión de interferón tipo I. Estos resultados permiten identificar a TLRs como potenciales blancos farmacológicos para la estimulación de una RII en teleósteos.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: carolinaamunoz@udec.cl
Agradecimientos: Beca CONICYT de Doctorado Nacional.
Socio Patrocinante: Dr. J.R. Toledo

□. Los modelos

32- EXTRACTO DE BABA DE CARACOL (HELLIX ASPERSA MULLER), PROPÓLEOS Y CALÉNDULA PARA LA CURACIÓN DE ÚLCERAS POR PIE DIABÉTICO. Snail slime (*Helix aspersa* Muller), propolis and calendula for healing diabetic foot ulcers.

Franco, D.1, Suazo, L.2, Contreras, S.1, Cayun, J.P.1, Varela, N.1, Cáceres, D.3, Márquez, M.C.2, Larenas, H.1, Perez, T.4, Quiñones, L.1

1Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Departamento de Oncología Básico-Clinica (DOBC), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile. 2Corporación de Salud de San Bernardo. 3Instituto de Salud Poblacional, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile. 4Hospital Luis Calvo Mackena.

Introducción: El pie diabético es una complicación cada vez más frecuente de la Diabetes Mellitus. El compromiso de los tejidos del pie hace que la aparición de úlceras superficiales y profundas con o sin infección sean cada vez más comunes llegando a comprometer incluso la integridad del miembro. El objetivo del estudio es determinar la eficacia de una formulación de baba de caracol y extractos naturales en la curación de úlceras por pie diabético. Metodología: se reclutaron 44 sujetos con pie diabético grado 1 o 2 (Clasificación Wagner) y fueron tratados con los esquemas de tratamientos con parches convencionales o con el parche en estudio por un periodo máximo de 8 semanas. Resultados: los 33 primeros sujetos con evaluación de eficacia muestran que los tratamiento convencionales requieren de un tratamiento por 4,8 semanas (1-25 semanas) versus el tratamiento con el parche en estudio que requiere 3,0 semanas (1-6 semanas).

Se produjeron 2 eventos adversos no serios y no relacionados con el parche en estudio. Del total de sujetos, 23 terminaron el tratamiento por mejoría, 2 por falta de adherencia, 2 por eventos adversos y 6 por involución de la herida. Conclusión: el análisis preliminar muestra que el tratamiento con parches convencionales requiere más tiempo de tratamiento en comparación con el parche en estudio y, además, muestra ser seguro para este tipo de pacientes.

Area de la Farmacología: Farmacología clínica

Dirección de Correo: danielfranco1112@hotmail.com

Agradecimientos: Auspiciado por MUCIDERM S.A.

Socio Patrocinante: Dr. Luis Quiñones Sepúlveda

33- REDUCCIÓN DEL CRECIMIENTO TUMORAL EN MODELOS CELULARES DE CÁNCER DE PRÓSTATA, TRANSDUCIDOS CON VECTORES VIRALES ADENO-ASOCIADOS QUE EXPRESAN ARNS DE INTERFERENCIA CONTRA EL GEN OLR-1. Tumor growth decrease in cellular model of prostate cancer, transduced with Adeno-associated virus vectors that express short hairpin-structure RNA for OLR1 gene.

Cerro, R.P.1, González-Chavarría, I.1, Sandoval, F.A.1, Camacho, F.2., Maura, R.1 y Toledo, J.R.1

1Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos. Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. 2Laboratorio de Biofármacos Recombinantes, Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Previamente en nuestro grupo se demostró que el receptor para la lipoproteína de baja densidad oxidada, LOX-1, participa activamente en la angiogénesis y la transición epitelio mesenquimal, procesos asociados a la progresión tumoral en modelos celulares de cáncer de próstata (CaP). En el presente trabajo propusimos como objetivo, evaluar in vitro e in vivo el efecto en la reducción del crecimiento tumoral de células de CaP transducidas con vectores adeno-asociados que median la expresión de ARN de silenciamiento contra el gen codificante para el receptor LOX-1. Para transformar genéticamente la línea celular de CaP se diseñaron secuencias que codifican un short hairpin ARN (shARN) contra el gen del receptor LOX-1 (gen OLR-1), estas secuencias fueron subclonadas en un plásmido recombinante para generación de vectores adeno-asociados, que incluyen la secuencia para expresar una proteína fluorescente infrarroja. Los resultados in vitro mostraron que el silenciamiento parcial del gen OLR-1 en células C42B, disminuye la expresión a nivel de ARN mensajero y proteínas de: marcadores pro-angiogénicos (VEGF, Angiotensina II), y marcadores asociados a procesos migratorios y de invasión (MMP2 y MMP9). Además, los ensayos in vivo utilizando xenografts de células C42B con expresión y silenciamiento del receptor LOX-1 en un modelo murino inmunodeficiente, muestran que la línea celular C42B/shRNA OLR-1, presenta una menor tasa de crecimiento tumoral, en comparación con la línea C42B control.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular - Biotecnología

Dirección de Correo: ritacerrogarrido@gmail.com

Agradecimientos: Plataforma Biotecnológica INN BIO

Socio Patrocinante: Dr. Jorge Toledo

34- IMPACTO DEL POLIMORFISMO CYP2C9*3 EN LA EFICACIA DE ANTICOAGULANTES ORALES. Impact of CYP2C9*3 polymorphism in the efficacy of oral anticoagulants.

Rojo, M.1, Roco, A.1,3., Suárez, M.1, Rubilar, J.C.1, Nieto, E.2, Cruz, D.2, Gallardo, C.3, Quiñones, L.1

1.Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Programa de Farmacología Molecular y clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile. 2.Policlínico Tratamiento Anticoagulante, Hospital San Juan de Dios. 3. DECOR, SSMOC.

Introducción: Muchos de los fármacos prescritos tienen una respuesta variable y multifactorial (edad, interacciones, genéticos, etc.). Dentro de los factores genéticos, se observan variaciones en los genes de enzimas de Fase I y II, generando metabolizadores pobres, lentos o ultra rápidos. El metabolismo de la familia citocromo P450 ha sido de importante estudio y se ha relacionado con el ajuste de dosis de fármacos. Por ejemplo, en relación a la terapia con anticoagulantes orales, la variante CYP2C9*3 (rs1057910) ha mostrado afectar la farmacocinética de warfarina y acenocumarol. El objetivo de esta investigación es determinar la contribución del polimorfismo CYP2C9*3 en el ajuste de la dosis de acenocumarol en la población Chilena. Metodología: se realizó un estudio incluyendo 92 pacientes tratados con acenocumarol en el Hospital San Juan de Dios a los cuales se les tomó una muestra de sangre venosa periférica para obtener ADN genómico para genotipificación. Resultados: Los resultados genotípicos establecieron una frecuencia genotípica de 84,6% para el genotipo AA, 11,53% para el genotipo AC y 3,84% para el genotipo CC. Los resultados muestran una clara tendencia, aunque no estadísticamente significativa, de que los pacientes con el genotipo AA fueron tratados con dosis mayores que los pacientes con el genotipo AC o CC (16,72 mg/semana versus 11,5 mg/semana, p=0,245 t-test modelo dominante, p=0,082 t-test modelo recesivo). Conclusión: Nuestros resultados preliminares muestran que el polimorfismo CYP2C9*3 podría ser una herramienta relevante en el establecimiento de la dosis de acenocumarol para evitar cuadros tromboticos, lo que concuerda con los datos de literatura, lo que será corroborado cuando se disponga de un mayor número de pacientes analizados.

Area de la Farmacología: Farmacogenética

Dirección de Correo: mrvalezuella.bioq@gmail.com

Socio Patrocinante: Dra. Angela Roco Arriagada

35- PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS COMPLEJAS MEDIANTE LA TRANSDUCCIÓN DIRECTA DEL EPITELIO GLANDULAR MAMARIO UTILIZANDO VECTORES VIRALES ADENO-ASOCIADOS. Production of complex proteins through direct transduction of mammary gland epithelium using Adeno-associated viral vectors.

Camacho, F.1, Cerro, R.P.2, Varas, N.J.1, Maura, R.2, Jiménez, S.P.2, Leiva, M.J.2, Montesino, R.2, Toledo, J.R.2, Sánchez, O.R.1

1Laboratorio de Biofármacos recombinantes, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. 2Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

La glándula mamaria de rumiantes constituye una alternativa

atractiva para la producción de proteínas recombinantes complejas. Los vectores virales adeno-asociados se utilizan ampliamente para la transferencia de genes in vitro e in vivo en células de mamíferos. Nuestro objetivo es producir de forma estable la eritropoyetina humana recombinante (hEPO) en la leche de mamíferos mediante la transducción directa del epitelio glandular mamario. Utilizando el sistema AAV-DJ Helper Free Packing system diseñamos y construimos vectores virales adeno-asociados para la expresión de eritropoyetina humana. Para esto se diseñó un constructo policistrónico que contiene las secuencias codificantes para las moléculas de hEPO (E), N-acetil glucosamina transferasa IV (G) y Sialiltransferasa 2(S) (pAAV-EGS). Los vectores virales fueron obtenidos a partir de la línea celular HEK 293 AAV co-transfectando los vectores pHELPER, pDJ y pAAV-EGS. Las partículas virales fueron obtenidas desde el lisado celular y sobrenadante de cultivo, y fueron purificadas mediante cromatografía de intercambio iónico. Este proceso generó títulos virales mayores de 108 gv/mL. Para la transducción de cada glándula mamaria de ratona se utilizaron 107 gv. La extracción de leche se realizó a partir de las 48 horas post-transducción durante 30 días. La expresión de la proteína de corroboró mediante western-blot y se probó la actividad biológica en ensayos de medición de hematocrito en sangre de ratones CF1 tratados.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: frank.camacho@gmail.com
Agradecimientos: Fondecyt postdoctoral # 3140211
Socio Patrocinante: Dr. Oliberto Sanchez Ramos

36- FACTORES SECRETADOS POR CÉLULAS ENDOTELIALES, DIFERENCIADAS DESDE CÉLULAS MESENQUIMALES PROMUEVEN LA REPARACIÓN TISULAR EN UN MODELO DE HERIDA EN RATÓN HIPERGLICÉMICO. Factors secreted by endothelial cells, differentiated from mesenchymal cells promotes tissue regeneration in model of wound in hyperglycemic mouse.

Ormazábal, V.1, Zúñiga, F.2, Toledo, J.R.3, Maura, R.3, Aguayo, C.2

1Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. 2Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. 3Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Las células mesenquimales (MSC) han sido ampliamente estudiadas por su potencial biotecnológico asociado a su capacidad de diferenciación, proliferación, plasticidad y baja inmunogenicidad, siendo un blanco para su uso en reparación de tejidos. Sin embargo, se ha planteado la posibilidad que tal vez no son las MSC, si no más bien los factores secretados por las MSC quienes inducen la reparación de los tejidos. En nuestro laboratorio hemos cultivado y caracterizado molecular y fenotípicamente células MSC obtenidas desde la gelatina de Wharton de cordón umbilical humano. Hemos diferenciamos las MSC a células endoteliales (Endo), comprobando su potencial en regeneración tisular. Utilizando un modelo de herida en ratón, hemos demostrado que el sobrenadante de Endo contiene factores secretados que tienen potencial de inducir reparación tisular. Con estos antecedentes nos plantemos como objetivo evaluar el efecto de los factores secretados por Endo, sobre la

capacidad de regeneración tisular en un modelo de herida desarrollado un ratón hiperglicémico-hiperinsulinémico. Los resultados obtenidos señalan que los factores secretados por Endo, son capaces de disminuir el tiempo de cierre de herida, comparado con el control, con sobrenadante de MSC y sobrenadante de células HUVEC. Estos resultados permiten sugerir que estos factores tienen un potencial terapéutico para uso en el tratamiento de heridas crónicas.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: vormazabal@udec.cl
Agradecimientos: Proyectos VIU15E0047. Proyectos Internacionales de Investigación PII22150053

37- BASES ESTRUCTURALES DE LA MODULACIÓN ALOSTERICA POSITIVA Y SELECTIVA DE ZINC E IVERMECTINA POR P2X4R. Structural basis of the positive and selective allosteric modulation of zinc and ivermectin by P2X4R.

Latapiat, V.X. 1; Huidobro-Toro, J.P.1,2

1Laboratorio de Farmacología de Nucleótidos, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. 2Centro para el Desarrollo de la Nanociencia y la Nanotecnología, Universidad de Santiago de Chile.

La modulación alostérica de proteínas es considerada un pilar de la regulación metabólica que se ha extendido a la modulación de los canales iónicos. Hemos investigado la modulación alostérica del receptor P2X4 (P2X4R) por Zn(II) e ivermectina (IVM), una lactona macrocíclica derivada de un Streptomycetes, con actividad antiparasitaria. Zn(II) e IVM modulan positivamente P2X4R con efectos aditivos. Se propone como hipótesis que Zn(II) e IVM interactúan en sitios distintos P2X4R y que además, producen cambios en la conformación del receptor. Usamos herramientas bioinformáticas como acoplamiento y dinámica molecular, con el fin de caracterizar el sitio de unión de IVM. También se estudiaron los cambios producidos en el poro en la transición de cerrado a abierto por ATP con y sin zinc e IVM para entender como la estructura de P2X4R se modifica por IVM, Zn(II) y ATP. Mediante acoplamiento molecular se determinó que la modulación alostérica por IVM involucra las hélices transmembrana (TM) y la interfaz proteína-lípido de P2X4R, debido principalmente a la hidrofobicidad del sitio e interacciones de tipo pi-pi de IVM con los residuos Tyr42, Trp46, Trp50 del P2X4R. En contraste, P2X2R y P2X7R, que no son modulados por IVM, carecen de un residuo aromático en la posición 50, que estaría favoreciendo la interacción del complejo. Por otra parte, las dinámicas moleculares muestran que Zn(II) es estable en la zona cercana a Cys132 y que la interacción de IVM en la interfaz de los segmentos TM aumenta el tamaño de la fenestración del poro, consistente con el efecto aditivo en la inducción de corrientes por ATP. Estos estudios evidencian las bases estructurales de la modulación específica de IVM por P2X4R.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: vlatapiatg@gmail.com
Agradecimientos: Financiado por Fondecyt 114-1132 y CEDENNA, PFB 0807.
Socio Patrocinante: Dr. Juan Pablo García-Huidobro

38- EL TRATAMIENTO CON FENOFIBRATO EVITA LA PREFERENCIA DE LUGAR CONDICIONADO POR ETANOL Y REDUCE EL EFECTO DE PRIVACIÓN EN RATAS BEBEDORAS UChB. Fenofibrate treatment avoids ethanol conditioned place preference and alcohol deprivation effect in alcohol preferring UChB rats.

Salinas-Luybaert, C.1; Jerez, E.1; Gallardo-Castillo, E.P.1; Rivera-Meza, M.1; Karahanian, E.2

Laboratorio de Farmacología Experimental, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. 2, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile.

El etanol es metabolizado principalmente en el hígado por las enzimas alcohol deshidrogenasa y catalasa para formar, en primera instancia, acetaldehído. Diversos trabajos han demostrado el efecto aversivo que genera la acumulación de acetaldehído a nivel periférico, convirtiéndose en un blanco de acción terapéutica para el tratamiento del alcoholismo. El fenofibrato es un fármaco comúnmente utilizado en la clínica para el tratamiento de la hipercolesterolemia primaria. Su mecanismo de acción implica la activación del factor de transcripción peroxisomal PPAR-alfa, el principal regulador del metabolismo lipídico en el hígado. Se postula que la activación de este factor de transcripción podría incrementar los niveles de la enzima peroxisomal catalasa, logrando así una acumulación de acetaldehído periférico. En este trabajo se estudió el efecto del tratamiento con fenofibrato (50 mg/kg/día) sobre (i) la preferencia a lugar condicionado por etanol y (ii) el efecto de privación de etanol en ratas bebedoras de la cepa UChB. El tratamiento con fenofibrato evitó completamente la generación de preferencia a lugar condicionado por etanol en ratas bebedoras UChB. El fenofibrato además redujo significativamente el consumo de etanol al restablecer el libre acceso tras un periodo de privación de 14 días en ratas previamente en consumo crónico. Este efecto se reprodujo tras un segundo periodo de 14 días de privación. El porcentaje de lípidos de los hígados de las ratas tratadas con fenofibrato no difiere significativamente del de las ratas control. En conjunto estos resultados apuntan a que el tratamiento con fenofibrato es efectivo en la reducción de los efectos reforzantes de etanol.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: c.salinas@ug.uchile.cl
Agradecimientos: FONDECYT 115-0850
Socio Patrocinante: Dr. Mario Rivera-Meza

39- CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE LA HETEROMERIZACIÓN ENTRE EL RECEPTOR DE DOPAMINA D1 Y EL RECEPTOR DE LA HORMONA LIBERADORA DE COTICOTROFINA TIPO-2 ALFA. Structural characterization of the the D1 dopamine receptor and the type 2-alpha corticotrophin releasing hormone heteromer.

López, C.A.; Yarur, H.E.; Coloma, B.; Gysling, K.

Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de

Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Los receptores acoplados a proteína G (GPCRs), son la familia más numerosa de receptores de membrana. Los GPCRs responden traduciendo señales vía su acoplamiento con las proteínas G heterotriméricas, permitiendo las respuestas de variada naturaleza que accionan los GPCRs. Tradicionalmente el accionar de los GPCR se describió como una sola unidad funcional, pero existe creciente evidencia que éstos son capaces de formar homómeros y/o heterómeros, lo cual tiene implicancias en su funcionamiento (Ng et al, 2013). Dentro de la familia de GPCRs se encuentran el receptor dopaminérgico del tipo 1 (D1R) y el receptor de la hormona liberadora de corticotrofina del tipo-2alfa (CRHR2alfa). Tanto la dopamina como la hormona liberadora de corticotrofina (CRH) son neurotransmisores claves en la interacción entre estrés y adicción (Koob 2008, Gysling 2012, George et al 2012). Se demostró recientemente que ambos receptores son capaces de heteromerizar (Fuenzalida et al, 2014), lo que podría explicar en parte el nexo existente entre el uso de drogas de abuso y estímulos estresantes. La interacción entre D1R y CRHR2alfa produce un cambio en la señalización y la localización subcelular de ambos receptores. El objetivo del presente trabajo es determinar la base estructural de la formación del heterómero D1/CRHR2alfa. Para ello, se generó un mutante del D1R, en donde se cambió un motivo de di-leucina en su C-terminal, que lo retiene intracelularmente. La co-expresión de D1R –mut con CRHR2alfa no modificó la localización del CRHR2alfa. Estos resultados sugieren que el heterómero D1R/CRHR2alfa se forma intracelularmente.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: calopez9@uc.cl
Agradecimientos: Financiado por FONDECYT N° 1150244.

40- TRANSMISIÓN OPIACEA Y ALCOHOLISMO: SILENCIAMIENTO DE LA EXPRESIÓN DEL GEN DEL RECEPTOR MU-OPIOIDE MEDIANTE RNA DE INTERFERENCIA. Opiate transmission and alcoholism: silence of mu opioid receptor gene expression by interference RNA.

Araya, A.; Rivera-Meza, M.

Laboratorio de Farmacología Experimental, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

El alcoholismo es un problema mundial de salud pública, por lo que es importante comprender sus bases neuro-farmacológicas para identificar nuevos blancos terapéuticos. Uno de los problemas del alcoholismo es la recaída, que corresponde a la pérdida de control sobre el consumo de alcohol cuando el paciente vuelve a beber después de un período de abstinencia. Estudios en modelos animales de alcoholismo han asociado un mayor valor placentero del alcohol al momento de la recaída. Este incremento del valor hedonístico del alcohol podría estar asociado a un mayor nivel del receptor mu-opioide (MOR) en el circuito cerebral de recompensa. Para determinar la importancia de MOR en la recaída al consumo de alcohol, en este trabajo se presentan estudios destinados a desarrollar vectores lentivirales que expresen o reduzcan in vivo la expresión de MOR. Para ello se clonó el gen MOR de rata en el plásmido pHIV-OPMR-eGFP. Se

transfectaron células HEK293T con pHIV-OPMRr-eGFP y se verificó la expresión de MOR mediante Western blot. Para lograr el silenciamiento de la expresión del receptor se co-transfectó pHIV-OPMRr-eGFP con cuatro secuencias distintas de shRNAs complementarios al mRNA de MOR. Para los ensayos in vivo se generaron lentivirus codificantes de MOR y del shRNA más potente en reducir su expresión. Los resultados mostraron que pHIV-OPMRr-eGFP fue efectivo en generar in vitro MOR. De las cuatro secuencias de shRNA anti MOR se encontró que las secuencias A y D otorgaron el mayor grado de silenciamiento (83,7% y 80,6% respectivamente). En conclusión, se logró clonar y expresar MOR en células HEK-293T. Además, se identificaron 2 secuencias de shRNA capaces de silenciar en más de 80% la expresión del cDNA codificante de MOR.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: anibal.aray@gmail.com
Agradecimientos: Financiamiento: FONDECYT Iniciación 111-30241 (MRM)
Socio Patrocinante: Dr. Mario Rivera-Meza

41- RELEVANCIA DEL RESIDUO S346 EN LA MODULACIÓN FUNCIONAL DE LA SUBUNIDAD ALFA3 DEL RECEPTOR DE GLICINA POR PROTEÍNA QUINASA A. Relevance of the S346 residue for the functional modulation of the glycine receptor alfa3 subunit by protein kinase A.

San Martín, V.P.; Muñoz, B.; Lara, C.O.; Marileo, A.M.; Moraga-Cid, G.; Yévenes, G.E.

Departamento de Fisiología, Universidad de Concepción, Chile.

El dolor crónico inflamatorio está asociado a una disminución de las corrientes glicinérgicas en el asta dorsal de la médula espinal. Este fenómeno está relacionado a la activación de receptores EP2 por prostaglandinas endógenas y la subsecuente fosforilación de receptores de glicina (R-Gli) compuestos de la subunidad alfa3 por PKA en el residuo S346. A pesar de la importancia de este fenómeno, los mecanismos moleculares asociados a la inhibición funcional de alfa3-R-Gli por fosforilación aún no están establecidos. En este trabajo, hemos explorado los mecanismos moleculares involucrados utilizando técnicas electrofisiológicas, inmunocitoquímicas y moleculares. Experimentos electrofisiológicos en células HEK293 que expresaron alfa3-R-Gli junto con receptores EP2 o junto con una adenilil ciclasa fotoactivable (b-PAC) demostraron que la activación de PKA generó una disminución significativa de la corriente activada por glicina. Ensayos de inmunocitoquímica y de análisis de imágenes determinaron que esta disminución funcional no está asociada a cambios en la expresión de alfa3-R-Gli en la membrana plasmática. La relevancia funcional de la fosforilación del residuo S346 fue extendida a través del estudio de alfa3-R-Gli mutantes que simulan el estado fosforilado (S346E) y no fosforilado (S346A). Ensayos inmunocitoquímicos y electrofisiológicos mostraron que la expresión en la membrana plasmática y que las propiedades electrofisiológicas macroscópicas de ambos receptores fueron similares a las presentadas por receptores salvajes. Sin embargo, registros electrofisiológicos de canales únicos mostraron que la mutante fosfomimética S346E posee una disminución significativa en la conductancia. En conjunto, nuestros resultados sugieren que

la inhibición funcional de alfa3-R-Gli por PKA está principalmente asociada a una reducción en la conductancia relacionada con la modificación del residuo S346.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: victoriansanmart@udec.cl
Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 1140515
Socio Patrocinante: Dr. Gonzalo Yévenes

42- POLIMORFISMOS EN GENES DE GLUTATION S-TRANSFERASAS GSTP1 Y GSTT1 COMO FACTORES DE RIESGO DE CÁNCER TESTICULAR. Glutathione S-transferases GSTP1 and GSTT1 genetic polymorphisms as testicular cancer risk factors.

Rubilar, J.C.1, Roco, A.1, Cayún, J.P.1, García, E.2, Agúndez, J.A.2, Cerda, B.3, Peña, K.4, Acevedo, C.1, Varela, N.1, Cáceres, D.5, Quiñones, L.1.

1Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Departamento de Oncología Básica Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2Laboratorio de Farmacogenética, Universidad de Extremadura. 3Instituto Nacional del Cáncer. 4Hospital San Juan de Dios. 5Instituto de Salud Poblacional, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El cáncer testicular es el tumor maligno que representa aproximadamente el 1% de todos los cánceres. En Chile presenta altas tasas de incidencia y mortalidad, estimándose que 7 de cada 100,000 hombres al año lo padecen. La familia de genes glutatión-S-transferasa (GSTs) que codifican para enzimas de metabolización de fase II, tienen un importante papel en la biotransformación y desintoxicación de diferentes xenobióticos y componentes endógenos, incluyendo agentes carcinógenos, mutágenos y medicamentos antineoplásicos. Estos medicamentos pueden formar conjugados con la glutatión, de manera espontánea o en reacciones catalizadas por GST. Mutaciones en estos genes han sido asociadas a mayor incidencia de diversos tipos de cáncer. El objetivo de este trabajo fue relacionar la presencia de polimorfismos GSTP1-313 A>G y delección GSTT1 y su posible asociación con la incidencia de cáncer testicular (CT). Metodología: Se obtuvo DNA genómico de 213 voluntarios de población general chilena y 132 pacientes con CT. El análisis genotípico fue realizado mediante Real Time-PCR y PCR. Resultados: El polimorfismo GSTP1-313 A>G presenta una frecuencia alélica de G de 0,345 en población general y 0,477 en pacientes con CT, significativamente asociado con el incremento del riesgo en CT (OR = 2,85; IC = 1,61-5,15; p-value <0,001) para la condición heterocigota y homocigota mutada (OR = 4,78; IC = 2,13-11,1; p-value = <0,001). Para la mutante "null" de GSTT1 la frecuencia alélica es de 0,08 en población general y 0,17 en CT (OR = 2,42; IC = 1,00-6,68 y p-value = 0,083). Conclusión: La frecuencia alélica para polimorfismos GSTP1-313 A>G y mutante "null" de GSTT1 es mayor en pacientes con CT, siendo estos polimorfismos significativamente asociados con el incremento del riesgo en CT.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: icarlos.rubilar.esp@gmail.com
Agradecimientos: Trabajo financiado a través del proyecto Fondecyt regular N° 114-0434
Socio Patrocinante: Dra. Ángela Margarita Roco Arriagada

43- LA HORMONA TIROIDEA (T3) SUPRIME LA ACTIVACIÓN DEL INFLAMASOMA NLRP3 INDUCIDA POR LA ISQUEMIA/REPERFUSIÓN (IR) HEPÁTICA: PAPEL DE LA PROTEÍNA QUINASA ACTIVADA POR AMP (AMPK). Thyroid hormone suppresses ischemia-reperfusion-induced liver NLRP3 inflammasome activation: role of AMP-activated protein kinase.

Vargas, R; Fernández, V; Videla, L.A.

Laboratorio de Estrés Oxidativo y Hepatotoxicidad, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La T3 preconditiona contra el daño hepático producido por la IR, cuyo alto requerimiento energético se relaciona a la inducción y activación de la AMPK asociada a su fosforilación y al estrés oxidativo desarrollado. Debido a que la IR involucra un componente inflamatorio, el objetivo de este estudio fue determinar la influencia de la administración de T3 (0,1 mg/kg o vehículo; tiempo cero) en la activación del inflammasoma (NLRP3) en hígado de ratas, y el papel de la AMPK mediante su inhibición con compuesto C (CC; 10 mg/kg o vehículo; tiempo cero y 24 h). Luego de 48 h del tratamiento hormonal, los hígados de ratas Sprague-Dawley (180-200 g) fueron sometidos a 1 h de isquemia seguida de 20 h de reperfusión. Se determinaron parámetros de daño (histologías y niveles séricos de aspartato aminotransferasa (AST)), niveles de ARNm (qPCR) y proteínas (Western Blot o ELISA) hepáticas. La IR distorsiona substancialmente la arquitectura hepática, con necrosis, infiltración de neutrófilos, aumento de AST sérica y niveles elevados de ARNm y proteicos de NLRP3 e interleuquina-1beta hepáticos. Estos efectos fueron suprimidos por T3 y recuperados por el tratamiento con CC. En conclusión, T3 preconditiona al hígado contra el daño producido por IR, estableciendo las bases moleculares de su acción anti-inflamatoria mediante la supresión de la inducción de NLRP3 e IL-1beta por IR, fenómeno en el cual AMPK juega un papel causal en la promoción de la dinámica energética y sobrevivencia celular.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular

Dirección de Correo: rgevargas@gmail.com

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 1150104

Socio Patrocinante: Dr. Luis A. Videla

44- REGULACIÓN DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE PPARALFA-FGF21 Y SU COMPLEJO RECEPTOR FGFR1-BETA-KLOTHO EN HÍGADO DE RATA MEDIANTE EL TRATAMIENTO CON HORMONA TIROIDEA. Upregulation of rat liver PPARalpha-FGF21 and its receptor complex FGFR1- beta-Klotho signaling pathway by a thyroid hormone protocol.

Riquelme, B.1; Vargas, R.1; Arenas, A.1; Cornejo, P.2; Fernández, V.1; Videla, L.A.1

1Laboratorio de Estrés Oxidativo y Hepatotoxicidad, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.2 Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Salud y Odontología, Universidad Diego Portales.

Se conocen diversas estrategias para el preconditionamiento hepático, entre ellas el tratamiento con T3. Esta hormona posee un efecto calorigénico en el hígado, lo que desencadena la

expresión de genes relacionados con el metabolismo, provocando así el efecto citoprotector. El objetivo de este estudio fue determinar la influencia de T3 sobre la expresión de ARNm y proteica de PPAR alfa, FGF21 y el complejo receptor de FGF21, FGFR1 y Beta-Klotho, componentes clave de la vía de señalización asociada a T3, que termina con la activación de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK). Para lograr estos propósitos, se administró una dosis única de 0,1 mg T3/kg a ratas Sprague-Dawley (180-200 g) o vehículo hormonal (controles). Para los análisis, se utilizaron las técnicas de qPCR, Western Blot y ELISA. La administración de T3 aumenta la expresión hepática de los ARNm de PPAR alfa, FGF21 y Beta Klotho (P<0,05; test de t-Student), sin cambios en los de FGFR-1. Los niveles proteicos de PPAR alfa y FGF21 también aumentan por influencia de T3 (P<0,05), sin cambios significativos en los de Beta Klotho y FGFR-1. Se concluye que T3 aumenta la expresión de los componentes de la vía de señalización PPAR alfa-FGF21, la cual requiere de la inducción de Beta-Klotho como cofactor esencial del complejo con FGFR-1, eventos clave que llevan al aumento de la energética hepática al activar AMPK. La ausencia de cambios en la expresión proteica de Beta-Klotho pudiera deberse a su fuerte unión al complejo FGF21-FGFR-1 (Kd = 1,5x10⁻¹⁰ M), mientras que FGFR-1 se expresa constitutivamente en el hígado y no es limitante para la operación de la vía.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular

Dirección de Correo: barbara.jrr.645@gmail.com

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 1150104

Socio Patrocinante: Dr. Luis A. Videla C.

45- EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE ASCORBATO EN EL PLASMA SOBRE LA FUNCIÓN MICROCIRCULATORIA EN PACIENTES CON INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO. Effect of the plasma ascorbate concentration in the microcirculatory function in patients with acute myocardial infarction.

Yumha Laiz, J.1, Rodrigo, R.1, González, J.1, Valls, N.1, Brito, R.1

Instituto de Ciencias Biomédicas, Laboratorio Estrés Oxidativo y Nefrotoxicidad, Facultad de Medicina, Campus Norte, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

INTRODUCCION: Existe gran evidencia que el estrés oxidativo es uno de los principales responsables de la patogénesis de la disfunción microvascular después de la reperfusión en pacientes con infarto agudo al miocardio (IAM). En este contexto la terapia antioxidante puede ser benéfica para disminuir los efectos deletéreos de las especies reactivas del oxígeno sobre la función cardíaca. OBJETIVOS: Establecer si los niveles de ascorbato plasmáticos influyen en la microcirculación cardíaca en pacientes sometidos a angioplastia coronaria de reperfusión. MÉTODOS: Se realizó un ensayo clínico randomizado, doble ciego y control-placebo. Pacientes con infarto agudo al miocardio previamente reclutados se dividieron en dos grupos: intervenidos y controles. Al grupo intervenido se le administró vitamina C como ascorbato de sodio en altas dosis (320mM) vía infusión continua endovenosa (10mL/min la primera hora seguido de 3mL por minuto las siguientes dos horas) y una dosis única oral de vitamina E (800 UI) 30 minutos antes de la angioplastia. Luego se les indicaron dosis orales de vitamina C (500 mg/12 hrs) y E (400 UI/24hrs) por 84

días. Se analizó el grado de perfusión miocárdica como método para evaluar la función microcirculatoria, a través de la graduación "TIMI myocardial perfusion grade" (TMPG). RESULTADOS: En el grupo tratado el 95% de los pacientes logró una TMPG 2-3 y tan solo un 5% se mantuvieron con un TMPG 0-1. Contrariamente, en el grupo control solo el 79% de los pacientes mostró TMPG 2-3 y el 21% presentó un TMPG 0-1. CONCLUSIONES: El uso de vitamina C en altas dosis previo a la angioplastia coronaria de reperfusión muestra beneficios sobre la prevención de la disfunción microcirculatoria en pacientes sometidos a angioplastia de reperfusión.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular

Dirección de Correo: yumha88@gmail.com

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT proyecto: 112-0594

46- EXPRESION DE LOXIN EN UN MODELO DE RATON CON ATEROSCLEROSIS. Overexpression of LOXIN in a mouse model of atherosclerosis.

Reyes, C.1; Aroca, C.1; Covarrubias, A.3; Zúñiga, F.A.1; Ormazábal, V.2; Aguayo, C.1

1Department of Clinical Biochemistry and Immunology, Faculty of Pharmacy, University of Concepción, Concepción, Chile. 2Department of Physiopathology, Faculty of Biological Sciences, University of Concepción, Concepción, Chile. 3Department of Medical Technology, Faculty of Health Sciences, University of San Sebastián, Concepción, Chile.

Atherosclerosis is a major form of cardiovascular disease and the main risk factors is oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL). Ox-LDL has been demonstrated to be involved in multiple steps of the pathogenesis of atherosclerosis. LOX-1 is the main ox-LDL receptor and is a disulfide-linked homodimer belonging to the C-type lectin-like receptors improve the atherosclerosis process. LOX-1 is encoded by OLR1 gene, previous work identified six single nucleotide polymorphisms (SNPs) and OLR1 exon 5 alternative splicing leads to the generation of an isoform skipping of exon 5 generates a truncated protein isoform (LOXIN) that lacks the Ox-LDL binding domain and protects against Ox-LDL uptake. Recently, evidence suggests that high levels of ox-LDL contribute to the development of atherosclerosis by promoting apoptosis of mature endothelial cells. Interestingly, in vitro evidence suggests LOXIN could ameliorate the atherosclerosis process but it is unclear whether LOXIN has a therapeutic effect on atherosclerosis in vivo. Therefore, we investigated directly in a H4-II-E-C3 rat hepatoma cell line a functional consequence of interaction between LOX-1 rat with LOXIN human by IF. Our data demonstrates a low level of apolipoprotein B100 incorporation when H4 cell line was incubated in oxLDL and LOXIN. In addition, a mouse model of atherosclerosis 8 week-old female apolipoprotein E-deficient mice were fed a high-fat by 3 months after we evaluated atherosclerotic plaque development and LOX-1 expression by IF, IHQ. Our data demonstrates a high expression of LOX-1 apolipoprotein E-deficient mice fed a high-fat by 3 months and a diminution of atheroma formation in aortic wall. Therefore, LOXIN could serve as a new drug for the treatment of atherosclerosis-related diseases.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular

Dirección de Correo: camireyes@udec.cl

Agradecimientos: Proyecto de cooperación internacional, PII220150053

Socio Patrocinante: Dra. Valeska Ormazábal

47- INTERFERÓN-BETA DISMINUYE EL RECLUTAMIENTO DE NEUTRÓFILOS INDUCIDO POR LPS SOBRE FIBROBLASTOS CARDIACOS. Interferon-beta reduces neutrophil recruitment induced by LPS on cardiac fibroblasts.

Anfossi, R.; Bolívar, S.; Humeres, C.; Díaz-Araya, G.A.

Laboratorio Farmacología Molecular Cardiovascular, Departamento Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Últimamente se ha descrito el rol determinante que tiene el fibroblasto en el proceso inflamatorio (PI). En el tejido cardíaco, el fibroblasto cumple un rol de sostén del corazón, respondiendo de manera muy variada y compleja a ciertos estímulos con el fin de mantener la homeostasis del órgano. En este PI el neutrófilo es de vital importancia para que se lleve a cabo y tan sensible, que su sobreexpresión conlleva a la exacerbación de la respuesta inflamatoria. Para cumplir su función necesita de la secreción de interleucina 8 (IL-8), quimioquina vital en la activación y migración de este. Su infiltración al lugar de injuria, también requiere de la presencia de proteínas de adhesión, entre ellas E-selectina, ICAM-1 y VCAM-1. Un PI desencadena la sobreexpresión de estas proteínas, sin las cuales, los neutrófilos no podrían transmigrar el endotelio y/o adherir a los fibroblastos. Ya en el lugar de inflamación, este libera su contenido rico en citoquinas, enzimas degradadoras y quimioquinas reclutadoras de otros leucocitos, entre otras. Es por esto que esta vía inflamatoria es tan importante y delicada. En este trabajo se utilizó el Interferón beta (IFN-beta), debido a sus antecedentes como modulador de la respuesta inflamatoria. Hasta la fecha no existen trabajos que utilicen IFN-beta como modulador de esta vía. Se caracterizó la IL-8, ICAM-1 y VCAM-1 al estimular fibroblastos cardíacos (FC) con LPS y ver el efecto que ejerce el IFN-beta sobre estas. Los resultados demostraron el efecto "preventivo" que ejerce el IFN-beta sobre la expresión de estas proteínas respecto de los niveles alcanzados en FC tratados con LPS. En consecuencia, se observó el mismo efecto del IFN-beta en la adhesión de neutrófilos sobre FC. Así, se demostró que el IFN-beta es capaz de censar esta importante vía del proceso inflamatorio y así, transformarse en una potencial alternativa terapéutica. al modular la cascada inflamatoria luego de algún evento de injuria cardiaca como lo puede ser una miocarditis, o bien, un infarto al miocardio.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular

Dirección de Correo: rena.chs@gmail.com

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 113-0300

Socio Patrocinante: Dr. Guillermo Díaz-Araya

48- HEPARÁN SULFATO AUMENTA LA ADHESIÓN DE LEUCOCITOS A FIBROBLASTOS CARDÍACOS VÍA TLR4. Heparan sulfate increases leukocyte adhesion to cardiac fibroblasts through TLR4.

Olivares-Silva, F., Anfossi, R., Osorio, J.M., Muñoz, C., Bolívar, S., Humeres, C., Díaz-Araya, G.A.

Laboratorio de Farmacología Molecular, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Introducción: El fibroblasto cardíaco (FC) es una célula centinela en el tejido cardíaco y responde a diversos estímulos pro-inflamatorios. El heparán sulfato (HS), es un patrón molecular asociado a daño, liberado en procesos como infarto cardíaco y activa el TLR4. Se desconoce el efecto de HS sobre la expresión de ICAM-1 y VCAM-1 en los FC y si aumenta la adhesión de leucocitos sobre los FC. Objetivos: Demostrar que HS aumenta la expresión de ICAM-1, VCAM-1 y la adhesión de células mononucleares de bazo (SMC) y polimorfonucleares de médula ósea (PMN) en FC, mediados por TLR4. Materiales y métodos: Se utilizaron FC de rata Sprague-Dawley, los cuales fueron estimulados con HS y se evaluó tanto la expresión de ICAM-1 y VCAM-1 (western blot), como la adhesión de SMC y PMN (fluorimetría) en presencia/ausencia de inhibidores de TLR4, PI3K/AKT, ERK1/2, NF-κB y siRNA contra ICAM-1 y VCAM-1. Resultados: HS aumenta la expresión de ICAM-1 y VCAM-1 entre 1.5-2 veces respecto del control, como también incrementa la adhesión de SMC y PMN sobre los FC. Ambos efectos son comparables a LPS. El aumento en la expresión de ICAM-1 y VCAM-1, junto con la adhesión de SMC y PMN es dependiente de TLR4, PI3K/AKT y NF-κB. Al silenciar ICAM-1 y VCAM-1 se observa una disminución en la adhesión comparados con el control. Conclusiones: HS aumenta, vía TLR4, la expresión de ICAM-1, VCAM-1 y la adhesión de SMC y PMN sobre los FC, cumpliendo un rol importante en procesos inflamatorios de daño cardiovascular.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular

Dirección de Correo: francisco.olivares@um.uchile.cl

Agradecimientos: Agradecimientos a FONDECYT 113-0300

Socio Patrocinante: Dr. Guillermo Díaz Araya

49- EVALUACIÓN DE MECANISMOS EPIGENÉTICOS EN UN MODELO DE CÉLULAS MONOCÍTICAS HUMANAS (THP-1) TRATADAS CON ESTATINAS. Evaluation of epigenetic mechanisms in a model human monocytic cell (THP-1) treated with statins.

Lagos, J.1,3; Hirata, R.D.C.2; Hirata, M.H.2; Salazar, L.A.1

1Centro de Biología Molecular y Farmacogenética de la Facultad de Medicina de la Universidad de La Frontera, Temuco, Chile; 2Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Sao Paulo, Sao Paulo, Brasil; 3Facultad de Salud, Escuela de Tecnología Médica, Universidad Santo Tomás, Temuco, Chile.

Introducción: La farmacodinamia de estatinas está asociada a la biosíntesis intracelular de colesterol. Es conocido que las estatinas regulan la expresión de genes de esta vía, sin embargo no se conoce si modulan mecanismos epigenéticos. Objetivo: Evaluar in vitro la expresión de genes de la farmacodinamia de estatinas en

asociación a metilación de ADN, modificación de histonas y expresión de miRNAs. Metodología: Se cultivaron células THP-1 en ausencia y presencia de 10 μM de atorvastatina y simvastatina. La expresión génica y la expresión de miRNA 29a, 29b, 33a, 33b, 300 y 454 se realizó mediante PCR en tiempo real. Se determinó la metilación global del ADN y 31 modificaciones en histona 3 y 4 mediante inmunoensayos colorimétricos. Resultados: Los genes LDLR, HMGCR, SREBF2 e INSIG1 fueron sobreexpresados por ambas estatinas, mientras que SCAP, MBTPS1 y MBTPS2 solo por simvastatina. Ninguna estatina afectó SREBF1, INSIG2 y KPNB1. Se observó hipometilación de ADN y aumento de metilación de H3K36 y H3K79, acetilación de H3K14, H3K9, H4K5 y fosforilación H3Ser28 por ambas estatinas, y solo atorvastatina aumentó metilación de H3K4, H3K9, H3K36 y H4K20. Simvastatina aumentó metilación de H4K20 y fosforilación de H4Ser1. Ambas estatinas sobreexpresaron miARN-29b y 454 y sólo atorvastatina sobreexpresó miARN-33b. No se observaron cambios en miRNA 29a, 33a, y 300. Conclusiones: Simvastatina y atorvastatina modulan diferencialmente la expresión de genes y mecanismos epigenéticos. La sobreexpresión génica podría deberse a una mayor transcripción por hipometilación de ADN y estructura abierta de la cromatina debido a modificaciones de histonas y miRNAs. Este es el primer estudio simultáneo de tres mecanismos epigenéticos en presencia de estatinas.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular

Dirección de Correo: tm.ienny.lagos@gmail.com

Agradecimientos: FONDECYT - Chile (1130675); Beca CONICYT (211-30987)

50- MIRO1 ES UN REGULADOR NEGATIVO DE LA HIPERTROFIA INDUCIDA POR FENILEFRINA EN CARDIOMIOCITOS DE RATA NEONATA. Miro1 is a negative regulator of phenylephrine induced hypertrophy in rat neonatal cardiomyocytes.

Olmedo, I.1; Casanova, A.1; Pedrozo, Z.1,2; Donoso, P.1; Sánchez, G.1

1Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2Advanced Center for Chronic Diseases, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las mitocondrias son responsables del 90% de la producción de ATP en el cardiomiocito y su función está regulada dinámicamente por procesos de fusión y fisión. La estimulación de cardiomiocitos con agonistas adrenérgicos genera hipertrofia y aumento de la fisión mitocondrial, lo que se asocia a una disminución de la producción de ATP. Miro1 es una proteína de la membrana externa mitocondrial implicada en el transporte y dinámica mitocondrial en neuronas. Miro1 se expresa en el tejido cardíaco pero su rol es desconocido. El objetivo de este trabajo fue evaluar la participación de Miro1 en la hipertrofia cardíaca inducida por fenilefrina (FE), para lo cual se trataron cultivos primarios de cardiomiocitos de rata neonata con FE 50 x 10⁻⁶ M durante 48 horas. Se utilizaron células controles y células silenciadas para Miro1 (siMiro1). Se evaluaron los niveles del ARNm de Miro1 y de marcadores hipertróficos (Beta-MHC, ANP y BNP) por qPCR. Se evaluó el área celular y el índice de sarcomerización por microscopía de epifluorescencia utilizando rodamina-faloidina. La

dinámica mitocondrial fue evaluada por microscopía confocal utilizando Mitotracker Green. Los resultados muestran que durante la hipertrofia inducida por FE aumentan los niveles del ARNm de Miro1. El silenciamiento de esta proteína durante la incubación con FE incrementa la expresión de los marcadores de hipertrofia, el área celular, el índice de sarcomerización y la fisión mitocondrial en comparación con los valores observados en células controles incubadas con FE. Estos resultados sugieren que Miro1 es un regulador negativo de la hipertrofia inducida por fenilefrina en cardiomiocitos de ratas neonatas.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular
Dirección de Correo: iolmedoalegria@gmail.com
Agradecimientos: FONDECYT 314-0449, 113-0407, 115-0887 y FONDAP 151-30011.

51- “POLIMORFISMO VKORC1 – 1639G>A (RS9923231), EN POBLACIÓN CHILENA: IMPLICANCIAS EN LA TERAPIA ANTICOAGULANTE CON DERIVADOS CUMARÍNICOS”. “VKORC1-1639G>A (rs9923231) polymorphism, in the Chilean population: implicances in anticoagulant therapy with coumarin derivatives”.

Suárez, M.1, Roco, A.1, Rubilar, J.C.1, Nieto, E.2, Cruz, D.2, Quiñones, L.1

1.Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Programa Farmacología Molecular y Clínica ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2.Policlínico Tratamiento Anticoagulante, Hospital San Juan de Dios.

Antecedentes: La capacidad inherente para metabolizar fármacos varía entre los pacientes. Aquellos con metabolismo rápido requieren dosis elevadas y una mayor frecuencia para alcanzar las concentraciones terapéuticas deseadas, en cambio aquellos con metabolismo lento requieren dosis inferiores y una menor frecuencia para evitar la toxicidad, sobre todo en fármacos con índice terapéutico estrecho. Las dos enzimas más importantes relacionadas con la acción y metabolización de los anticoagulantes orales, como acenocumarol y warfarina, son la Vitamina K epóxido reductasa (codificada por el gen VKORC1) y el citocromo CYP2C9. Diversos estudios han demostrado que polimorfismos genéticos de CYP2C9 (particularmente los alelos *2 y *3) y un polimorfismo en la región promotora de VKORC1 (-1693G>A) son las variantes de mayor implicancia de un requerimiento menor de dosis habitual de cumarinas. De acuerdo a estos antecedentes, se propuso la presente investigación. Objetivo general: “Determinar las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo -1693G>A de la enzima Vitamina K epóxido reductasa (VKORC1) en población chilena”. Voluntarios y Métodos: El estudio es de tipo descriptivo, realizándose en el periodo Agosto 2015 a Enero 2016 con 224 voluntarios, quienes cumplieron los criterios de inclusión, a los cuales se les tomó una muestra de sangre venosa para obtención de ADN y análisis genotípico utilizando PCR en tiempo real con sondas Taqman específicas. Resultados: La frecuencia genotípica del polimorfismo VKORC1-1693G>A (rs9923231) en población estudio fue de 27,7% para homocigoto GG, 20,5% para homocigoto AA y 51,8% para heterocigoto GA. La frecuencia alélica del alelo A fue de 0,46. Los resultados obtenidos fueron similares a los descritos en población caucásica, estableciendo un potencial perfil de respuesta farmacoterapéutica homólogo a

estas poblaciones para el tratamiento anticoagulante.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular
Dirección de Correo: mar.suarez.ma@gmail.com
Socio Patrocinante: BQ. Ángela Roco Arriagada

52- EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE ROSUVASTATINA VERSUS DULOXETINA, EN UN MODELO DE DOLOR NEUROPÁTICO EN RATONES INDUCIDO POR PACLITAXEL. Antinociceptive effect of rosuvastatin versus duloxetine in a model of neuropathic pain induced by paclitaxel in mice.

Lobos, N.1; Lux, S.1; Hernández, A.2; Constandil, L.2

1Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; 2Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La neuropatía por quimioterapia es una patología de difícil manejo, generalmente refractaria al tratamiento analgésico. Paclitaxel, quimioterapéutico ampliamente utilizado, presenta altas incidencias de neurotoxicidad; para la cual, solo la duloxetina ha demostrado un efecto analgésico significativo. Las estatinas, inhibidores de la 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa), usados clásicamente para reducir el colesterol, han mostrado efecto antinociceptivo, inclusive en dolor neuropático. Este estudio evaluó el efecto antinociceptivo de rosuvastatina versus duloxetina, en un modelo de dolor neuropático inducido por paclitaxel en ratones. La administración de paclitaxel (2mg/kg, i.p. por 5 días consecutivos) produjo alodinia mecánica (Test de von Frey electrónico), alodinia al frío (test de acetona) e hiperalgesia al calor (test de hot plate), a partir del día 10, 7 y 3 respectivamente, siendo significativa hasta día 21, último día medido. El tratamiento con rosuvastatina (1, 3, 10, 30, y 100 mg/kg, i.p. por 7 días consecutivos), inyectada 10 días post-inicio de la administración de paclitaxel, disminuyó de modo dosis dependiente la nocicepción mecánica, al calor y frío; con ED50 de 8.69 ± 1.05 y 32.49 ± 5.12, para las dos primeras. Duloxetina (1, 3, 10 y 30 mg/kg, i.p. por 7 días consecutivos), disminuyó la nocicepción mecánica, al calor y al frío, con ED50 de 4.27 ± 0.70 y 14.46 ± 3.39, para las dos primeras. El efecto, de ambos fármacos, se observó a partir del día 3. Rosuvastatina presentó una mayor duración respecto a duloxetina en cuanto la alodinia mecánica y al frío. Estos datos posicionan a rosuvastatina como un fármaco alternativo para el tratamiento de la neuropatía inducida por quimioterapéutico, ya que disminuye la nocicepción mecánica, al frío y al calor en un modelo preclínico de dolor neuropático inducido por paclitaxel.

Area de la Farmacología: Farmacología del dolor
Dirección de Correo: nicolasloboszambrano@gmail.com
Agradecimientos: Financiado por Beca Conicyt N°211-50580, Dicyt N°021-543CC y CEDENA FB0807
Socio Patrocinante: Dr. Alejandro Hernández

53- INTERACCIÓN FARMACOLÓGICA DE MINOCICLINA CON GABAPENTINA EN RATONES NEUROPÁTICOS DIABÉTICOS. Minocycline drug interaction with gabapentin in neuropathic diabetic mice.

Poblete, P.1,2., Miranda, H.F.1,2., Noriega, V.1,2.

1.Laboratorio Estudio de Dolor, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2.Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello.

Resumen: El dolor es una sensación emocional desagradable concentrándose en alguna parte del cuerpo, considerándose destructivo para los tejidos, además de reacciones emocionales o corporales, la cual se busca eludir o suprimir esta sensación. Dentro de los tipos de dolor se considera el más frecuente el dolor neuropático. Éste es causado por disfunción del sistema nervioso central o periférico, producto de diversos factores, dentro de los cuales encontramos las hiperglicemias generadas por la diabetes mellitus. Hoy en día no se ha encontrado un tratamiento farmacológico óptimo para el tratamiento de la neuropatía diabética, los antidepresivos, anticonvulsivantes y opioides son los tratamientos actuales, pero no lo son del todo efectivos. Es por ello que siempre se está en una búsqueda constante de una farmacoterapia efectiva. Objetivo general: Evaluar la interacción farmacológica de gabapentina con minociclina en ratones neuropáticos diabéticos inducidos con estreptozocina (STZ). Metodología: Estudio experimental donde se busca evaluar la efectividad de la combinación de minociclina y gabapentina en neuropatía diabética inducida con estreptozocina (STZ), mediante el test de contorsiones abdominales a 3 y 7 días luego de la administración de STZ. Se utiliza la metodología de análisis isoblográfico. Resultados: La interacción farmacológica entre la gabapentina y minociclina teórico es 0.142, al tercer día es 0.062 y al séptimo día es 0.055. Los resultados indican una interacción supraaditiva, en el modelo animal de neuropatía diabética.

Area de la Farmacología: Farmacología del dolor
Dirección de Correo: paula.poblete.g@gmail.com
Socio Patrocinante: Dra. Viviana Noriega Sepúlveda.

54- EFECTO DE MINOCICLINA Y GABAPENTINA EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE RATONES NEUROPÁTICOS DIABÉTICOS. Effect of minocycline and gabapentin in an experimental model of neuropathic diabetic mice.

Jorquera, V.1; Noriega, V.1; Miranda, H.F.1

Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello.

El dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial. Existen diversos tipos de dolores, siendo uno de los más estudiados el dolor neuropático, asociado este a la neurodegeneración en pacientes diabéticos, con una baja respuesta al tratamiento farmacológico actual. El objetivo de este trabajo fue determinar la interacción de la coadministración de gabapentina y minociclina, por vía intraperitoneal, en ratones neuropáticos diabéticos. Metodología: se utilizaron ratones machos CF-1, pesaron entre 25 y 27 gramos y se mantuvieron en ciclo de 12 horas luz/oscuridad, con libre acceso a agua y alimentación, se les administró 200 mg/kg de estreptozocina (ETZ) en una sola dosis y fueron evaluados en los días 3 y 7 utilizando el test algesiométrico de la plancha caliente.

Conclusión: El presente estudio demostró que la coadministración de gabapentina con minociclina genera una interacción analgésica de tipo sinérgica o supra-aditiva con una significativa reducción del comportamiento nociceptivo, tanto a los 3 como a los 7 días, después de la administración de ETZ. La dosis efectiva experimental de la mezcla fue aproximadamente 9 veces menor que la correspondiente dosis teórica, la mezcla de gabapentina y minociclina podría constituir una alternativa terapéutica para los pacientes con neuropatía diabética.

Area de la Farmacología: Farmacología del dolor
Dirección de Correo: valeryt1104@hotmail.com
Socio Patrocinante: Dra. Viviana Noriega Sepúlveda.

55- POSIBLE ROL DE LA FLUIDEZ DE MEMBRANA EN LA MODULACIÓN DE LA NEUROTOXICIDAD INDUCIDA POR EL PÉPTIDO BETA AMILOIDE. Possible role of membrane fluidity in the modulation of neurotoxicity of alzheimer's amyloid beta peptide.

Fernández-Pérez, E.J.1; Sepúlveda, F.J.1; Bascuñan, D.A.1; Peoples R.W.2; Aguayo, L.G.1

1Laboratorio de Neurofisiología, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. 2Department of Biomedical Sciences, Marquette University, USA.

The beta-amyloid peptide (A β), crucially involved in Alzheimer's Disease (AD), has been described to have the ability to associate and aggregate on the cell surface, disrupting the plasma membrane through the formation of pores and membrane breakage (1). However, the molecular determinants involved in this interaction, as well as the role played by the physicochemical properties of the cell membrane, are largely unknown. Since cholesterol is an important molecule for membrane integrity (2), we examined the effect of varying cholesterol content with the association and subsequent perforation of the plasma membrane by A β in hippocampal neurons. Using primary cultures of rat hippocampal neurons as the cellular model and methyl- β -cyclodextrin (M β CD) as the main molecular tool to increase or decrease the levels of cholesterol in the cellular membrane, we combined 3 techniques to accomplish our goal: generalized polarization (GP) imaging to measure membrane fluidity, electrophysiology to evaluate cell membrane disruption and confocal microscopy coupled to immunocytochemistry to quantify the association of fluorescent labeled A β to neurons. The results showed that cholesterol removal produced an increase in membrane fluidity (increased water content) and facilitated membrane perforation by A β with respect to control cells. Interestingly, under this condition, a decrease in the association of A β to the neuronal membrane was observed. On the contrary, increasing cholesterol levels, which is known to increase membrane rigidity, enhanced the association and clustering of the peptide with the membrane, but inhibited membrane disruption. In conclusion, our results strongly suggest the importance of plasma membrane organization in the toxic effects of A β in hippocampal neurons, since fluidity can regulate the distribution and insertion of the A β peptide in the membrane.

Area de la Farmacología: Fisiología

Dirección de Correo: edfernandez@udec.cl

Agradecimientos: For Financial Support: Fondecyt 114-0473 (L.G.A.), Fondecyt 114-0454 (S.A.S.) and Beca Conicyt de Doctorado (E.J.F). For Technical Support: Centro de Microscopía Avanzada del Bío-Bío (PIA ECM12).

Socio Patrocinante: Dr. Luis Aguayo

56- REDUCCIÓN DE LA CAPACIDAD DE POTENCIACIÓN EN SINÁPSIS GLUTAMATÉRGICAS DEL HIPOCAMPO EN RATAS EPILEPTICAS. Reduction of the potentiation rate in glutamatergic synapses of hippocampus from epileptic rats.

Martorell, A.; Morales, J.; Bonansco, C.

Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile.

En la mayoría de las formas de epilepsia se produce un desbalance de la neurotransmisión excitatoria/inhibitoria, acompañada de la activación sincrónica en una población neuronal dada. La progresión de la epilepsia requiere de la potenciación dependiente de actividad de la transmisión glutamatérgica, similares a los descritos en formas convencionales de potenciación/depresión a largo plazo (LTP/LTD). Aunque existen algunos estudios sobre la expresión de LTP en modelos de epilepsia, se desconoce si el estado epiléptico interfiere en la capacidad de expresar LTP en ratas adultas. Utilizando registros electrofisiológicos extracelulares (fEPSP) y de patch clamp (EPSC) en la región de CA1 de rebanadas de hipocampo, comparamos la tasa de potenciación de ratas adultas kindleadas y control. La estimulación a alta frecuencia (HFS) de las colaterales de Schaffer, generó una potenciación de las fEPSP de menor magnitud en ratas kindleadas que en controles. De similar manera, la aplicación del protocolo de estimulación a ritmo theta (TBS) produjo un menor incremento de los EPSC en el grupo kindling respecto del control. En ambos grupos, no se observaron cambios del índice de facilitación por pulsos pareados (PPF) respecto a la condición basal, sugiriendo que la potenciación se origina post-sinápticamente. Interesantemente, la aplicación de un segundo TBS después de 30 min de potenciación no indujo cambios significativos en curso temporal de la LTP del grupo kindling, mientras que en el grupo control se indujo una robusta potenciación. Estos resultados sugieren que en ratas epilépticas la plasticidad glutamatérgica está disminuida, posiblemente por un estado de saturación o de depotenciación de la eficacia sináptica promovido durante la progresión de la epilepsia.

Area de la Farmacología: Fisiología

Dirección de Correo: andres.martorellh@gmail.com

Agradecimientos: FONDECYT 113-0491 (CB), DIPUV (CNPC) CID 1/2006

Socio Patrocinante: Dr. Ramón Sotomayor-Zárate

57- EFECTO DEL ENDOCANABINOIDE ANANDAMIDA DURANTE LA LACTANCIA SOBRE LA EXPRESIÓN Y CAPACIDAD DE UNIÓN DEL RECEPTOR CANABINOIDE TIPO 1 HIPOTALÁMICO EN RATONES LACTANTES Y ADULTOS. Effect of the endocannabinoid anandamide during lactation on the expression and binding

capacity of hypothalamic type 1 cannabinoid receptor of lactating and adult mice.

Aguirre, C.A.1; Castillo, V.A.2; Llanos, M.N.2

1Carrera Nutrición y Dietética, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago Chile; 2Laboratorio de Nutrición y Regulación Metabólica. Unidad de Nutrición Humana. INTA. Universidad de Chile. Santiago, Chile.

La hiperactivación del sistema Endocanabinoide (SEC) está asociada a sobrepeso/obesidad. Previamente demostramos que la administración de anandamida (AEA) durante la lactancia genera sobrepeso, acumulación de grasa corporal y resistencia a insulina en el ratón adulto. El presente estudio pretende dilucidar si estos efectos están asociados a una mayor ingesta de alimentos, estimulada por una mayor expresión y capacidad de unión del receptor canabinoide tipo 1 (RCB1) hipotalámico. Para esto, ratones de la cepa CD-1 fueron tratados oralmente durante la lactancia con 20 µg de AEA/g de peso corporal. A los 21 y 160 días se evaluó la expresión del RCB1 mediante RT-PCR y Western Blot (WB), y la capacidad de membranas hipotalámicas para unir ³[H]-CP55.940, radioligando de RCB1. Cuando adultos, los animales fueron nuevamente tratados con AEA para evaluar la ingesta alimentaria aguda durante 4 horas. Los resultados del RT-PCR no evidencian cambios de expresión de RCB1, en tanto los WB indican que los ratones tratados con AEA muestran un aumento de 72% (p=0.0021) en la presencia de RCB1 hipotalámico en relación a los controles solo a los 21 días, no habiendo variaciones en el ratón adulto. Adicionalmente, la capacidad de unión específica del RCB1 hipotalámico, tanto a los 21 como a los 160 días de edad, fue significativamente menor en los ratones tratados con AEA. No hubo diferencias significativas en la ingesta bajo estimulación con AEA en la adultez. Los resultados sugieren que las alteraciones metabólicas en el ratón adulto, generadas por la administración de AEA durante la lactancia no están asociadas a la actividad de RCB1 hipotalámicos, sino más bien a RCB1 en tejido adiposo, como lo demostramos previamente.

Area de la Farmacología: Fisiología

Dirección de Correo: caguirrep@uc.cl

Agradecimientos: Financiado por Proyecto FONDECYT N°113-0106.

58- DIFERENCIAS EN LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE GLUCOSA Y TRIGLICÉRIDOS ENTRE RATONES MACHOS Y HEMBRAS CON HÍGADO GRASO EXPERIMENTAL. Differences in plasmatic concentrations of glucose and triglycerides between males and females mice with experimental fatty liver.

López-Ortega, A.A.1; Aranguren, A.J.1; Márquez, Y.C.1; Plaza, M.A.2; Murillo, M.D.2

1Unidad Investigación Cs Funcionales Dr. H. Moussatché, Decanato de Ciencias Veterinarias, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela. 2Departamento de Farmacología y Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, España;

El hígado graso (HG) no alcohólico (HGNA) es una patología importante en medicina humana y veterinaria, relacionada con estrés oxidativo hepático. El hígado es una fuente continua de energía, regulada por factores hormonales y nerviosos que modifican el metabolismo de carbohidratos y lípidos. El objetivo del presente estudio fue determinar las modificaciones plasmáticas de la glucosa y de los triglicéridos (TG) en el HGNA inducido por DL-etionina, en ratones NMRI machos y hembras. Se formaron dos grupos de cada sexo de 10 animales: uno control y otro tratado con DL-etionina i.p. (7,5 mg/20 g de peso corporal). El HG se evaluó por métodos histológicos y por la concentración de TG hepáticos, ambos corroboraron la hepatoesteatosis en los ratones de ambos sexos inyectados con DL-etionina. Los resultados se expresaron como la media \pm ES y su significación se determinó mediante la prueba "t" de Student ($P < 0,05$). La inducción de HG por acción de la DL-etionina afectó a los parámetros plasmáticos estudiados de forma distinta según el sexo. En las hembras se observó que los TG disminuyeron de forma significativa de 67,92 \pm 3,76 mg/dL a 54,72 \pm 2,55 mg/dL ($P < 0,01$), que está de acuerdo con la aumentada glicemia que presentaron (de 42,28 \pm 2,37 mg/dL a 49,99 \pm 1,79 mg/dL; $P < 0,05$); tales efectos se deberían a la resistencia a la insulina y disminuida secreción hepática de VLDL. En los machos no se modificó el nivel de TG circulantes (46,50 \pm 2,86 mg/dL) lo que respondería a la glicemia normal que mostraron (79,60 \pm 3,83 mg/dL). Las diferencias observadas entre machos y hembras con HGNA podrían atribuirse a la influencia de las hormonas sexuales. Palabras clave: Hígado graso, etionina, estrés oxidativo, glucosa, triglicéridos

Area de la Farmacología: Fisiología

Dirección de Correo: alopez@ucla.edu.ve

Agradecimientos: Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA, Venezuela), por el financiamiento otorgado a este estudio.

59- CARACTERIZACIÓN FARMACOLÓGICA DE LA SEÑALIZACIÓN PURINÉRGICA ASOCIADA A P2Y2 EN CÉLULAS AGS DE CÁNCER GÁSTRICO A TRAVÉS DE VARIACIONES TRANSITORIAS DE CALCIO INTRACELULAR. Pharmacological evaluation of the purinergic signaling mediated by the P2Y2 receptor in the gastric cancer-derived cell line AGS by transient fluctuations of intracellular calcium.

Castro, P.A., Hevia, M.J., De la Fuente, E., y Coddou, C.

Laboratorio de Señalización Purinérgica, Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile.

El cáncer gástrico (CG) corresponde a la principal causa de muerte en Chile asociada a neoplasias malignas convirtiéndose en prioridad de salud pública. Factores ambientales como *Helicobacter pylori*, además factores genéticos como VEGF, HER2, (HGF)/c-Met y EGFR se han asociado al desarrollo de CG. Un estudio reciente mostró que el receptor purinérgico P2Y2 está sobre-expresado en pacientes Chilenos con CG. Los receptores purinérgicos se dividen en P2X y P2Y, los que corresponden a receptores ionotrópicos y metabotrópicos respectivamente. Por

esto, nos propusimos estudiar las vías de señalización purinérgica en la línea celular AGS, derivada de un adenocarcinoma gástrico (células), mediante el monitoreo de fluctuaciones transitorias de calcio intracelular ($[Ca^{2+}]_i$) a través de microscopia confocal y con un multilector de placas asociado a fluorescencia. Nuestros resultados indican en concordancia a lo publicado recientemente, que la activación de la señalización purinérgica utilizando MRS2768, un agonista específico del receptor P2Y2 genera incrementos de $[Ca^{2+}]_i$ similar a lo observado al utilizar ATP, agonista general purinérgico; y UTP, agonista de P2Y2 y P2Y4 respectivamente. Además el aumento de $[Ca^{2+}]_i$ inducido por UTP es revertido por los antagonistas suramina y AR-C118925XX. Adicionalmente, utilizamos agonistas en ausencia de Ca^{2+} extracelular, observando una respuesta similar a la observada en presencia de Ca^{2+} , indicando que el incremento de $[Ca^{2+}]_i$ se debería a liberación intracelular Ca^{2+} . Luego, utilizando agonistas de receptores de P2X, alfa,beta-meATP y BzATP no se observaron incrementos detectables de las señales de $[Ca^{2+}]_i$, confirmando la participación principal de receptores P2Y2. Lo anterior señala que existe un perfil específico de expresión funcional diferencial de receptores asociados a la señalización purinérgica en CG, abriéndose un interesante blanco terapéutico para combatir esta patología.

Area de la Farmacología: Farmacología gastrointestinal

Dirección de Correo: patricio.castro@ucn.cl

Agradecimientos: FONDECYT 116-1490; FONDEQUIP EQM 140100

60- PLASTICIDAD NEURONAL EN PLEXO SUB MUCOSO DE COLON EN RATAS CON PERMEABILIDAD INTESTINAL AUMENTADA. Neuronal plasticity in colon submucosal plexus from rats with increased gut permeability.

Díaz-Zepeda, C.1; González-González, M.1; González-Arancibia, C.1; Bravo, J.A.1; Julio-Pieper, M.1

1Grupo de Neurogastrobioquímica, Instituto de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

El intestino está constantemente expuesto a sustancias potencialmente peligrosas para el organismo. Por eso posee una barrera semipermeable que impide el traspaso de moléculas indeseadas desde el lumen hacia la circulación. Uno de los factores que regula la integridad de la barrera intestinal es el sistema nervioso entérico (SNE), dividido en los plexos submucoso y mientérico. Trastornos del sistema gastrointestinal donde la permeabilidad intestinal está alterada como en enfermedades inflamatorias intestinales, existen cambios en la plasticidad del SNE, es decir, cambios morfológicos, electrofisiológicos o de código químico, lo que hace de éste un potencial blanco farmacológico. Hay escasos reportes sobre el plexo submucoso, en especial del colon. Nuestro grupo desarrolló un modelo animal con permeabilidad intestinal alterada mediante la administración de una dieta baja en proteínas (BP). Nuestro objetivo es estudiar si en este modelo animal, existen cambios en la plasticidad del plexo submucoso y la temporalidad de estos cambios. Para ello, a ratas de 40 días sometidas a dieta BP durante 10 y 20 días respectivamente se les disectó el plexo submucoso del colon y se realizaron estudios morfológicos de estas neuronas mediante inmunohistoquímica (IHQ) utilizando PGP9.5 como marcador

neuronal. Preliminarmente no hay variación en las proyecciones y número total de neuronas por ganglio en ratas BP, pero se encontró que existe una interacción entre la dieta y la edad de las ratas en el número de ganglios por mm². Como proyección se agregará un grupo experimental sometido a 5 días de dieta BP y se evaluará el código químico de las neuronas de todos los grupos poniendo énfasis en VIP, que posee relevancia en la regulación de la inflamación a nivel local.

Area de la Farmacología: Farmacología gastrointestinal

Dirección de Correo: Milo.diaz92@gmail.com

Agradecimientos: Proyecto PUCV DI 125.709/2016

Socio Patrocinante: Dra. Marcela Julio Pieper

61- EL ESTRÉS EN ESTAPAS TEMPRANA DE LA VIDA PROMUEVE ALTERACIONES EN LA PERMEABILIDAD INTESTINAL EN RATAS JUVENILES. Early-life stress promotes alterations in intestinal permeability in juvenile rats.

Astudillo-Guerrero, C.1; Eyzaguirre-Velásquez, J.1; Barrera-Bugueño, C.1; Escobar-Luna, J.1; Gotteland, M.2; Julio-Pieper, M.1; Bravo, J.A.1

1Grupo Neurogastrobioquímica, Instituto de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile. 2Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

La separación materna (SM) en roedores es un modelo utilizado para el estudio del estrés en edades tempranas. Muchos de los efectos de la SM en roedores han sido caracterizados en animales adultos, mas no en etapas juveniles. Dado esto, resulta interesante evaluar los efectos de la SM en ratas juveniles a nivel de la función barrera intestinal, por ser esta edad una etapa crítica en la que se puede intervenir terapéuticamente, con el fin de evitar trastornos funcionales a futuro. Ratas Sprague-Dawley fueron sometidas a SM durante 10 días, a partir del día postnatal 2 (p2), por 3 h/día. Al día p35 se realizaron ensayos funcionales de permeabilidad en colon, determinándose la resistencia eléctrica transepitelial (TEER), y el paso de FITC-Dextrano de 4 kDa (FD4). Además, a un grupo de ratas expuestas a SM y controles, se les realizó un estrés agudo para evaluar el efecto de este sobre los mismos parámetros. El peso corporal de las ratas SM fue mayor que ratas control a P35. El paso de FD4 a través del epitelio intestinal fue mayor en ratas SM que controles, y este efecto se revirtió cuando los animales SM se sometieron a estrés agudo. Con respecto al TEER, no se encontraron diferencias entre los distintos grupos. El estrés temprano en la vida afecta la permeabilidad intestinal, esto es solo observable para el paso de macromoléculas. Esto sugiere que la SM afecta algún mecanismo asociado a transporte transepitelial y, además, este mecanismo es sensible a estrés. En conjunto estos datos sugieren que las alteraciones en la permeabilidad intestinal son observables en individuos jóvenes.

Area de la Farmacología: Farmacología gastrointestinal

Dirección de Correo: camila.astudillo.g@gmail.com

Agradecimientos: FONDECYT #114-0776

Socio Patrocinante: Dr. Javier A. Bravo Vivallo

62- CAPACIDAD INHIBITORIA DE LACTOBACILLUS FERMENTUM UCO_979C SOBRE HELICOBACTER PYLORI J99 EN CÉLULAS INTESTINALES HUMANAS CACO-2. Inhibitory capacity of lactobacillus fermentum UCO_979C on helicobacter pylori j99 in human intestinal caco-2 cells.

Alarcón, P.1; Parra, C.2; García, A.2; Zúñiga, F.A.1.

1Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. 2Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

El 95% de las úlceras duodenales son causadas por Helicobacter pylori, la cual se trata con terapia triple (combinación de dos antibióticos más inhibidor de bomba de protones), sin embargo esta terapia presenta efectos adversos. Actualmente, el uso de bacterias probióticas puede ayudar a la adyuvancia, prevención y tratamiento, demostrando que disminuyen efectos adversos y mejoran la tasa de erradicación de este microorganismo El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de Lactobacillus fermentum UCO_979C y su lisado sobre alteraciones inducidas por H. pylori en células intestinales humanas Caco-2. Para determinar el efecto sobre la proliferación celular, células CACO-2 fueron sembradas en placas de 96 pocillos en medio DMEM e infectadas por 24 horas con concentraciones crecientes de H. pylori J99 y se determino la viabilidad mediante kit de XTT. Además, se evaluó el efecto de L. fermentum UCO_979C y su lisado, frente a la infección con H. pylori. Finalmente, se determinó el efecto de H. pylori sobre la función de barrera celular midiendo la resistencia eléctrica transepitelial (TEER). Los resultados muestran que H. pylori estimula la proliferación celular a las 72 horas de cultivo y que L. fermentum UCO_979C, o su lisado celular administrado de manera curativa, fueron capaces de inhibir este efecto. Por otro lado, se observó que H. pylori afecta la integridad de membrana disminuyendo el valor de TEER, efecto que se ve inhibido cuando se administra la cepa UCO_979C. Se concluye que Lactobacillus fermentum UCO_979C y sus lisado pueden ser un buen candidato para el tratamiento de H. pylori causante de úlcera duodenal.

Area de la Farmacología: Farmacología gastrointestinal

Dirección de Correo: fzuniga@udec.cl

Agradecimientos: Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología.

Socio Patrocinante: Dr. Felipe Andres Zúñiga Arbalti

63- EFECTO DE LACTOBACILLUS RHAMNOSUS (GG) SOBRE CONDUCTAS DE ANSIEDAD EN RATAS PRE-EXPUESAS A ALCOHOL DURANTE LA ADOLESCENCIA. Effects of Lactobacillus rhamnosus (GG) on anxiety-like responses after adolescent binge-like ethanol exposure.

Adriasola-Carrasco, A.A.1; Cortés-Toledo, G.1; Arévalo-Romero, C.1; Flores-Bastias, O.1; Barreto, M.N.1.; Cañadas, F.2; Cardona, D.2; Carvajal, F.1; Lerma-Cabrera, J.M.1

1Instituto Ciencias Biomédica (CIB), Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, Chile. 2Departamento de Neurociencias y Ciencias de la Salud. Universidad de Almería. España.

El alcohol es una sustancia omnipresente en la sociedad implicado en pérdidas sociales y económicas importantes. Según la OMS (2014), el consumo excesivo de alcohol a temprana edad es un importante problema de salud pública. Los jóvenes exhiben un patrón de consumo caracterizado por la ingesta de cantidades elevadas de alcohol en cortos intervalos de tiempo, principalmente en momentos de ocio y fin de semana, con aparición de periodos de abstinencia entre estos episodios de consumo. Este patrón conocido “binge-drinking” (BD) (NIAA, 2015) provoca una mayor ansiedad y consumo de alcohol en la edad adulta. Estos efectos podrían estar mediados por los cambios producidos en el sistema de melanocortinas (Lerma-Cabrera y Carvajal et al., 2013). Recientemente, se ha demostrado que los probióticos mejoran la memoria y la ansiedad en animales estresados crónicamente, además de regular la expresión de alfa-MSH. En el presente trabajo se evaluó los efectos del consumo en dieta de *Lactobacillus rhamnosus* (LR) sobre la ansiedad medida mediante el Laberinto en cruz elevado (LEC) en ratas adultas Sprague-Dawley pre-expuestas (BEP) y no pre-expuestas (SP) a alcohol tipo atracción durante la adolescencia. Los resultados obtenidos mostraron que el grupo BEP exhibió mayor ansiedad en las conductas de estiramiento, exploración y acicalamiento que el grupo SP. Respecto a los parámetros clásicos del LEC no se obtuvo ningún resultado significativo. Los ensayos moleculares mostraron una mayor presencia de LR en ambos grupos, pero este hecho no tuvo un impacto sobre los niveles de ansiedad. Se necesitan más estudios para evaluar la capacidad del LR para modular los efectos de la pre-exposición adolescente a alcohol sobre la ansiedad y su relación con el sistema de melanocortinas.

Area de la Farmacología: Farmacología gastrointestinal

Dirección de Correo: alfredo.aac@gmail.com

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado CONICYT Fondecyt (114-0284 y 115-0308) y PIA (ACT 1411).

64- NANOPARTÍCULAS A BASE DE QUITOSANO: EVALUACIÓN DE CITOTOXICIDAD CELULAR *IN VITRO* Y PASO A TRAVÉS DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA (BHE). Chitosan nanoparticles: Evaluation celular cytotoxicity *in vitro* and passing through the Blood-Brain barrier (BBB).

Castillo, E.V.1; Villagra, J.A.1; von Plessing, C.1

Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Casilla 160-C, Universidad de Concepción, Chile.

El desarrollo de nanopartículas (NPs) es una alternativa de transporte de neuropéptidos y fármacos. Este tipo de carrier puede ser usado como vehículo con el objetivo de aumentar la biodisponibilidad de moléculas con efecto farmacológico en el sistema nervioso central, aumentar la selectividad por un blanco y disminuir la toxicidad de una gran variedad de fármacos. El quitosano es uno de los biopolímeros más estudiados para el desarrollo de sistemas nanoparticulados debido a su carácter catiónico, a sus propiedades gelificantes y filmogénicas, constituye un vehículo para la encapsulación de fármacos, protegiéndolos y liberándolos de forma controlada, además de promover su absorción a través del epitelio. Los modelos celulares *in vitro* juegan un papel importante en la comprensión de eventos celulares relacionados con las condiciones fisiológicas en los seres humanos. A partir de ellos es posible evaluar la accesibilidad,

homogeneidad de la población celular, la reproducibilidad y la tasa de crecimiento celular que pueden ser afectados debido a la incorporación de agentes externos en nuestro organismo, como es el caso de las NPs de quitosano, su utilización nos ayuda a descubrir ciertos mecanismos moleculares asociados a la interacción de las células con agentes externos. El objetivo de esta investigación fue evaluar la citotoxicidad celular de NPs de quitosano utilizando como modelo celular de células CaCo-2 y a su vez, evaluar el traspaso de estas NPs a través de la BHE mediante un estudio en modelo murino, en el cual fueron analizados cortes histológicos del cerebro de ratas Wistar en donde fueron apreciadas las NPs.

Area de la Farmacología: Tecnología farmacológica

Dirección de Correo: ecastillo@udec.cl

Agradecimientos: Innova Chile CORFO Project N° 11IDL2-10437

Socio Patrocinante: Dr. Carlos von Plessing

65- FORMULACIÓN DE MATRICES BIOPOLIMÉRICAS EN BASE A ALGINATO Y SUS INTERACCIONES CON ADITIVOS PLASTIFICANTES Y GELIFICANTES. Formulation of biopolymeric scaffolds made with alginate and their interactions with plasticizer and gelling agents.

Acevedo, C.1,2; Sánchez, E.1; Weinstein-Oppenheimer, C.3; Brown, D.I.4; Olguín, Y.5; Enrione, J.6

1Centro de Biotecnología, Universidad Técnica Federico Santa María. 2Departamento de Física, Universidad Técnica Federico Santa María. 3Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso. 4Laboratorio de Biología de la Reproducción y del Desarrollo, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. 5Center for Integrative Medicine and Innovative Science, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello. 6Biopolymer Research and Engineering Lab (BiopREL), Universidad de Los Andes.

El alginato es un biopolímero usado ampliamente en la industria farmacéutica, cosmética y de alimentos. Esto debido a que posee alta capacidad espesante y puede formar hidrogeles. Además, en el comercio existen varias matrices del tipo apósitos para heridas basados en alginato. En este estudio, se desarrollaron matrices biopoliméricas usando como compuesto mayoritario el alginato de sodio y la adición de aditivos plastificantes y gelificantes. Las matrices fueron obtenidas usando liofilización y caracterizadas con microscopía electrónica de barrido. No obstante, las etapas críticas previas al liofilizado, como la mezcla con aditivos y su congelación, fueron estudiadas evaluando el potencial Z y la depresión del punto crioscópico. Mediante el uso de diseño experimental factorial, se investigó el efecto de los aditivos sobre las propiedades fisicoquímicas de las mezclas de alginato. Los resultados de potencial Z muestran que el alginato de sodio puede interactuar con aditivos de naturaleza catiónica, como la gelatina tipo A, indicando la posibilidad de obtener mezclas estables. El punto crioscópico, el que fue evaluado usando calorimetría diferencial de barrido, presentó una apreciable depresión asociada a la interacción de agentes gelificantes y plastificantes, como la agarosa y el glicerol, respectivamente. Los análisis de microestructura realizados con microscopía electrónica, muestran que la adición de agentes plastificantes como glicerol o

sorbitol mejoran la porosidad del material liofilizado. La adición de agentes gelificantes como la agarosa afectan la morfología de la microestructura aumentando la irregularidad del material obtenido. Como conclusión, se puede afirmar que las propiedades de la matriz biopolimérica son fuertemente influenciadas por su interacción con aditivos. En específico, la incorporación de moléculas plastificantes y gelificantes modifican notablemente la matriz, aumentando el espectro de posibles usos.

Area de la Farmacología: Tecnología farmacológica

Dirección de Correo: cristian.acevedo@usm.cl

Agradecimientos: Agradecimientos al Proyecto Fondecyt 116-0311

Socio Patrocinante: Dra. Caroline Weinstein

66- EFECTO DE ITRACONAZOL EN LA CAPACIDAD DE MIGRACIÓN Y FORMACIÓN DE COLONIAS EN CELULAS DE CARCINOMA ESPINOCELULAR DE LENGUA. Effect of itraconazole on the capacity of migration and colony formation of tongue squamous cell carcinoma.

Peñailillo C.A.1; Rodríguez, C.1; Molina-Berrios, A.1; Jara, J.A.1

Laboratorio de Farmacología, ICOD, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

El Carcinoma espinocelular oral es una neoplasia maligna de etiología multifactorial. Se ha descrito en la literatura que Itraconazol ejerce una actividad antiangiogénica y antitumoral, inhibiendo la vía mTOR mediante la inhibición del canal aniónico dependiente de voltaje (VDAC). Estos antecedentes sugieren evaluación de este agente antifúngico como un nuevo posible fármaco para el tratamiento del carcinoma espinocelular (CEC) de lengua. El objetivo del trabajo fue determinar la concentración efectiva 50 (EC50) de Itraconazol en células de carcinoma espinocelular de lengua (CAL 27) mediante la técnica de MTT. Además, determinar efecto de Itraconazol en capacidad de migración a través del método de la herida y la formación de colonias de las células CAL 27 mediante un ensayo clonogénico. Se determinó también la selectividad de Itraconazol mediante la comparación del EC50 obtenido mediante MTT en queratinocitos orales. Los resultados obtenidos muestran un EC50 para Itraconazol de 3,3 microMolar a las 48 y 72 horas para células Cal 27. En el método de la herida se observa una inhibición en la migración de las células al compararla con el grupo control. En el ensayo de las colonias se observa una disminución en el número de estas a ambas concentraciones. Los resultados muestran un efecto citotóxico potente en Cal 27, una línea celular resistente a cisplatino. Además, Itraconazol mostró un efecto inhibitorio en la capacidad de migración y un menor número de colonias en relación al grupo control, lo que nos lleva a pensar en un efecto antiproliferativo sobre CAL27. Se requieren más experimentos para determinar el mecanismo de acción por el cuál Itraconazol ejerce su efecto, además de la realización de ensayos in vivo.

Area de la Farmacología: Farmacología Odontológica

Dirección de Correo: constanza.penailillo@ug.uchile.cl

Socio Patrocinante: Dr. José Antonio Jara Sandoval

67- CARACTERIZACIÓN DE SUSCEPTIBILIDAD FRENTE A FLUCONAZOL Y CASPOFUNGINA EN CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS DE PACIENTES CON ESTOMATITIS PROTÉSICA. Characterization of susceptibility to fluconazole and caspofungin of *Candida albicans* strains isolated from patients with denture stomatitis.

Parodi, D.1; Delgadillo, D.1; Suárez, N.1; Duarte, L.F.1; Jara, J.A.1; Fernández-Ramires, R.2, Molina-Berrios, A.1

1Laboratorio de Farmacología, Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

Introducción. La estomatitis subprotésica es la inflamación de la mucosa de soporte en pacientes portadores de prótesis parcial removible, afectando principalmente a población de tercera edad. Una de las principales causas es infección por *Candida albicans*, la cual coloniza mucosas y el aparato protésico formando una capa de biofilm. Si bien se estima que la tasa de resistencia es baja, en Chile existen escasos estudios que evalúen la susceptibilidad en aislados clínicos en este tipo de pacientes. Objetivo. Determinar CIM de fluconazol y caspofungina en cepas de *Candida albicans*, aisladas desde pacientes con estomatitis subprotésica. Clasificar las cepas en sensibles y resistentes. Metodología. Se aislaron 10 cepas de *Candida albicans* desde pacientes con estomatitis subprotésica en la Clínica Odontológica de la Universidad de Chile. Para determinar CIM se cultivaron 100 μ l de un inóculo de 1×10^5 células en placas de 96 pocillos con RPMI 1640 suplementado con antibióticos y fluconazol o caspofungina en concentraciones decrecientes. Luego se analizaron a las 24 horas y 48 horas en lector de placa. Resultados. De las 10 cepas estudiadas, se encontraron 3 cepas resistentes y 7 susceptibles a fluconazol de acuerdo a los estándares CLSI. Todas las cepas fueron susceptibles a caspofungina. Conclusión. Estos resultados indican que existen cepas de *C. albicans* con CIM altas para uno de los antifúngicos más utilizados. Ya que la estomatitis protésica es una de las enfermedades de la mucosa oral más frecuente en adultos mayores portadores de prótesis, se requieren más estudios de resistencia a antifúngicos para orientar de mejor manera las terapias actuales.

Area de la Farmacología: Farmacología Odontológica

Dirección de Correo: daniela.parodi@ug.uchile.cl

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT de Iniciación N°111-40227 (CONICYT), UINICIA-2014-82383 y URED-2014-007 de la Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Chile. Las cepas de *Candida spp.* fueron cordialmente donadas por la Dra. Ximena Lee y Profesora Leyla Gómez, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

Socio Patrocinante: Dr. Alfredo Molina Berrios

68- ROL DE LA VASOPRESINA EN EL SEPTUM LATERAL SOBRE EL CONDICIONAMIENTO A ANFETAMINA EN RATAS. Role of vasopressin in the lateral septum over amphetamine-conditioning behavior in rats.

Reyes, A., Méndez, A.M., Bahamondes, C., Cruz, G., Sotomayor-Zárate, R., Renard, G.M.

Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile.

En los últimos años el septum lateral (SL) recobró importancia como núcleo regulador de conductas adictivas. El LS es una estación de relevo que integra información proveniente de diferentes áreas y de esta manera regula varias conductas. En este sentido, nuestro grupo está interesado en estudiar si la neurotransmisión vasopresinérgica en el SL está involucrada en conductas adictivas. El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos de la administración de anfetamina sobre los niveles de vasopresina (AVP) en el SL y si la microinyección de AVP en el SL durante el condicionamiento a anfetamina modula esta conducta. Se utilizaron ratas Sprague Dawley de 60 días de edad. Se realizó un protocolo de preferencia de lugar condicionado de 6 días: un pre-test, 4 días de condicionamiento a anfetamina (1.5 mg/kg i.p.) y un día de test. El tiempo que el animal pasa en el compartimento asociado a la droga luego del condicionamiento se toma como medida del efecto recompensante de la droga. Luego del CPP se midió el contenido de AVP en el SL por ELISA. Otro grupo de animales fue canulado bilateralmente en el SL y previo a la inyección de anfetamina se administró AVP intra-SL durante el condicionamiento. Nuestros resultados mostraron una disminución estadísticamente significativa de AVP en el SL de ratas macho. La administración intra-SL de AVP durante el condicionamiento a anfetamina no produjo ningún cambio en esta conducta. Por lo tanto, el tratamiento con anfetamina podría estar produciendo un aumento en la liberación de AVP en el SL, lo cual produce una reducción del contenido de AVP al finalizar el protocolo.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología
Dirección de Correo: aldoreyes@hotmail.es
Agradecimientos: FONDECYT N° 111-40065 de GMR

69- CAPSACINA MEJORA LA MEMORIA VISUOESPACIAL DE CORTO Y LARGO PLAZO DEPENDIENTE DE LA DOSIS. Capsaicin improves short and long term dose-dependently visuospatial memory.

Burgos, H.1,4; Castillo, A.2,3; Cofré, C.4; Buendía, A.4; Hernández, A.5; Morgan, C.6; Sáez-Briones, P.7; Burgos-Villaseca, J.7,8; Klagges-Troncoso, J.7; Morales, B.9; Zeise, M.L.4; Madrid, R.9

1 Centro de Innovación en Tecnologías de la Información para Aplicaciones Sociales (CITIAPS) Universidad de Santiago de Chile. 2 Escuela de Psicología, Ciencias Sociales, Universidad Santo Tomás. 3 Programa de Postgrado, Doctorado en Psicología, Facultad de Ciencias Sociales, Universidad de Chile. 4 Laboratorio de Biopsicología, Escuela de Psicología, Facultad de Humanidades, Universidad de Santiago de Chile. 5 Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. 6 Unidad de Nutrición Humana, INTA, Universidad de Chile. 7 Laboratorio de Neurofarmacología y Comportamiento, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile. 8 Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Metropolitana de Ciencias de La Educación. 9 Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

El receptor de potencial transitorio vaniloide, tipo 1 (TRPV1) es un canal catiónico no selectivo con alta afinidad al calcio, ampliamente estudiado como activador de neuronas polimodales nociceptivas. Existe presencia de este receptor a nivel central, en estructuras relacionadas a procesos cognitivos como la memoria, donde su función aún no ha sido esclarecida. La mayor parte de los estudios a nivel central, presentan el efecto del agonista capsaicina en dosis agudas, centradas en áreas determinadas del cerebro y troncoencéfalo, con efectos localizados y específicos in vitro. Escasa evidencia muestra el efecto de dosis crónicas administradas en forma sistémica. El estudio aborda el efecto de capsaicina (0,5 y 1,0 mg/kg i.p./ 15 días) en ratones machos de la cepa C57/BL, en el laberinto radial octogonal de Olton 4 x 4, que discrimina tipos de memoria, junto a un grupo KO para TRPV1. Los resultados muestran que capsaicina (1,0 mg/kg) mejora la memoria visuoespacial de corto y largo plazo, en las primeras sesiones y en el total de errores de corto y largo plazo, aunque equipara al grupo control en la administración de dosis repetidas, a diferencia del grupo con capsaicina (0,5 mg/Kg) y el grupo KO, mayores errores que el control. Estos resultados sugieren que la administración crónica de capsaicina, mejora el desempeño visuoespacial del ratón, dependiente de la dosis. Es discutido el papel del TRPV1 en zonas hipocámpales, parietales y frontales que están involucradas en la memoria visuoespacial. Además, el rol de este receptor puede presentar efectos diferentes según la cronicidad, probablemente vinculado a su alta especificidad al calcio, catión que está involucrado en sistemas de neurotransmisión en receptores corticales asociados a procesos cognitivos.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología
Dirección de Correo: hector.burgos@usach.cl
Agradecimientos: Proyecto Anillo ACT-1113. Project PMI USA 1204.
Socio Patrocinante: Dr. Alejandro Hernández Kunzmann

70- LA BROMACIÓN EN C(2) DEL ENTACTÓGENO MDMA (3,4-METILENODIOXIMETANFETAMINA, "ÉXTASIS") AUMENTA LA AFINIDAD POR EL TRANSPORTADOR DE SEROTONINA E INHIBE LA AGREGACIÓN PLAQUETARIA. Bromination at C(2) of the entactogen MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine, "ecstasy") increases affinity at the human serotonin transporter and inhibits platelet aggregation.

Sáez-Briones, P.1,2; Rocha, G.3; Valladares, L.3; Castro-Castillo, V.4; Hernández, A.5; Cassels, B.K.6

1Laboratorio de Neurofarmacología y Comportamiento, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile. 2Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile. 3Laboratorio de Hormonas y Receptores, INTA, Universidad de Chile. 4Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. 5Laboratorio de Neurobiología, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. 6Laboratorio de Química Biodinámica, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La propiedad farmacológica más importante asociada a los efectos

psicotrópicos del entactógeno MDMA (3,4-metilendioximetanfetamina, “Éxtasis”) es su capacidad de unirse y de actuar como sustrato del transportador de serotonina (SERT). Por otro lado, los antidepresivos que sólo poseen afinidad por SERT bloquean la recaptación de serotonina, pero no son capaces de inducir efectos entactogénicos. Si bien se ha propuesto que la capacidad de modular los efectos centrales de MDMA está relacionada directamente con la farmacodinamia de la interacción con el transportador, el desarrollo de análogos de MDMA racionalmente diseñados con características de sustratos y/o inhibidores de SERT es incipiente y controversial. En particular, la halogenación de MDMA en C(2) (2Br-MDMA) tendría efectos deletéreos sobre sus propiedades entactogénicas en modelos conductuales animales, no existiendo datos experimentales de afinidad por SERT. En el presente trabajo, se determinó la afinidad de 2Br-MDMA por SERT midiendo su capacidad para desplazar [3H]-citalopram en plaquetas humanas y se evaluó su capacidad para inhibir la agregación plaquetaria utilizando plasma humano rico en plaquetas en presencia de colágeno (0.5 micro-gramos/ml) como inductor, efecto característico de los inhibidores de SERT. Se observa que 2Br-MDMA posee una mayor afinidad por SERT comparada con MDMA e induce una inhibición rápida, completa y concentración-dependiente de la agregación plaquetaria, a diferencia de MDMA que al actuar como sustrato sólo induce una inhibición parcial. Los resultados obtenidos sugieren que la bromación en C(2) tendría un efecto modulador de las propiedades farmacológicas de MDMA, favoreciendo interacciones con SERT compatibles con la condición de inhibidor por sobre la de sustrato, la cual es requerida para inducir los efectos psicotrópicos característicos de MDMA.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología
Dirección de Correo: patricio.saez@usach.cl
Agradecimientos: Proyecto DICYT-USACH 021401SB

71- TMA-6 (2,4,6-TRIMETOXIANFETAMINA) INHIBE LA POTENCIACIÓN DE LARGO PLAZO (LTP) EVOCADA *IN VIVO* EN CORTEZA PREFRONTAL DE RATAS SPRAGUE DAWLEY. TMA-6 (2,4,6-trimethoxyamphetamine) inhibits long-term potentiation (LTP) evoked in vivo in the prefrontal cortex of Sprague Dawley rats.

Burgos-Villaseca, J.1; Klink, A.1,2; Klagges-Troncoso, J.1,3; Castro-Castillo, V.4; Barra, R.3,5; Burgos, H.6; Hernández, A.7 y Sáez-Briones, P.1,3

1Laboratorio de Neurofarmacología y Comportamiento, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile. 2Studiengang Biophysik, Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt am Main, Alemania. 3Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile. 4Departamento de Química Orgánica y Físico-Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. 5CIBAP, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile. 6Escuela de Psicología, Facultad de Humanidades, Universidad de Santiago de Chile. 7Laboratorio de Neurobiología, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La búsqueda de análogos del entactógeno MDMA (3,4-

metilendioximetanfetamina, “éxtasis”) es de gran relevancia el desarrollo de nuevos fármacos útiles en el tratamiento de enfermedades neuro-psiquiátricas prevalentes. Si bien los efectos centrales descritos para MDMA se diferencian claramente de otros compuestos psicotrópicos, se ha propuesto que el alucinógeno TMA-6 (2,4,6-trimetoxianfetamina) induciría efectos entactogénicos a dosis bajas en seres humanos. Ya que tanto los alucinógenos como los entactógenos afectan los procesos cognitivos de manera diferencial, esto sugiere posibles efectos diferentes respecto de la neuroplasticidad de la corteza frontal. En este trabajo, se comparó los efectos agudos de TMA-6 con alucinógeno referencial DOI (2,5-dimetoxi-4-yodo-anfetamina) y MDMA sobre la inducción in vivo de potenciación de largo plazo (LTP) en la corteza prefrontal. Ratas Sprague-Dawley macho (200-230 g) fueron inoculadas por vía intraperitoneal con dosis únicas de cada droga disueltas en suero fisiológico. 30 minutos después los animales fueron anestesiados (uretano, 1.3 g/kg), intubadas y conectadas a una bomba respiratoria. Posteriormente, se trepanó el cráneo a nivel prefrontal en 2 coordenadas estereotáxicas equidistantes del bregma localizados, lo que permitió posicionar electrodos de estimulación y de registro. La LTP se indujo mediante tetanización (5 trenes de pulsos a 50 Hz, 2 segundos de duración cada tren, aplicados cada 10 s). Los resultados obtenidos indican que TMA-6 (20 mg/kg) previno completamente la LTP prefrontal, mientras que DOI (1 mg/kg) la disminuyó 20 y 30 minutos post-administración. En contraste, MDMA (10 mg/kg) la incrementó significativamente. Estos resultados indican que, a diferencia de la descripción subjetiva de sus efectos in vivo, TMA-6 no poseería características similares a MDMA en lo que se refiere a la LTP prefrontal.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología
Dirección de Correo: jorge.burgos@usach.cl
Agradecimientos: Proyecto DICYT-USACH 021401SB
Socio Patrocinante: Dr. Patricio Sáez Briones

72- EFECTO DE LA REPROGRAMACIÓN NEONATAL CON HORMONAS SEXUALES SOBRE EL CONTENIDO DE NORADRENALINA Y SEROTONINA EN SEPTUM LATERAL DE RATAS ADULTAS. Effect of neonatal reprogramming with sex hormones on noradrenaline and serotonin levels in lateral septum of adult rats.

Véliz, F.1,2; Martínez, J.1; Renard, G.M.2; Sotomayor-Zárate, R.1

1Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, 2Laboratorio de Neurobiología de Conductas Sociales y Adictivas, Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. 2Programa de Magíster en Ciencias mención Neurociencia, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

Se ha demostrado que la reprogramación neonatal con hormonas sexuales produce cambios funcionales a largo plazo en el cerebro. Nuestro laboratorio ha demostrado que la administración de estradiol valerato (EV) al día postnatal 1 (PND1) aumenta el contenido de dopamina (DA) y noradrenalina en sustancia nigra, área tegmental ventral y cuerpo estriado de ratas hembras y machos adultos, alterando las respuestas conductuales a anfetamina. Por otro lado, el septum lateral (SL) es considerado un

núcleo de relevo de información que regula procesos neurofisiológicos como respuestas de estrés y conductas motivadas, que expresa receptores para hormonas sexuales y recibe aferencias monoaminérgicas provenientes del mesencéfalo y tallo cerebral. El objetivo principal de este trabajo fue estudiar el contenido de serotonina (5-HT), noradrenalina (NE), y del metabolito de la 5-HT, el ácido 5-hidroindolacético (5-HIAA) en SL de ratas adultas (PND60) expuestas durante las primeras horas de vida postnatal a EV (0.1 mg/50 µL), testosterona propionato (TP: 1 mg/50 µL) o dihidrotestosterona (DHT: 1 mg/50 µL). Nuestros resultados muestran una disminución del contenido de NE y 5-HT en ratas hembras TP, mientras que en machos TP se observó un aumento de estas monoaminas. Por otro lado, en ratas hembras EV disminuyó el contenido de 5-HT y aumentó significativamente el de 5-HIAA. Mientras que en ratas machos DHT aumentó significativamente el contenido de 5-HT y de 5-HIAA. Esto nos sugiere que habría cambios permanentes en el SL en la expresión de enzimas catabolizadoras de monoaminas, como la monoaminoxidasa y/o catecol-o-metiltransferasa. Por otro lado, estas alteraciones producidas por las hormonas sexuales podrían estar relacionadas con alteraciones en respuestas conductuales reguladas por el SL.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología

Dirección de Correo: ramon.sotomayor@uv.cl

Agradecimientos: Financiamiento otorgado por Proyecto FONDECYT N° 116-0398 y por el Programa de Magíster en Ciencias mención Neurociencia, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

Socio Patrocinante: Dr. Ramón Sotomayor-Zárate

73- LA REPROGRAMACIÓN NEONATAL CON ESTRADIOL VALERATO REDUCE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA INDUCIDA POR METILFENIDATO EN RATAS HEMBRAS ADULTAS. Neonatal reprogramming with estradiol valerate reduces locomotor activity induced by methylphenidate in adult female rats.

Dib, T.; Martínez, J.; Sanguinetti, N.; Sotomayor-Zárate, R.

Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

La reprogramación neonatal con hormonas sexuales ha demostrado producir efectos en el Sistema Nervioso Central, especialmente en áreas dopaminérgicas del Hipotálamo, Sustancia Nigra (SN) y Área Tegmental Ventral (VTA). Trabajos previos de nuestro laboratorio demostraron que ratas hembras adultas tratadas con estradiol valerato (EV: 0,1 mg/50µL) al día postnatal (PND) 1 tienen menor grado de preferencia de lugar condicionado a anfetamina que ratas control. Sin embargo, los efectos de la reprogramación neonatal con EV sobre otras conductas tipo adictivas inducidas por bloqueadores del transportador de dopamina (DAT) son desconocidos. El objetivo principal de este trabajo fue estudiar el efecto de metilfenidato (bloqueador de DAT) sobre la conducta de actividad locomotora (AL) en ratas hembra adultas (PND 60) que recibieron una dosis de EV o vehículo (50µL) al PND-1. La AL fue analizada durante 150 min utilizando el software ANY-MAZE, midiendo la locomoción basal, inducida por suero fisiológico e inducida por metilfenidato (5

mg/Kg i.p.). Los resultados muestran que la AL basal e inducida por la inyección de suero fisiológico no cambia entre ratas control y EV. Sin embargo, la AL inducida por metilfenidato disminuye significativamente en ratas EV respecto a las controles. Estos resultados demuestran que la administración neonatal de EV afecta la respuesta a drogas inhibitoras de DAT en ratas hembras, haciéndolas menos sensibles a los efectos psicoestimulantes. Esta reducción en el efecto locomotor puede deberse a una menor expresión de DAT en áreas límbicas, ya que estudios colaborativos de nuestro laboratorio (Poster Selva, M.) demuestran una disminución del mRNA de DAT en SN y VTA de ratas hembras adultas tratadas con EV al PND-1.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología

Dirección de Correo: ramon.sotomayor@uv.cl

Agradecimientos: Financiamiento otorgado por Proyecto FONDECYT N° 116-0398.

Socio Patrocinante: Dr. Ramón Sotomayor-Zárate

74- EFECTOS DE LA REPROGRAMACIÓN NEONATAL CON ESTRADIOL VALERATO AUMENTA LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA INDUCIDA POR MORFINA EN RATAS ADULTAS. Effects of neonatal reprogramming with estradiol valerate increases locomotor activity induced by morphine in adult rats.

Zamorano, G.; Velásquez, V.; Sotomayor-Zárate, R.

Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

La reprogramación neonatal con hormonas sexuales produce efectos a largo plazo en tejidos reproductivos y no reproductivos. Se ha demostrado en la literatura que la administración neonatal al día postnatal (PND) 1 produce un aumento de dopamina en las vías dopaminérgicas tuberoinfundibular, nigroestriatal y mesolímbica. Por otro lado, la respuesta conductual a drogas de abuso en estas ratas reprogramadas ha demostrado ser diferente si se les administran drogas psicoestimulantes como anfetamina o depresoras como alcohol. El objetivo principal de este trabajo fue estudiar el efecto de morfina (un agonista mu-opioides) sobre la conducta de actividad locomotora en ratas de ambos sexos (PND 60) que fueron expuestas durante las primeras horas de vida postnatal a EV (0.1 mg/50 µL) o aceite de sésamo (50µL s.c.) para los grupos control. La actividad locomotora fue medida utilizando el software ANY-MAZE durante 30 (actividad locomotora basal) y luego por 180 min para medir la actividad locomotora inducida por morfina (3 mg/Kg s.c.) o solución salina fisiológica (1 mL/Kg s.c.). Los resultados muestran que la actividad locomotora inducida por morfina es mayor en todos los grupos experimentales respecto a la administración de salino y que reprogramación neonatal con EV aumenta significativamente la actividad locomotora inducida por morfina en machos EV respecto a ratas machos control. Estos resultados nos demuestran que la administración neonatal a EV aumenta la sensibilidad a los efectos de morfina posiblemente a través de una mayor expresión de receptores mu-opioides en interneuronas GABAérgicas de área tegmental ventral (VTA). Sin embargo, futuros experimentos para probar esta nueva hipótesis serán realizados usando QPCR e inmunoblots.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología

Dirección de Correo: ramon.sotomayor@uv.cl

Agradecimientos: Financiamiento otorgado por Proyecto FONDECYT N° 116-0398.

Socio Patrocinante: Dr. Ramón Sotomayor-Zárate.

75- ROL DEL RECEPTOR GABA-ALFA1 EN LA MODULACION DE LA ACTIVIDAD DOPAMINÉRGICA EN EL ÁREA TEGMENTAL VENTRAL INDUCIDA POR LA ESTIMULACIÓN DEL SEPTUM LATERAL. Role of GABA-alpha1 receptor in the modulation of dopaminergic activity in the ventral tegmental area induced by stimulation of lateral septum.

Vega, I.M.; Gysling, K.

Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

La actividad de las neuronas dopaminérgicas del área tegmental ventral (VTA) es crucial en la conducta motivada ya que codifican la disponibilidad y el reconocimiento de señales asociadas a recompensas. La evidencia farmacológica ha mostrado que la inhibición de las interneuronas gabaérgicas presentes en el VTA, a través de los receptores GABA-A, desencadena un aumento en la actividad de las neuronas dopaminérgicas explicando el abuso de sustancias tales como las benzodiazepinas. Esta información nos llevó a preguntarnos sobre los mecanismos neurofisiológicos que regulan la actividad de las interneuronas gabaérgicas del VTA y si es regulada por la actividad de la proyección desde el septum lateral (LS) al VTA. Para ello, realizamos doble implantación de cánulas de microdiálisis en el LS y en VTA, y medimos los niveles extracelulares de dopamina y GABA en LS y en VTA, luego de un estímulo despolarizante en el LS. Los resultados mostraron que la perfusión de Krebs-Ringer fosfato enriquecido en potasio (KRF-K+ 70mM) en el LS, induce un aumento significativo en los niveles extracelulares de dopamina y GABA en el VTA. Además, al realizar la estimulación del LS en presencia de bicuculina (antagonista de los receptores GABA-A) en el VTA, los niveles extracelulares de DA no aumentaron. Por otro lado, la infusión intra VTA de Indiplon, modulador alostérico selectivo de los receptores GABA-alfa1, potenció los efectos de la estimulación del LS. Los resultados sugieren que el LS ejerce un control gabaérgico sobre la actividad dopaminérgica del VTA, a través de receptores GABA-alfa1 presentes en las interneuronas gabaérgicas del VTA.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología

Dirección de Correo: ignac.vega@gmail.com

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT N° 115-0244.

76- EVALUACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE ENZIMAS RELACIONADAS CON LA SÍNTESIS DE ANDRÓGENOS Y ESTRÓGENOS PLACENTARIOS EN MUJERES CON OBESIDAD DURANTE EL EMBARAZO. Expression of enzymes related with placental androgen and estrogen synthesis in women with gestational obesity.

Espina, C.1,2; Contreras, I.1,2; Cruz, G.1 y Maliqueo, M.2

1Laboratorio de Alteraciones Reproductivas y Metabólicas, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. 2Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo. Facultad de Medicina Occidente. Universidad de Chile.

La obesidad gestacional se relaciona con complicaciones maternas y fetales. Los andrógenos y estrógenos son importantes reguladores del metabolismo; y alteraciones en sus niveles séricos se relacionan con pobres resultados obstétricos. Durante el embarazo, la placenta sintetiza la mayoría de las hormonas esteroidales. Por lo tanto, proponemos que la obesidad gestacional altera la expresión de enzimas esteroideogénicas en la placenta conduciendo a cambios en la concentración sérica materna de testosterona y estradiol. Se incluyeron 19 mujeres normopeso y 21 obesas con embarazo único y sin patologías del embarazo. Se tomaron muestras de sangre al primer y tercer trimestre de embarazo para medir testosterona y estradiol. Durante el parto se obtuvieron tres muestras de tejido placentario para determinar la expresión génica de STS, 3β-HSD tipo 1, 17β-HSD tipo 2, P450 aromatasa, SULT1E1, y receptores de andrógenos y estrógenos mediante qRT-PCR. La expresión proteica de P450 aromatasa se evaluó mediante western blot. Mujeres obesas con embarazo de feto masculino presentaron elevados niveles séricos de testosterona al primer (2.47 ± 0.52 vs 1.17 ± 0.15 P = 0.035) y tercer trimestre (2.41 ± 0.37 vs 1.39 ± 0.31 P = 0.053) comparado con mujeres normopeso. Además, mujeres obesas con feto femenino presentaron un aumento de la expresión de la enzima P450 aromatasa en comparación a mujeres normopeso (P = 0.007), lo cual no fue observado en embarazos con feto masculino. Esto nos sugiere que la obesidad gestacional produce una disregulación, dependiente del sexo fetal, en la expresión placentaria de la enzima P450 aromatasa, llevando a mayores niveles maternos de testosterona en embarazos con feto masculino lo que puede tener consecuencias deletéreas para la madre y el feto.

Area de la Farmacología: Farmacología endocrina-reproductiva

Dirección de Correo: mmaliqueo@med.uchile.cl

Agradecimientos: Proyecto Fondecyt de Iniciación N°11130250 (MM) Proyecto Fondecyt de Iniciación N°111-30707 (GC)

Socio Patrocinante: Dr. Gonzalo Cruz

77- EFECTO DE PROPRANOLOL EN EL DESARROLLO FOLICULAR TEMPRANO EN RATA ADULTA CON CICLICIDAD ESTRAL. Propranolol effect on early follicular development of adult cycling rat.

Urzúa, R.V.1; Luna, S.L.1; Brown, D.I.2; Lara, H.E.3

1Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso. 2Unidad de Biología de la Reproducción y Desarrollo, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. 3Laboratorio de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

El ovario se encuentra bajo el control neuroendocrino ejercido por la acción conjunta de gonadotropinas y la inervación

catecolaminérgica y peptidérgica. Nuestro grupo ha publicado evidencias experimentales que señalan la relevancia del componente nervioso y ha demostrado que la disregulación neuroendocrina del ovario afecta la foliculogénesis y esteroidogénesis. En el presente trabajo se propone que el bloqueo farmacológico de receptores adrenérgicos modifica la homeostasis del ovario manifestándose como cambios morfológicos en el desarrollo folicular. Se expusieron ratas adultas con ciclos estrales regulares a la administración diaria de propranolol, 5 mg/kg por vía i.p. durante 10 días, un periodo equivalente a dos ciclos estrales y en dosis que previamente demostramos que pueden revertir el efecto de isoproterenol en la secreción de andrógenos y en la formación de quistes foliculares. Encontramos que propranolol disminuye la generación espontánea de quistes en ratas sin cambios significativos en la población de folículos antrales pero con tendencia a aumentar los folículos preantrales e incrementar la proporción de folículos preantrales/primordiales. Esta observación nos lleva a discutir el rol del tono adrenérgico atenuado por un antagonista como propranolol en el desarrollo folicular temprano y su potencial uso como tratamiento preventivo de la condición de ovario poliquístico.

Area de la Farmacología: Farmacología endocrina-reproductiva
Dirección de Correo: leticia.luna@uv.cl
Agradecimientos: Financiamiento: Proyecto DIUV 55/2013.

78- PRESENCIA DE MICRO RNA C19MC EN EXOSOMAS DERIVADOS DE PLACENTA DE MUJERES DIAGNOSTICADAS CON DIABETES GESTACIONAL. C19MC miRNAs signatures of placenta-derived exosomes in women diagnosed with gestational diabetes mellitus.

Zuñiga, F.A.1; Almohammadi, D.2, Scholz-Romero, K.2, Rice, G.E.2,3; Díaz, E.1; Ormazábal, V.1, Aguayo, C.1; Salomon, C.1,2,3

1Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. 2Exosome Biology Laboratory, Centre for Clinical Diagnostics, University of Queensland Centre for Clinical Research, Royal Brisbane and Women's Hospital, The University of Queensland. 3Department of Obstetrics and Gynecology, Ochsner Baptist Hospital, New Orleans, Louisiana, USA.

El cluster cromosomal 19 miRNA (C19MC) consiste en una agrupación de micro RNA que se expresan principalmente en la placenta humana. Determinamos la expresión relativa de C19MC en células trofoblásticas cultivadas bajo condiciones que imitan un ambiente diabético, en exosomas liberados por estas células y en los exosomas aislados de plasma de mujeres diagnosticadas con diabetes gestacional (DG). Las muestras de plasma se obtuvieron a partir de embarazo normal y DG (n = 6) desde el Centro Médico Bautista de Ochsner (Nueva Orleans, EE.UU.). Los exosomas se aislaron de medio condicionado por células y el plasma por centrifugación diferencial y gradiente de densidad. La expresión relativa de miR-512-5p, miR-517a, miR-518a-5p, miR-518b, 518c miR-miR-518e, miR-519d, 520c-miR-3p, miR-525-5p y RNU6B fue determinada por RT-qPCR. Se observó un efecto significativo (p <0,05) de oxígeno, glucosa e insulina en todos los miRNAs

estudiados, excepto el miR-512-5p. Se identificó un efecto positivo en miR-525-5p, miR-520c-3p, MIR-MIR-518c y 518b. El análisis de correlación mostró una correlación positiva (p <0,05) entre las células y los exosomas a concentraciones menores de 5 mM de D-glucosa y a 8% o 3% de O₂, sin embargo, 25 mM de D-glucosa y 1% de O₂ abolió esta asociación (p > 0,05). Por último, la expresión relativa de miR-518a-5p, miR-518b, 518c miR-miR-518e, miR-520c-3p y miR-525-5p fue significativamente mayor en DG que en embarazo normal. Este estudio establece que en respuesta a los desafíos metabólicos, las células trofoblásticas empaquetan específicamente miARN C19MC en los exosomas. Aunque el papel de los exosomas durante DG aún no se ha aclarado completamente, los miARN derivados de exosomas pueden ser de utilidad de diagnóstico para la detección precoz de la diabetes gestacional.

Area de la Farmacología: Farmacología endocrina-reproductiva
Dirección de Correo: fzuniga@udec.cl
Agradecimientos: Proyecto Internacional de Investigación PI220150053
Socio Patrocinante: Dr. Felipe Zúñiga Arbaliti

79- DESCUBRIMIENTO DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS DEGRADADORAS DE ALFA-SINUCLEINA QUE ACTIVAN LA AUTOFAGIA MEDIADA POR CHAPERONAS. Discovery of small molecule alpha-synuclein degraders that activate chaperone mediated autophagy.

De la Cruz, J.1; Delgado, L.M.2; Díaz-Carretero, A.3; Cuervo, A.M.3; Bernales, S.2; Alfaro, I.E.1

1Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha. 2Translational Research Lab., Fundación Ciencia y Vida. 3Department of Developmental and Molecular Biology, Albert Einstein College of Medicine.

Accumulation of alpha-synuclein contributes to neurodegeneration in Parkinson's disease (PD) and other synucleinopathies. Alpha-synuclein is degraded by the ubiquitin proteasome system (UPS), macroautophagy (MA) and chaperone mediated autophagy (CMA). Has been suggested that controlling alpha-synuclein levels by pharmacological modulation of these pathways could be a potential therapeutic strategy for the treatment of synucleinopathies. We recently discovered that the beta-carboline latrepirdine reduces the cytotoxicity induced by alpha-synuclein overexpression in SH-SY5Y cells. In Tet-off inducible overexpressing neuroblastoma SH-SY5Y cells we show that latrepirdine decreases total alpha-synuclein protein levels at nanomolar concentrations through a post-translational and lysosomal dependent mechanism, with no evidence of MA or UPS activation. The effect of latrepirdine on alpha-synuclein levels in overexpressing SH-SY5Y was reproduced in cultured lymphoblast cells derived from PD patients with SNCA gene triplication. However, degradation of a mutant form of alpha-synuclein protein incompetent as CMA substrate was unable to be stimulated by latrepirdine. In cultured fibroblasts expressing a photoconvertible fluorescent artificial substrate and reporter of CMA activation, we show that latrepirdine was able to increase significantly the levels of CMA substrate incorporation into lysosomes. Selective

activation of CMA by latrepirdine at nanomolar concentrations was confirmed in SH-SY5Y cells by lentiviral LAMP2A shRNA mediated knockdown. We developed a library of latrepirdine analogues to screen for alpha-synuclein degraders and we find several molecules with alpha-synuclein degrading activity and CMA activating properties. In transgenic mice, two-month oral treatment with one selected small molecule induced a 43% reduction in alpha-synuclein levels in the cortex of transgenic mice in comparison with control animals. In conclusion, we discovered a novel family of alpha-synuclein degrading small molecule compounds with CMA inducing activity with therapeutic potential.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular

Dirección de Correo: javiera.delacruzserrat@gmail.com

Agradecimientos: Fondecyt Regular N° 113-1137

80- ALTERED PHARMACOKINETIC AND PHARMACODYNAMIC EFFECTS OF LACOSAMIDE IN EXPERIMENTALLY INDUCED HEPATIC AND RENAL IMPAIRMENT IN RATS. Efectos farmacocinéticos y farmacodinámicos alterados de lacosamida en ratas con falla hepática y renal experimentalmente inducida.

Medhi, B.1*, Kumar, B.1, Modi, M.2, Saikia, B.3

1Department of Pharmacology, Postgraduate Institute of Medical Education and Research, Chandigarh 160012, INDIA. 2Department of Neurology, Postgraduate Institute of Medical Education and Research, Chandigarh 160012, INDIA. 3Department of Immunopathology, Postgraduate Institute of Medical Education

and Research, Chandigarh 160012, INDIA.

Background and Purpose: The therapeutic goal of antiepileptic drugs is to maximize the seizure control and to minimize the adverse drug effects. The knowledge of Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of antiepileptic drugs is helpful in optimizing drug therapy for epilepsy. The present study was designed to evaluate the pharmacokinetics and pharmacodynamics of lacosamide in experimentally induced hepatic and renal impairment. **Experimental Approach:** Hepatic or renal impairment was induced by injection of CCl₄ (1 ml/kg) or Diclofenac sodium (25 mg/kg), respectively. After hepatic or renal impairment induction, the animals were administered with a single dose of lacosamide (25 mg/kg). At different time points, MES seizure recording was done and plasma and brain samples were isolated for lacosamide quantification and pharmacodynamic estimations. **Key Results:** Our results showed a significant increase in AUC of lacosamide in hepatic and renal impairment groups. Reduced clearance of lacosamide was observed in animals with renal impairment. Along with pharmacokinetic alterations, the pharmacodynamic effects (oxidative stress parameters, inflammatory markers, apoptotic markers) of lacosamide were also observed in all the groups. Lacosamide showed a significant protection against MES induced seizures, oxidative stress and neuroinflammatory cytokines. **Conclusion and Implications:** The present findings suggest that the experimentally induced hepatic or renal impairment could alter the pharmacokinetic as well as pharmacodynamic properties of lacosamide. Hence, these conditions may affect the safety and efficacy of lacosamide.

Area de la Farmacología: Farmacocinética

Dirección de Correo: drbikashus@yahoo.com

COMUNICACIONES EN PANELES (POSTER PRESENTATIONS) SESIÓN 2

01- EFECTO NEUROPROTECTOR DE UNA ISOFORMA DE ERITROPOYETINA CON BAJA GLICOSILACION FRENTE A ESTRES OXIDATIVO. The neuroprotective effect of an isoform of Erythropoietin with low glycosylation against oxidative stress.

Castillo, C. 1,2,3; Hidalgo, A.1; García López, M. 3, Fuentealba, J.2, Toledo, J.R.1

1Laboratorio Biotecnología y Biofármacos, Dpto. Fisiopatología, Fac. Cs. Biológicas, Universidad de Concepción. 2Laboratorio Screening Compuestos Neuroactivos, Dpto. Fisiología, Fac. Cs. Biológicas, Universidad de Concepción. 3Instituto Teófilo Hernando, Universidad Autónoma de Madrid, España.

La Eritropoyetina (Epo) es una hormona glicoprotéica de aproximadamente 34kDa, cuya función principal es regular la hematopoyesis, sin embargo debido al descubrimiento de su receptor (EpoR) en tejidos no eritroides, se ha asociado esta hormona a otras funciones. En el sistema nervioso central (SNC), se ha observado que Epo tiene un efecto neuroprotector relacionado a la activación de su receptor y a vías de señalización antiapoptóticas asociadas. El objetivo de este trabajo es evaluar si una isoforma de Epo recombinante humana con baja glicosilación y reducida actividad hematopoyética (EpoL), producida mediante transducción adenoviral en glándula mamaria de cabra, tiene actividad neuroprotectora in vitro y ex vivo en tratamientos donde se induce un aumento en el estrés oxidativo, y si este efecto neuroprotector está asociado a la activación de EpoR. Para desarrollar este objetivo se utilizaron células PC12 y neuronas corticales de rata que fueron pretratadas con EpoL durante 1 hr y posteriormente incubadas con H₂O₂. También, como una aproximación a experimentos in vivo, utilizamos rebanadas de hipocampo de rata privados de oxígeno y glucosa (POG) durante 15 minutos y posteriormente reoxigenados. Las células pretratadas durante 1 hr con EpoL presentaron un aumento superior al 30% en la viabilidad celular con respecto a células que no fueron pretratadas, más de un 25% con respecto a células pretratadas con un inhibidor de EpoR, de forma similar en las rebanadas co incubadas con EpoL durante la reoxigenación posterior a la POG, muestran un menor aumento de estrés oxidativo, en comparación a las rebanadas que no fueron co incubadas con EpoL. Estos resultados también concuerdan con diferencias observadas en la activación de vías de señalización antiapoptóticas medidas por el aumento en la expresión del gen BCL2 en tratamientos con EpoL en células estresadas con FCCP, donde hubo un aumento superior al 50% con respecto a células control. Por otro lado, estos resultados de neuroprotección in vitro y ex vivo de EpoL se correlacionan con la necesidad de la activación del receptor de la hormona, ya que en ambos casos se pierde el efecto neuroprotector si se bloquea la interacción entre EpoL y EpoR. Los resultados de este trabajo sugieren que EpoL tiene actividad neuroprotectora en estrés oxidativo y que activa vías de señalización antiapoptóticas por medio de la activación de su receptor EpoR, reforzando su potencial uso farmacológico para enfermedades relacionadas con el SNC.

Area de la Farmacología: Biotecnología, Farmacología molecular
Dirección de Correo: carolina.castillobq@gmail.com

Agradecimientos: Conicyt, Beca Doctorado Nacional folio: 21130368 Proyecto Innova n° 13IDL218688 (JT) Fondecyt 1130747 (JF) Instituto Teófilo Hernando, Universidad Autónoma de Madrid, España.

02- INDUCCIÓN DE LOX-1 POR LPS DE ESCHERICHIA COLI Y SU ASOCIACIÓN CON LA EXPRESIÓN DE MARCADORES DE PROGRESIÓN TUMORAL EN CÁNCER COLORECTAL HUMANO. Induction of LOX-1 by LPS from *Escherichia coli* and its association with tumor progression markers in human colorectal cancer.

Vargas, Y., González-Horta, E.E., González-Chavarría, I., Espinoza, F.I., Rodríguez, F.S., Sandoval, F.A., Cifuentes, P., Cerro, R.P., Gutiérrez, N., Toledo, J.R.

Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Introducción: El cáncer colorectal (CCR) es el tercer tipo de neoplasia con mayor incidencia y mortalidad a nivel mundial. En su desarrollo se ha relacionado a la obesidad y las enfermedades inflamatorias del intestino (EII), principalmente por un incremento en los niveles de LDL oxidada (LDLox) en el plasma de estos pacientes, y por otro lado, a un estado inflamatorio crónico mediado por una respuesta bacteriana. A su vez, la progresión de varios tipos de cáncer estaría relacionada con la expresión del receptor LOX-1, proteína codificada por el gen *olr-1*, mediadora en el reconocimiento e internalización de LDLox. **M&M:** Para evaluar la relación entre la respuesta bacteriana, la obesidad y el CCR se utilizó al lipopolisacárido (LPS) de *Escherichia coli* (cepa 055:B5) y LDLox obtenida de sujetos sanos normolipémicos. Estos tratamientos fueron evaluados in vitro en tres líneas celulares de CCR humano (COLO320, SW620 y HCT116). **Resultados:** El LPS en conjunto con la LDLox inducen la expresión de LOX-1 de manera diferencial en las tres líneas celulares de CCR. A su vez, la expresión de marcadores de migración epitelio-mesenquimal como E-cadherina y vimentina se encuentra alterada (disminución y aumento, respectivamente), mientras que la actividad de metaloproteinasas de matriz (MMP-2 y MMP-9) aumenta en estas condiciones. **Conclusión:** Con estos resultados demostramos que la expresión de marcadores de progresión tumoral en CCR esta mediada por la sobre-expresión de LOX-1 inducida por LPS bacteriano, y su activación con LDL oxidada. Esto podría explicar por qué existe un mayor riesgo de desarrollar CCR en personas con obesidad y EII.

Area de la Farmacología: Farmacología Oncológica, Biotecnología
Dirección de Correo: yossevargas@udec.cl
Agradecimientos: Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos
Socio Patrocinante: Dr. Jorge Roberto Toledo Alonso

03- CARACTERIZACIÓN DE LA EXPRESIÓN Y ACTIVACIÓN DE LOX-1 (OLR1) EN CÉLULAS MICROGLIALES EN EL CONTEXTO TUMORAL DE GLIOBLASTOMA MULTIFORME HUMANO. Characterization of the expression and activation of LOX-1 (OLR-1) in microglial cells in the tumoral context of human glioblastoma multiforme.

Espinoza F.I.; Rodríguez, F.S.; González-Chavarría I.; González-Horta, E.E.; Sandoval, F.A.; Cifuentes, P.; Cerro, R.P.; Vargas, Y.; Gutiérrez, N.; Toledo, J.R.

Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

El receptor de la LDL oxidada (LDLox), LOX-1, se vincula principalmente con el proceso aterogénico, activando vías pro-inflamatorias, las cuales se encuentran asociadas a la transformación y progresión tumoral. En este contexto, en la última década se demostró una correlación entre desórdenes metabólicos lipídicos y cáncer, identificando a LOX-1 como uno de los transductores moleculares más importantes. Los glioblastomas multiformes (GBM) son tumores cerebrales que carecen de tratamiento efectivo, presentan una baja expectativa de vida y una elevada mortalidad para los pacientes. Se caracterizan por una angiogénesis exacerbada, presentar células radio-resistentes y una elevada infiltración de células microgliales; que comprenden hasta un 45% del tumor, favoreciendo un microambiente pro-tumoral e inmunosupresivo, secretando factores que sustentan la progresión tumoral. Existe evidencia que LOX-1 se expresa en microglía, nuestra hipótesis es que la activación de LOX-1 microglial induce un aumento de la liberación de factores que sustentan la progresión tumoral. Nuestro objetivo fue confirmar la expresión de LOX-1 en microglía humana (CHME3) y determinar si la activación del receptor, en un contexto tumoral, favorece la expresión de características de progresión tumoral en células de GBM. A través de análisis de inmunocitoquímica, Western blot y qRT-PCR determinamos la expresión y localización del receptor. El efecto de la activación de LOX-1, con LDLox humana y medios condicionados de GBM, fue determinado mediante análisis de MTT, Western-blot y qRT-PCR. Los resultados demuestran la expresión de LOX-1 en células microgliales y la variación de su expresión al ser estimuladas con LDLox y medios condicionados. Adicionalmente, LDLox induce un cambio en la activación y proliferación microglial. De esta forma, concluimos que LOX-1 y LDLox afectan el fenotipo microglial y la proliferación tumoral

Area de la Farmacología: Farmacología oncológica
Dirección de Correo: felipeespinoza@udec.cl
Agradecimientos: FONDECYT Postdoctoral N°315-0569
Socio Patrocinante: Dr. Jorge Roberto Toledo Alonso

04- EXPRESIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA VARIANTE DEL ANTÍGENO TUMORAL HUMANO CA 125. Expression and characterization of a variant of human tumor-associated antigen CA 125.

Benavente, B.1., Meza, C.1., Saavedra, P.1., Toledo, J.R.1.

Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de

Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad De Concepción.

El Antígeno de Cáncer 125, también conocido como CA125, es un marcador sérico que se utiliza rutinariamente en la práctica ginecológica para controlar pacientes con cáncer de ovario. Molecularmente, corresponde a un antígeno peptídico repetitivo de la Mucina 16 (MUC16) que es una proteína tipo mucina multi-glicosilada y sobre-expresada en más del 80% de pacientes con cáncer de ovario. Diversos estudios han relacionado esta sobreexpresión con funciones biológicas vinculadas a la progresión tumoral, como moduladora del crecimiento de células cancerígenas, la motilidad celular, invasión e inmunosupresión. Debido al potencial de CA125 como antígeno para la terapia anti-tumoral contra cáncer de ovario epitelial, diversos ensayos clínicos en curso están investigando el uso de esta molécula como diana para la inmunoterapia en pacientes con esta enfermedad. A pesar de estos avances, la naturaleza molecular exacta de este antígeno no está precisamente caracterizada, por lo que el conocimiento de la estructura detallada de CA125, de sus glicosilaciones y cómo estas afectan la respuesta inmune, permitiría el desarrollo de nuevas y más refinadas terapias basadas en anticuerpos anti-tumorales, que ya han mostrado un potencial clínico interesante. En nuestro trabajo, se generó y caracterizó el antígeno recombinante sCA125his, basada en el dominio C-terminal de la proteína MUC16, una señal de secreción y una cola de seis histidinas. La proteína fue producida utilizando vectores adenovirales amplificados en la línea celular complementaria HEK293A y expresada en la línea celular SIHA mediante transducción adenoviral. Fue purificada y caracterizada mediante electroforesis SDS-PAGE, Western-blot y HPLC (análisis de glicanos). Esto permitió la inmunización de este antígeno en ratones CF-1, en su forma glicosilada y desglucosilada, utilizando diferentes vías de inmunización.

Area de la Farmacología: Farmacología oncológica, molecular.
Dirección de Correo: bbenaventec@gmail.com
Agradecimientos: Plataforma biotecnológica INN BIO
Socio Patrocinante: Dr. Jorge R. Toledo A.

05- FUNCIÓN DE LA OXLDL EN LA ACTIVACIÓN DE NF-KB Y SU RELACIÓN CON EL TRATAMIENTO CON ANTAGONISTA DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS EN CÉLULAS DE CAP. The oxLDL function on NF-κB activation and its relationship with androgen receptor antagonist treatment in prostate cancer cells.

Sandoval, F.A., González-Chavarría, I., Cerro, R.P., Gutiérrez, N., Cifuentes, P., Espinoza, F.I., Vargas, Y., González-Horta, E.E., Toledo, J.R.

Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad De Concepción.

El cáncer de próstata (CaP) ocupa el primer lugar en incidencia del total de las neoplasias que afectan a la población masculina chilena. Se describe que el crecimiento de células de CaP depende de la presencia de andrógenos. Así, la privación de andrógenos es una de las terapias indicadas para el tratamiento del CaP avanzado, sin embargo en un 30% de los casos se presenta

recidiva del cáncer con resistencia al tratamiento inicial. Entre los factores moleculares asociados al fracaso de las terapias de privación androgénica se encuentra la sobre-expresión y activación del factor de transcripción NF-κB. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la oxLDL en la activación de la vía NF-κB y como esto podría afectar la acción de drogas antagonistas del receptor de andrógenos en líneas celulares de CaP. Para evaluar el efecto de la oxLDL en la activación de NF-κB, células de CaP fueron incubadas con concentraciones crecientes de oxLDL en presencia o ausencia de hormonas y se evaluó por western blot la activación de NF-κB. Mediante ensayos de viabilidad celular, MTT, se determinó el IC50 y la respuesta de células C4-2B y LNCaP a tratamientos con Flutamida y oxLDL. Además, se estudio el efecto de la oxLDL en la respuesta a flutamida mediante ensayos clonogénicos en células de CaP. Nuestros resultados indican que concentraciones bajas de oxLDL son suficientes para promover la activación de la vía NF-κB en células C4-2B en ausencia de dihidrotestosterona (DHT). Por otro lado la acción citotóxica de flutamida es prevenida por la oxLDL. Esto sugiere que la oxLDL podría promover la resistencia a flutamida mediada a través de la vía NF-κB.

Area de la Farmacología: Farmacología oncológica, molecular
Dirección de Correo: felipesandovalsandoval@gmail.com
Agradecimientos: plataforma biotecnológica INN BIO
Socio Patrocinante: Dr. Jorge Toledo Alonso,

06- MULTI-EXPRESIÓN DE ANTÍGENOS VACUNALES EN ESCHERICHIA COLI. Vaccines antigens multi-expression in *Escherichia coli*.

Gutiérrez, N.1; Hidalgo, A.1; Camacho, F.1: Maura, R.1; Ruiz, A.2; Montesino, R.1; Toledo, J.R.1

1Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencia Biológicas, Universidad de Concepción. 2Laboratorio de patología y Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán.

Múltiples patologías infecciosas de origen viral o bacteriano se asocian a enfermedades entéricas cuya prevención se dificulta debido a la complejidad de desarrollar vacunas que estimulen la respuesta inmune de tipo celular y mucosal. Este es un problema que se aplica tanto a enfermedades humanas como a patologías del ámbito veterinario. El presente estudio toma como modelo la bacteria causante de la enteropatía proliferativa porcina, La cual produce enfermedades entéricas que provocan anorexia, merma en el índice de conversión alimentaria, pérdida de peso, procesos diarreicos graves, retraso del crecimiento, hemorragias, y muerte. Actualmente, el control de la infección se realiza mediante el uso de antibióticos de forma periódica, este tratamiento tiene como principal inconveniente la aparición de resistencia en las bacterias. En Chile, la enfermedad se considera enzoótica, siendo esto reconocido por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) por lo cual se hace necesario buscar una solución a este problema. Nuestro trabajo tiene como objetivo generar un candidato vacunal basado en antígenos recombinantes, que expongan en su superficie dominios inmunogénicos seleccionados del genoma de la bacteria infectiva. Resultados obtenidos mediante Western Blot muestran el reconocimiento del candidato vacunal por el suero de cerdos

infestados. Mediante ELISA de competencia identificamos un reconocimiento competitivo por nuestro antígeno entre los sueros de cerdos infestados, suero de ratones inmunizados con el candidato vacunal y un suero policlonal generado a partir de una vacunal experimental en conejo. Estos resultados sugieren que es posible desarrollar una vacuna para controlar la enteropatía proliferativa a partir de la multi-expresión de proteínas antigénicas en *E. coli*.

Area de la Farmacología: Biotecnología
Dirección de Correo: nicolasgutierrezmella@gmail.com
Agradecimientos: Proyecto fondef ID14110335
Socio Patrocinante: Dr. Jorge Roberto Toledo

07- ESTABLECIMIENTO DE UN ELISA SANDWICH PARA LA DETECCIÓN DE LA PROTEÍNA HEMAGLUTININA DEL VIRUS DE INFLUENZA AVIAR SUBTIPO H5 FUSIONADA AL CD154 DE POLLO. ELISA sandwich to detect the protein hemagglutinin from avian influenza virus subtype H5 fused to chicken CD154.

González, A.P.1,2; Rodríguez, E.R.2; Juglar, M.P.2; Sánchez, O.R.1, Toledo, J.R.1

1Departamento de Fisiopatología, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. 2Departamento de Biotecnología Animal, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba.

La influenza aviar causada por el virus de alta patogenicidad H5N1 ha ocasionado la desaparición de millones de aves y cientos de vidas humanas a nivel mundial. La obtención de nuevos candidatos vacunales contra esta enfermedad es de vital importancia para contrarrestar los brotes emergentes. En nuestro trabajo se describe un ELISA sandwich para la cuantificación de un candidato vacunal contra la influenza aviar basado en el determinante antigénico principal del virus, la hemaglutinina H5, fusionada al CD154 de pollo (HACD). La proteína quimérica HACD se obtuvo mediante la tecnología del ADN recombinante y los tres anticuerpos monoclonales (Ac1, Ac2 y Ac3), así como sus respectivos conjugados a peroxidasa de rábano picante (HPR1, HPR2 y HPR3) se desarrollaron en el laboratorio. Los sueros positivos y negativos de referencia se obtuvieron a través del "Istituto Zooprofilattico delle Venezie", Italia. Después de demostrar el reconocimiento de la proteína HACD por los sueros de referencia positivos, se seleccionaron el Ac2 a 2,5 µg/mL como anticuerpo de captura y el HPR3 a la dilución 1/20 000 como anticuerpo de detección por mostrar los mayores valores de densidad óptica. La mayor linealidad de la curva estándar usando la proteína HACD se obtuvo en el rango de 100-1,56 ng/mL. En este estudio se lograron estandarizar las condiciones para la cuantificación del candidato vacunal HACD mediante un ELISA sandwich. Esta investigación sienta las bases para el establecimiento de métodos de vigilancia eficaces contra el virus de influenza aviar subtipo H5, así como de estrategias de vacunación donde se puedan discriminar los animales infectados de los vacunados.

Area de la Farmacología: Biotecnología
Dirección de Correo: alaingonzalez@udec.cl
Agradecimientos: Proyecto FONDECYT POST-DOCTORAL 3160397
Socio Patrocinante: Dr. Jorge Roberto Toledo Alonso

08- SÍNTESIS, ESTUDIOS COMPUTACIONALES Y EVALUACIÓN ANTIPROLIFERATIVA IN VITRO DE NUEVOS 1H-BENZO[F]INDAZOL-4,9-DIONAS CONJUGADAS CON AMINO ACIDOS C-PROTEGIDOS. Synthesis, Computational studies and in Vitro Antiproliferative Evaluation of New 1H-Benzo[f]indazole-4,9-diones Conjugated with C-Protected Amino Acids.

Arismendi-Macuer, M.1; Fuentealba, M.1; Molinari, A.A. 1; Oliva, A.1; Guzmán, L.1; Knox, M.1; Vinet, R.2,3; San Feliciano, A.4

1Instituto de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile. 2Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso, Chile. 3 Centro Regional de Estudios en Alimentos y Salud (CREAS), Valparaíso, Chile. 4 Facultad de Farmacia, Departamento de Química Farmacéutica, CIETUS, IBSAL, Universidad de Salamanca, Salamanca, Spain.

Los 1H-Indazolidionas son heterociclos nitrogenados fusionados a 1,4-quinonas, los cuales poseen interesantes propiedades químicas y biológicas, dentro de ellas se incluyen actividad antitumoral contra carcinoma Ehrlich ascites de ratón CF1, leucemia linfocítica de ratón BDF1 y en células de leucemia murina L1210 [1]. Estos compuestos inhiben el transporte de electrones en la mitocondria y actúan como desacopladores de la fosforilación oxidativa [2]. Además, los 1H-Indazolidionas actúan como inhibidores de topoisomerasas vía interacciones apolares y como agentes intercalantes o alquilantes del ADN, promoviendo de esta manera la muerte celular. Se han desarrollado una serie de nuevos derivados utilizando como sustrato de partida 1H-benzo[f]indazol-4,9-dionas 2 (R = -H; -CH₂CH₂OH; -CH₂CH₂OAc) [3]. Los compuestos 1H-benzo[f]indazol-4,9-dionas conjugados con glicina y los L-aminoácidos alanina, fenilalanina, y ácido glutámico 6a-l, epóxidos 3a-c, aldehidos 4a-c y ácidos carboxílicos 5a-c, fueron obtenidos mediante la modificación química del sustituyente prenil de los sustratos 3-methyl-7-(4-metilpent-3-enil)-1H-benzo[f]indazol-4,9-dionas 2 a través de reacciones sucesivas de epoxidación, oxidación degradativa, oxidación y reacciones de condensación del grupo N-acilo. Adicionalmente, para racionalizar el posible mecanismo de formación de los 1H-Benzo[f]indazol-4,9-dionas se realizaron cálculos computacionales utilizando la teoría del funcional de la densidad. Para determinar la actividad antiproliferativa de estos compuestos, se realizaron estudios en líneas celulares KATO III (cáncer gástrico humano) y MCF-7 (cáncer de glándula mamaria humano) utilizando el ensayo de proliferación (MTS) y doxorubicina como control. Los resultados fueron expresados como la concentración que inhibe el 50% de la proliferación celular (IC50). Los derivados exhibieron bioactividad significativa con valores IC50 entre 25 a >100 micromolar [4]. Estos resultados sugieren que los derivados del tipo 1H-benzo[f]indazol-4,9-dionas son compuestos promisorios para el desarrollo de nuevas drogas anticancerígenas.

Area de la Farmacología: Farmacoquímica
Dirección de Correo: m.arismendi.m@gmail.com
Agradecimientos: CONICYT (proyectos FONDECYT 106-0447, FONDECYT 110-0316), DII-PUCV (Proyectos 125.796/2006, 125.744/2009 y 125.747/2010). Beca Postdoctoral DII-VRIEA-PUCV -2015-2016.

09- EFECTO DE LA HEPATECTOMÍA PARCIAL EN LA EXPRESIÓN Y FUNCIÓN DE LOS TRANSPORTADORES DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN HEPATOCITOS DE RATA POST-HEPATECTOMÍA PARCIAL (PHX). Effect of partial hepatectomy on the expression and function of ascorbic acid transporters in rat hepatocytes post-partial hepatectomy (PHx).

Maldonado, M.1; Peña, E.1; Moncada, N.1; Mardones, L.2; Escobar, E.1; Inostroza, E.1; Vera, J.C.1 y Rivas, C.I.1

1Laboratorio de Antioxidantes, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. 2Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad Católica de la Santísima Concepción.

El ácido ascórbico (AA) es un eficaz antioxidante que protege al hígado del estrés oxidativo. El hepatocito de rata sintetiza AA y además lo obtiene desde fuentes externas a través del transportador de ácido ascórbico (SVCT1). El AA en el interior de la célula puede ser oxidado por especies reactivas del oxígeno e inmediatamente reciclado con participación de reductasas dependientes de glutatión. El hígado posee una extraordinaria capacidad regenerativa en respuesta a la lesión. El objetivo de este trabajo fue determinar cambios en el transportador de AA durante la regeneración hepática PHx. Como modelo de estudio utilizamos ratas sometidas a hepatectomía parcial del 70%. A distintos tiempos PHx determinamos: 1) el índice de proliferación celular por inmunohistoquímica de Ki67, 2) el contenido de AA y glutatión, 3) expresión de ARNm mediante PCR-RT de las enzimas de síntesis de AA (gulonolactona oxidasa y gulonolactonasa) y de glutatión (glutatión sintetasa y γ -glutamyl cistein sintetasa) y 4) el transporte de ácido ascórbico, las propiedades cinéticas del transportador de AA en hepatocitos aislados y la expresión temporal de SVCT1 por inmunohistoquímica y PCR-RT. Nuestros resultados señalan que la etapa inicial de proliferación de los hepatocitos está asociada a un aumento del potencial antioxidante, medido como un aumento del contenido de AA, de glutatión y del ARNm de las enzimas gulonolactona oxidasa, gulonolactonasa, glutatión sintetasa y γ -glutamyl cistein sintetasa. Interesantemente, hay pérdida total del transporte de AA al día 1 PHx y de la expresión del transportador SVCT1 a nivel de proteína, sin cambios en los niveles de ARNm. Concluimos que la post-hepatectomía parcial potencia la capacidad de los hepatocitos de rata para actuar como proveedores unidireccionales de ácido ascórbico.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: mmaldona@udec.cl
Agradecimientos: Beca de Apoyo de Tesis Doctoral 241-21185, Proyectos Fondecyt 109-0501, 113-0842 y 114-0429
Socio Patrocinante: Dra. Coralia I. Rivas

10- EFECTO CITOTÓXICO SINÉRGICO POR COMBINACIÓN DE UN DESACOPLANTE DÉBIL DE LA FOSFORILACIÓN OXIDATIVA Y DOXICICLINA EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA HUMANAS. The synergistic cytotoxic effect on human breast cancer cells by combining a weak uncoupling of the oxidative phosphorylation process and doxycycline.

Fuentes-Retamal, S.1; Peredo-Silva, L.1; Pavani, M.1; Castro-

Castillo, V.2.; Kemmerling, U.3.; Ferreira, J.1

1Programa Farmacología Molecular y Clínica, ICBM Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2Departamento de Química Orgánica y Físico Química. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. 3Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, ICBM Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El cáncer es la segunda causa de muerte a nivel mundial, siendo el cáncer de mama el de mayor incidencia y mortalidad en mujeres. La reciente investigación ha posicionado a la mitocondria como un nuevo blanco terapéutico debido a las alteraciones que presenta este orgánulo dentro de una célula cancerosa frente a sus pares normales y su importancia en el desarrollo tumoral. Una de ellas es el elevado potencial de membrana mitocondrial que presentan las células cancerosas, propiedad que permite dirigir selectivamente grupos farmacóforos mediante el uso de chaperonas químicas, como los cationes lipofílicos deslocalizados. En este sentido, fueron desarrollados en el laboratorio decilpolihidroxibenzoatos unidos a un catión trifenilfosfonio mediante una cadena saturada de diez carbonos con una amplia actividad citotóxica demostrada en diversos estudios in vitro e in vivo. En el presente trabajo se demuestra el efecto que ejercen estos compuestos sobre el metabolismo celular: inducción simultánea de desacoplamiento de la fosforilación oxidativa y disminución de la glicólisis, lo que desencadena una crisis energética evidenciada por la activación de AMPK, efecto demostrado en dos líneas de cáncer de mama, caracterizadas por presentar un fenotipo y metabolismo altamente diferenciado (MCF7 y MDA-MB-231). Además, se demostró que el tratamiento de estos derivados junto a doxiciclina presentó un carácter sinérgico en la actividad citotóxica, evidenciado por una mayor activación de procesos apoptóticos. Este antibiótico demostró ejercer actividad mitocondrial al inhibir la síntesis proteica de este orgánulo, pero además inhibir la actividad de las metaloproteinasas 2 y 9. Por lo anterior se concluye que, la combinación de los derivados de decilpolihidroxibenzoatos junto a doxiciclina, es una potencial herramienta para estudios in vivo posteriores.

Area de la Farmacología: Farmacología oncológica

Dirección de Correo: sebastianfuentesr@gmail.com

Agradecimientos: Proyecto ENL022/16 VID U. Chile (JF), ERANET-LAC ELAC2014/HID328 (UK), Beca doctorado CONICYT (21150774), Proyecto Enlace ENL022/16 Universidad de Chile.

Socio Patrocinante: Dr. Jorge Ferreira

11- SINTESIS DE ÓXIDO NÍTRICO (NO) INDUCIDA POR CAMBIOS DE TEMPERATURA EN LA MACROALGA ULVA COMPRESSA, EVIDENCIA DE DOS VÍAS DE SINTESIS. Temperature-induced NO synthesis from *Ulva compressa* seaweed, evidence for the involvement of two enzymatic pathways.

Calfío, C.2; Nuñez, M.2; Figueroa, X.4; Moenne, A.3; Huidobro-Toro, J.P.1,2

1Centro para el Desarrollo de Nanociencia y Nanotecnología (CEDENNA), 2Laboratorio de Farmacología y 3Biotecnología Marina, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago

de Chile. 4Departamento de Fisiología, Facultad Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Ulva compressa (UC) es una macroalga que habita a lo largo de la costa chilena desde Arica a la Antártica, domina zonas costeras contaminadas con metales pesados, principalmente cobre. En plantas, NO es una molécula de señalización fisiológica que participa además como respuesta a estrés. UC tolera rápidas variaciones de temperatura y repetidos ciclos de desecación dados por cambios de marea. Existen varias vías metabólicas involucradas en la síntesis NO, parte de las cuales son enzimáticas. Una de ellas, utiliza L-arginina como sustrato y es sensible a inhibidores de NOS animal como L-NAME. Otra reduce NO₃- y NO₂- por nitrato reductasas (NR) y es inhibida por tungstato de sodio (TUNA). Se investigó si UC sometida a cambios de temperatura libera NO al medio de cultivo, y se diluyó las vías metabólicas involucradas en su síntesis. Se cultivó UC a 12°C (control) y luego se cambió la temperatura a 25°C en presencia y ausencia de L-NAME y/o TUNA. Cambios rápidos de temperatura en UC incrementan NO extracelular con un curso temporal que sigue al cambio de temperatura (20±4 vs 40±5 nmol/L-1 NO, n=8, P<0.05). El alza de NO disminuye significativamente en presencia de 100 µM L-NAME (40±5 vs 10±3 nmol/L-1 NO, n=4, P<0.05) y TUNA (40±5 vs 20±2 nmol/L-1 NO, n=4, P<0.05) aunque con cursos temporales distintos. Análisis por WB de extractos de UC demostró una banda de 110 KDa, compatible con una NOS animal. Estas evidencias son compatibles con dos vías de síntesis de NO en UC en respuesta a aumentos de temperatura. Deducimos que la secreción de NO es una respuesta rápida que adapta al alga a sobrevida para enfrentar estrés abiótico.

Area de la Farmacología: Fisiología

Dirección de Correo: cdp.calfio@gmail.com

Agradecimientos: Financiado parcialmente por FONDECYT 114-1132 y FB 0807, CEDENNA.

Socio Patrocinante: Dr. Juan Pablo García-Huidobro

12- NIVELES ELEVADOS DE PROTEÍNAS CRMP-2 FOSFORILADA, SEMAFORINA-4D Y PROTEÍNA VIRAL TAX EN LINFOCITOS DE PACIENTES CON PARAPARESIA ESPÁSTICA INFECTADOS CON HTLV-1 Y RELACIÓN CON MIGRACIÓN. Increased levels of phosphorylated-CRMP-2, semaphorin-4D and Tax viral proteins in HTLV-1 infected patients with spastic paraparesis and their relation with migration.

Valenzuela, M.A.1; Puente, J.1; Alberti, C.1; Quintremil, S.1; Medina, F.1; Ramírez, E.2,3; Cartier, L.4; Pando, M.E.1.

1Depto Bioquímica y Biología Molecular, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile; 2Programa de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; 3ISP; 4Depto. Ciencias Neurológicas, Facultad Medicina, Universidad de Chile.

Las características histopatológicas de la Paraparesia Espástica Tropical asociada a la infección con el retrovirus HTLV-1, muestran que las lesiones en la médula espinal de los pacientes corresponden a un cuadro esencialmente degenerativo por la pérdida axonal y desmielinización de los haces córticoespinales (axones más largos del SNC). Clínicamente se expresa por el

desarrollo progresivo de una marcha pareto-espástica, vejiga neurogénica y suele acompañarse de un síndrome de sicca. El principal blanco in vivo del HTLV-1 son las células T-CD4+ (en Chile prevalencia 1/1000 sujetos dadores de sangre) y hasta un 3% de los infectados desarrolla Paraparesia, siendo el resto portadores del virus. En cultivos neuronales hemos mostrado un papel de la proteína viral Tax en la neuropatología. Igualmente, hemos observado que Tax extracelularmente se encuentra con un complejo de Tax-ubiquitinado con Semaforina-4D soluble (sSema-4D). En el presente trabajo se presenta un estudio comparativo de cambios en proteínas de las T-CD4+ en pacientes y en portadores para comprender el traspaso de linfocitos infectados a través de la barrera hematoencefálica que darían cuenta de la presencia de Tax en el SNC (LCR). Se midieron los niveles relativos de proteínas asociadas a migración linfocitaria como CRMP-2-fosforilada, a quimioatracción celular como Sema-4-D y los niveles de Tax secretados de linfocitos y presentes en el plasma. CRMP-2-fosforilada, Sema-4D (unida a membrana) y Tax se encuentran elevadas intracelularmente e igualmente están elevadas Tax secretada y sSema-4D proteolizada de la membrana por MT-1-MMP. Los estudios de quimioatracción de T-CD4+ por sSema-4D se correlacionaron con el nivel de CRMP-2-fosforilado, lo que junto al aumento de CRMP-2-fosforilada darían cuenta de una mayor migración al SNC de los linfocitos activados por Tax.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: mavalenz@uchile.cl
Agradecimientos: Fac. Cs. Químicas y Farmacéuticas

13- LA DESTINACIÓN DE LA PROTEÍNA DE UNIÓN AL FACTOR LIBERADOR DE CORTICOTROPINA A LA VÍA DE SECRECIÓN REGULADA ESTÁ DETERMINADA POR UNA ALFA-HÉLICE ANFIPÁTICA CONSERVADA PRESENTE EN SU AMINO TERMINAL. The sorting of corticotrophin releasing factor binding protein to the regulated secretory pathway is determined by a conserved amphipathic alpha-helix in its amino-terminal.

Bastías, C.P.; Blanco, E.H.; Gysling, K.

Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La proteína de unión al factor liberador de corticotropina (CRF-BP) es una glicoproteína de 37 kDa, que une CRF y Urocotina con alta afinidad. CRF-BP fue primeramente asociada con la respuesta de estrés al actuar como una proteína inhibitoria del factor liberador de corticotropina (CRF), componente clave en dicha respuesta. Posteriormente mostramos que CRF-BP ingresa a la vía de secreción regulada (VSR) como cualquier precursor peptídico. Sin embargo, se desconoce la señal de destinación de CRF-BP hacia la VSR. El objetivo del presente trabajo fue determinar la señal de destinación de CRF-BP. Para ello utilizamos herramientas in silico de predicción de estructura secundaria (GORV y NPS@) y de proyección de alfa hélice (PEPWHEEL) y estudios de destinación de quimeras sobre-expresadas en células PC12. Los resultados del análisis in silico muestran la presencia de un dominio alfa hélice anfipático en la región amino terminal, característico de otros dominios de destinación a la VSR, en la secuencia de CRF-BP. El dominio alfa-hélice anfipático (26-50)-CRFBP es altamente conservado entre diferentes especies de mamíferos. Los

resultados de expresión heteróloga en células PC12 mostraron que el dominio alfa-hélice anfipático (26-50)-CRFBP es capaz de restablecer la destinación de una variante quimérica del precursor proCART hacia la VSR. Más aun, la presencia del dominio alfa-hélice anfipático (26-50)-CRFBP en la variante quimérica proCART permitió su secreción gatillada por un estímulo despolarizante. Nuestros resultados confirman que la alfa-hélice anfipática conservada presente en el amino terminal de CRF-BP es responsable de su destinación a la VSR.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: cpbastias@gmail.com
Agradecimientos: Financiado por proyecto FONDECYT N° 111-0392 y 115-0244.

14- ASOCIACIÓN DE NURR1 CON LOS CO-REPRESORES TRANSCRIPCIONALES COREST Y EL CONTROL DEL FENOTIPO DOPAMINÉRGICO. Nurr1 association with CoREST transcriptional co-repressors and control of the dopaminergic phenotype.

Leighton, D.1; Sáez, J.1; González, M.1; Herrera, M.1; Burger, C.2; Zamorano, P.3; Andrés, M.E.1

Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Los circuitos formados por las neuronas dopaminérgicas mesencefálicas regulan las conductas motivadas y los movimientos voluntarios. Existen enfermedades asociadas a estas neuronas como son la enfermedad de Parkinson, conductas compulsivas y adicción a drogas. Nurr1 es un factor de transcripción de vital importancia para la generación del fenotipo dopaminérgico en el desarrollo, como también para su mantención en la adultez. Este factor de transcripción modula la expresión de genes del fenotipo neuroquímico dopaminérgico como la tirosina hidroxilasa y el transportador de dopamina, entre otros. También se ha reportado que el corepresor transcripcional CoREST1 regula el desarrollo de las neuronas dopaminérgicas al reprimir la acción de Nurr1. CoREST1 pertenece a una familia de proteínas que también incluye CoREST2 (rco2) y CoREST3 (rco3). Los co-represores CoREST (1, 2 y 3) forman complejos con la desmetilasa LSD1 y las desacetilasas HDAC1/2, modificando epigenéticamente a la cromatina. CoREST1 ha sido ampliamente estudiado, sin embargo, no existen muchos estudios sobre el rol de sus parálogos. Todos los CoREST se expresan en neuronas dopaminérgicas, pero aún no se conoce el rol de CoREST2 y CoREST3 en estas neuronas. El objetivo de este estudio es realizar un Knock Down (KD) de CoREST2 en neuronas dopaminérgicas mesencefálicas en cultivo utilizando Lentivirus que contienen shRNAs específicos para CoREST2. Además, estamos determinando los dominios de interacción de los CoREST y Nurr1 mediante mutantes de delección y ensayo de co-inmuno precipitación de proteínas.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: djleighton@uc.cl
Agradecimientos: Dra. María Estela Andrés, Dra. Katia Gysling
Socio Patrocinante: Dra. Katia Gysling

15- EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE BENZOPIRAN-4-ONAS ALQUILADAS EN CEPAS MULTIRRESISTENTES DE ESCHERICHIA COLI Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS. Evaluation of antibacterial activity of alkyl benzopyran-4-ones against multidrug-resistant strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Vásquez-Martínez, Y.1,2, Osorio-Olivares, M.3, Cancino, T.2, Cortez-San Martín, M.2

1Programa Centro de Investigaciones Biomédicas Aplicadas, Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile. 2Laboratorio de Virología Molecular y Control de Patógenos, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. 3Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María.

En los últimos 10 años se ha producido un rápido incremento en la incidencia de infección y de colonización por bacterias multirresistentes en pacientes hospitalizados. Este incremento se atribuye a la selección de bacterias intrínsecamente resistentes y la aparición de mecanismos eficaces de resistencia y de transmisión cruzada entre pacientes. Todo esto ha transformando a la multirresistencia a los antibióticos en un problema global urgente. Al contrario de la estrategia adoptada por la industria farmacéutica, los expertos recomiendan dirigir las investigaciones al desarrollo de nuevas clases de drogas antibacterianas, que actúen por mecanismos de acción diferentes a los antibióticos actuales, de manera de dar respuesta efectiva a la resistencia bacteriana. En este trabajo se presenta un estudio de las actividades antibacterianas de dos series de benzopiran-4-onas sintéticas: preniladas y C-2 alquiladas con distintos patrones de sustitución. Se estudió la actividad de los compuestos frente a las cepas *Escherichia coli* (ATCC25922), *E. coli* multirresistente (33.1), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922), *S. aureus* multirresistentes MRSA 622-4 y MRSA 97-7 mediante la determinación del 50% de la concentración mínima inhibitoria (MIC50) utilizando el método de microdilución establecido por el National Committee for Clinical and Laboratory Standard (NCCLS). De los resultados obtenidos destacan algunos de los compuestos por su selectividad y potencia con valores de MIC50 menores a 10 µg/mL y varios órdenes de magnitud menores al control positivo utilizado.

Area de la Farmacología: Farmacoquímica

Dirección de Correo: yessen.vasquez@usach.cl

Agradecimientos: Agradecimientos al Proyecto DICYT 021601VM y a la Dra. Marcela Wilkens por la donación de las cepas bacterianas.

16- ESTUDIO IN-VITRO DE BENCILFENILCETONAS COMO INHIBIDORES DE 15-LIPOXIGENASA DE SOYA (15-SLOX) Y 5-LIPOXIGENASA HUMANA (5-HLOX). *In-vitro* study of benzyl phenyl ketones as inhibitors of soybean 15-Lipoxygenase (15-sLOX) and human 5-lipoxygenases(5-LOX).

Torrent, C.; Mascayano, C.

Laboratorio de Físico Química Orgánica, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Las lipoxigenasas (LOX) son una familia de enzimas que contienen hierro no hémico y que catalizan la dioxigenación de ácidos grasos poliinsaturados, dando como producto hidroxiperóxidos de ácidos grasos. Las lipoxigenasas han sido ampliamente estudiadas debido a su participación en la respuesta inflamatoria, y en los procesos inflamatorios, tanto en su origen como en su resolución. Debido a que estas enzimas se relacionan con diversas enfermedades, la búsqueda de inhibidores específicos para ellas se ha transformado en un foco interesante de investigación, ya que a la fecha solo hay un inhibidor disponible comercialmente. En este trabajo se plantea que la presencia de grupos hidroxilos, aromáticos, el efecto de diferentes sustituyentes en las bencilfenilcetonas, y su semejanza estructural con inhibidores conocidos de LOX pueden cumplir un rol clave en la inhibición de 15-LOX y 5-LOX. Para esto, en primer lugar se analizó la serie completa de moléculas para evaluar su capacidad de inhibir a la enzima, mediante ensayos espectrofotométricos y de fluorescencia. Luego se determinó el valor IC50 de las mejores moléculas de la serie para ambas isoformas. Posterior a esto se determinó mediante cinética enzimática el mecanismo de inhibición, obteniéndose para (k418) un comportamiento no-competitivo ($K_i 3.6 \pm 1.4 M$) por otro lado, el mejor inhibidor de 5-LOX (k206) fue de características competitivas ($K_i 0.6 M$). Este trabajo, pudo determinar la variabilidad en el comportamiento de las bencilfenilcetonas a dos tipos de isoformas de LOX.

Area de la Farmacología: Farmacoquímica

Dirección de Correo: clautorrent@gmail.com

Agradecimientos: DICYT-USACH 021641MC; Fondecyt 1120379

Socio Patrocinante: Dr. Juan Pablo García-Huidobro

17- EMPLEO DE N-BENCILTRIPTAMINAS PARA EXPLORAR EL BOLSILLO EXTENDIDO DE RECEPTORES 5-HT2. Use of N-benzyltriptamines to explore the 5-HT2 receptor extended binding pocket.

Toro-Sazo, M.1; Brea, J.2; Loza, M.1.2; Cassels, B.K.1

1Laboratorio de Química Biodinámica, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. 2Centro de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas, Universidad de Santiago de Compostela.

Estudios mutacionales y de acoplamiento molecular computacional indican que muchas drogas que comparten una estructura de feniletilamina, y ocasionalmente 5-metoxitriptamina, con un grupo bencilo unido al átomo de nitrógeno básico, algunas de las cuales han aparecido en el mercado ilícito con el nombre general de "NBOMes", se unen a los receptores 5-HT2 ubicando la porción ariletilamínica en el sitio ortoestérico de estos receptores. El grupo bencilo sustituido, en cambio, se orienta hacia el bolsillo extendido, espacioso y flexible de los mismos. Las variaciones estructurales en el grupo bencilo afectan de manera moderada la afinidad por los receptores 5-HT2A, 5-HT2B y 5-HT2C. Dado que no se observa un patrón en cuanto a su casi siempre insignificante selectividad entre los subtipos, postulamos que el reemplazo de una feniletilamina por una triptamina, bajando la afinidad por el sitio ortoestérico, permitiría evidenciar mejor el efecto de cambios estructurales en el bolsillo extendido. Sintetizamos 34 triptaminas N-benciladas con

diversos patrones de sustitución en el grupo bencilo y las sometimos a estudios de “binding” a receptores expresados establemente en células CHO-h5-HT2A, CHO-h5-HT2B y HeLa-h5-HT2C. Tal como se esperaba, en los casos comparables las afinidades resultaron menores que las de los derivados descritos de 5-metoxitriptamina y de feniletilaminas alucinógenas. Por el contrario, aunque casi todos los compuestos mostraron poca selectividad por subtipos, dos de nuestros análogos mostraron una preferencia moderada pero significativa por el receptor 5-HT2C. Esta selectividad es poco frecuente y el hallazgo de un nuevo tipo estructural que la presenta es un punto de partida interesante para el eventual desarrollo de fármacos inhibidores del apetito o para el tratamiento de disfunciones sexuales.

Area de la Farmacología: Farmacoquímica
Dirección de Correo: miguel.toro16@gmail.com
Agradecimientos: FONDECYT 211-40358 y 115-0868

18- PAPEL DE AMINOCROMO EN LA GENERACIÓN DE CAMBIOS EPIGENÉTICOS Y SU ASOCIACIÓN CON LOS MECANISMOS DE PROTEÓLISIS INTRACELULAR. Aminochrome role in the generation of epigenetic changes and its association with intracellular proteolysis mechanisms.

París, I.B.1; Briceño, A.2; Muñoz, P.2; Brito, P.1; Salinas, N.1; Cortés, K.1; Segura-Aguilar, J.2.

1Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás, Viña del Mar, Chile. 2Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile.

Aunque se desconocen los mecanismos responsables de la muerte de las neuronas dopaminérgicas en la enfermedad de Parkinson, la acumulación de proteínas agregadas podría tener un papel primordial. Actualmente, es un gran desafío dilucidar los mecanismos que ocurren antes de la muerte neuronal, donde mecanismos epigenéticos podrían estar participando. Una característica de esta enfermedad es el deterioro de los mecanismos de degradación proteica, procesos dependientes de una red de microtúbulos intacta. Previamente publicamos que el aminocromo forma aductos con tubulina e induce la despolimerización de microtúbulos, lo cual sugiere que los mecanismos de proteólisis intracelular podrían verse afectados. El objetivo de este estudio fue evaluar si aminocromo inhibe la fusión de autofagosomas con lisosomas y altera la expresión/actividad de las enzimas deacetilasas de histonas (HDACs) y ADN metiltransferasas (DNMTs). Los resultados mostraron que aminocromo disminuye la colocalización de LC3 β -LAMP1 en células SH-SY5Y, sugiriendo que aminocromo inhibe la fusión de autofagosomas con lisosomas. Esta inhibición también fue observada en presencia de inductores de autofagia como rapamicina y trehalosa siendo potenciado este efecto inhibitor en presencia de vinblastina, un agente que despolimeriza microtúbulos. En estas condiciones se observa un incremento en la expresión de los genes LC3B y UBI. La expresión de genes puede ser regulada por el estado de metilación del gen y la acetilación de histonas. Así, nuestros primeros resultados mostraron que aminocromo disminuye la actividad de HDACs y la expresión de la proteína DNMT3a. En consecuencia, las alteraciones en la red de

microtúbulos podría ser uno de los principales responsables de la muerte celular donde los cambios en la expresión de genes serían insuficientes para evitar este daño y mecanismos epigenéticos podrían cumplir un papel importante.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: iparis@santotomas.cl
Agradecimientos: Financiado por Proyecto Universidad Santo Tomás N° 0000022543 y Fondecyt N° 112-0337.

19- CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN POR HPLC DE UN COMPUESTO BIOACTIVO AISLADO DE LAS FLORES DE *Chiranthodendron pentadactylon* Larr (Malvaceae) Characterization and hplc quantification of a bioactive compounds isolated from the flowers of *Chiranthodendron pentadactylon* Larr (Malvaceae)

Magos-Guerrero, G.A., Soto-Núñez, M., Escobar-Ramírez, J.L., Santiago-Mejía, J.

Laboratorio de Fitofarmacología, Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

C. pentadactylon Larr es un árbol originario de México, conocido popularmente como flor de manita (FM). Los aztecas (siglos XIV y XV d.C.), emulaban la infusión de las flores para tratar diversas enfermedades. Actualmente se utiliza como cardiotónico en afecciones cardíacas, y para regular la presión arterial. En estudios preclínicos realizados en nuestro laboratorio, un extracto metanólico (EMeOH) de FM mostró significativa actividad hipotensora en ratas normotensas e hipertensas despiertas, y actividad vasorelajante en anillos de aorta y en el lecho mesentérico aislado de rata. El estudio fitoquímico biodirigido de este extracto, condujo al aislamiento de un principio activo que produce efectos similares a los observados con el EMeOH. Con el propósito de caracterizar su comportamiento cromatográfico por HPLC se realizaron cromatogramas del principio activo comparándolo con un estándar de referencia. Las muestras fueron analizadas mediante un HPLC equipado con una bomba 600 y un detector UV-Vis 2487 marca Waters, USA. Para la separación se empleó una columna Sorbax SB-C18 (partículas de 5micras, 4.6 x 150mm), eluida con un gradiente de Agua-Ácido Fórmico (5%) y Metanol-Acido fórmico (5%) a un flujo de 0.8 mL/min. Los resultados muestran que a una longitud de onda de 520nm se obtiene un pico de absorbancia con un tiempo de retención igual al del estándar empleado. Este hecho señala que el compuesto responsable de la actividad cardiovascular de la FM pertenece al grupo de las antocianinas.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales
Dirección de Correo: gamagos@unam.mx
Agradecimientos: PAPIME-26-PE204915

20- EFECTO DE CUMARINAS NATURALES Y SINTÉTICAS SOBRE LA ANHIDRASA CARBÓNICA DE *HELICOBACTER PYLORI*.
Effect of natural and synthetic coumarins upon *Helicobacter pylori* carbonic anhydrase.

Pastene, E.1, Carvajal, R.1,2, Zúñiga, F.1, Parada, V.1, Torres, E.1,2, Avello, M.1, Alarcón, J.3, Aranda, M.1, García, A.2

1Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción; 2Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción; 3Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Bio Bio.

Several synthetic coumarins were prepared by classic Peckmann condensation of phenols with β -keto esters. Natural coumarins along with these new synthetic derivatives were purified and isolated by preparative techniques such as CPC and HPLC and their formation was followed and confirmed by TLC and HPLC-DAD-ESI-MS/MS. The effect of hydroxylation and introduction of various groups (e.g. -Cl, -Br, -CH₃) was investigated. Inhibition upon carbonic anhydrase (CA) was assessed using human I and II isoforms and recombinant alpha-CA isozyme of *Helicobacter pylori* produced in our laboratory. Inhibition was evaluated measuring the esterase activity and the displacement of dansylamide. Overall, 4-hydroxycoumarins shown high affinity towards all CA isozymes assayed with Ki values ranging from 20 nM to 2.1 μ M. Such derivatives also were able to reduce the ATP levels and adherence of *H. pylori* to AGS cells. Using an in silico approach (Docking) the most probable binding mode of these compounds is proposed. Our preliminary findings suggest that these compounds bind to the CA in at least two different sites. Our results could be used as chemical framework for the design of new drugs that help to the prevention and treatment of the colonization by *H. pylori* of gastric mucosa (Proyectos: Fondecyt 1150948; Fondecyt N° EQM 130209).

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales

Dirección de Correo: edgar.pastene@gmail.com

Agradecimientos: Proyectos: Fondecyt 115-0948; Fondecyt N° EQM 130209 y EQM N°150025

Socio Patrocinante: Dr. Edgar Pastene Navarrete

21- CAPACIDAD INHIBITORIA DE EXTRACTOS DE PRODUCTOS NATURALES SOBRE LA EXPRESIÓN DE HUNTINGTINA EN UN MODELO CELULAR DE LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON.

Inhibitory capacity of natural products extracts on the expression of Huntingtin in a cellular model of Huntington's disease.

Pérez, R.1,3; Rivas, A.3,5; Valenzuela, G.1; Seguel, I.2; Delporte, C.1; Hetz, C.3,4,5

1Laboratorio de Productos Naturales, Departamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 2INIA, Carillanca, Chile. 3Biomedical Neuroscience Institute, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 4Program of Cellular and Molecular Biology, Institute of Biomedical Sciences, Center for Molecular Studies of the Cell, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 5Center for Geroscience, Brain Health and Metabolism, Santiago, Chile.

Las enfermedades neurodegenerativas (EN) han aumentado su incidencia en los últimos años. En Chile se estima que alrededor del 7% de los mayores de 60 años padecen algún tipo de estas enfermedades, y los costos asociados para los pacientes y sus familias ascienden a US\$14.000 dólares anuales. Gran parte de las EN se caracteriza por poseer una causa común a nivel molecular: la función anormal y/o agregación de diversas proteínas intracelulares debido a un mal plegamiento de las mismas, lo que últimamente desencadena la muerte de ciertos tipos de células en el cerebro. En el caso de la enfermedad de Huntington (EH), una mutación en el gen de la Huntingtina (HTT) provoca que esta proteína se exprese con una extensión de poliglutamina en el extremo N-terminal, causando un cambio conformacional que conlleva a la producción de fragmentos tóxicos, acumulación de oligómeros, fibrillas, e inclusiones. En este estudio, se analizó la capacidad de extractos obtenidos desde especies vegetales nativas y productos apícolas, de inhibir la expresión y agregación de HTT con una extensión de glutamina de 74 repeticiones en la línea celular HEK293 estable e inducible con doxiciclina, realizando una cuantificación mediante microscopía automatizada. De los 28 extractos (NP) analizados en diferentes concentraciones, solo los extractos provenientes de productos apícolas NP023, NP025, NP027 y NP030 a una concentración de 100 μ g/mL disminuyeron la expresión y agregación de HTT, sin inducir toxicidad en las células. Así, podemos concluir que estos extractos representan una potencial fuente de compuestos químicos activos frente a la EH.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales

Dirección de Correo: rpereza@postqvf.uchile.cl

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT N°113-0155. INIA Carillanca, Chile. Proyecto COPEC-UC N° 2013.R.40.

22- ÁCIDO 3,4-DIHIROXIFENILACÉTICO Y SULFORAFANO PROTEGEN CONTRA LAS ALTERACIONES INDUCIDAS POR COLESTEROL EN LA CADENA TRANSPORTADORA DE ELECTRONES Y FOSFORILACIÓN OXIDATIVA EN CÉLULAS BETA PANCREÁTICAS.

3,4-dihydroxyphenylacetic acid and sulforaphane protects against cholesterol-induced impairments in the electron transport chain and oxidative phosphorylation in pancreatic beta cells.

Carrasco-Pozo, C.1,2; Tan, K.2; Gotteland, M.1; Borges, K.2.

1Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina. Universidad de Chile, Chile. 2School of Biomedical Sciences, The University of Queensland, Brisbane, QLD 4072, Australia.

El colesterol cumple un papel importante en la inducción de daño a las células beta pancreáticas por medio de la generación de estrés oxidativo y disfunción mitocondrial. Esta alteración se caracteriza por una deteriorada capacidad de secreción de insulina en respuesta a glucosa. El ácido 3,4 dihidroxifenilacético (ES) es un metabolito microbiano de quercetina y otros flavonoles, que ha sido escasamente estudiado y que presenta propiedades antioxidantes y protectores de la función mitocondrial. El sulforafano (SFN) es un isotiocianato natural derivado de un glucosinolato encontrado en los vegetales crucíferos, especialmente brócoli, y es un potente activador de Nrf2. Este estudio tuvo como objetivo determinar los efectos protectores de ES y SFN contra la alteración de la bioenergética mitocondrial

inducida por colesterol y sus implicancias sobre la función pancreática en células beta Min-6. Mecanismos moleculares asociados a la función mitocondrial también fueron estudiados. ES y SFN protegieron contra las alteraciones en la función mitocondrial inducidas por colesterol, específicamente mejoraron la eficiencia de acoplamiento mitocondrial (mejorando la respiración basal y máxima, el turnover de ATP y la capacidad de reserva) y el flujo de electrones en la cadena transportadora (mejorando la respiración mediada por complejo I, II y IV). ES y SFN también inhibieron el descenso en la expresión de sirtuin 1 inducida por colesterol y aumentaron dramáticamente la expresión de Pgc-1alfa. ES y SFN protegieron contra la alteración inducida por colesterol en la liberación de insulina mediada por glucosa en células Min6. Nuestros datos proporcionan una base científica que sustenta el desarrollo de ES y SFN como nutracéuticos para preservar la función de las células beta y prevenir la progresión de prediabetes a diabetes.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales
Dirección de Correo: catalinacarrasco@med.uchile.cl
Agradecimientos: Fondecyt 111-30232
Socio Patrocinante: Dra. Catalina Carrasco Pozo

23- ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA IN VITRO DE DIVERSOS GENOTIPOS DE MURTILLA FRENTE A ENZIMAS RELACIONADAS A LA REGULACIÓN DE LA GLICEMIA. Comparative study of in vitro inhibitory activity of different murtilla genotypes against enzymes related to glycemic regulation.

Veas, R.1; Arancibia-Radich, J.1; Peña-Cerda, M.1; Bugeño, I.1; Seguel, I.2; Delporte, C.1

1Laboratorio de Productos Naturales, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. 2Instituto de Investigación Agropecuaria, INIA, Carillanca, IX Región, Chile.

Ugni molinae Turcz., Myrtaceae conocida normalmente como murta o murtilla es un arbusto nativo siempre-verde del centro-sur y sur de Chile. La medicina folclórica chilena le atribuye muchas propiedades y entre sus usos destaca como tratamiento para la diabetes al consumir la infusión de sus hojas y ramas. Estudios realizados en nuestro laboratorio han demostrado la presencia de ácidos triterpénicos pentacíclicos y un alto contenido de polifenoles. El objetivo de este estudio fue comparar la actividad inhibitoria de extractos de hoja de distintos genotipos de murtilla desde diferentes estudios in vitro frente a alfa-glucosidasa, glicógeno fosforilasa a (GPa) y proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP1B), enzimas que regulan la glicemia. Entre los genotipos con actividad inhibitoria más potente frente a alfa-glucosidasa destacan el 23-2 donde el extracto etanólico (EET) obtuvo una CI50 de $1,12 \pm 0,07$ micg/mL y el 27-1 donde el extracto de acetato de etilo (EAE) obtuvo una CI50 de $8,20 \pm 0,20$ micg/mL, seguido por los genotipos 19-1 y 22-1. Al comparar con los resultados obtenidos para GPa y PTP1B, los 4 genotipos vuelven a obtener las mejores actividades inhibitorias. Los genotipos 19-1, 27-1, 23-2 y 22-1 de murtilla, poseen buenas proyecciones en estudios in vivo dada su actividad inhibitoria frente a deferentes enzimas que regulan la glicemia en comparación a los compuestos de referencia ($p < 0,05$). Se logra dar

un valor agregado a esta especie vegetal como potencial fitofármaco con múltiples blancos farmacológicos.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales
Dirección de Correo: re.veas.a@gmail.com
Agradecimientos: Agradecimientos: FONDECYT 113-0155; Becas Conicyt 211-30672 y 211-20377; INIA, Carillanca, Chile.

24- LA ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR NICOTÍNICO DE ACETILCOLINA ALFA-7 POR ALCALOIDES DE CYTISUS SCOPARIUS INDUCE NEUROPROTECCIÓN EN UN MODELO CELULAR DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER. Activation of nicotinic acetylcholine receptor alpha-7 by *Cytisus scoparius* alkaloids induce neuroprotection in a cellular model of Alzheimer's disease.

Gavilán, J.1; Celis, T.M.1; Triviño, S.2; Mennickent, D.1; Pérez, C.2; Fuentealba, J.1

1Laboratorio de Screening de Compuestos Neuroactivos/ Departamento de Fisiología/ Facultad de Ciencias Biológicas/ Universidad de Concepción. 2Laboratorio de Química de Productos Naturales/ Departamento de Botánica/ Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas/ Universidad de Concepción.

Cytisus scoparius es una planta caracterizada por presentar alcaloides quinolizidínicos, capaces de activar receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR); esta activación ha demostrado ser positiva en el sistema nervioso central, y su estudio resulta de particular interés en patologías neurodegenerativas como la Enfermedad de Alzheimer (EA). El principal agente tóxico de esta patología es el péptido beta-amiloide, el cual induce una falla sináptica crónica y neurodegeneración. En este trabajo, se evaluó el efecto neuroprotector de lupanina y 17-oxo-esparteína, alcaloides aislados de *C. scoparius*, frente a la toxicidad del péptido beta-amiloide, en modelos in vitro de la EA. Los resultados muestran que lupanina (0,03 μ M) y 17-oxo-esparteína (0,03 μ M) incrementan la viabilidad de células PC-12 en un 40% y previenen la toxicidad inducida por el péptido beta-amiloide en un 60% (n=3). Paralelamente, en neuronas hipocámpales de ratón, estos alcaloides incrementaron la frecuencia de las transitorias de calcio intracelular (lupanina: 60%; 17-oxo-esparteína: 40%) y previnieron los efectos del péptido en un 60%, lo que indica una potenciación de la actividad sináptica y protección de la red neuronal. Los efectos neuroprotectores inducidos por estos alcaloides fueron bloqueados al utilizar alfa-bungarotoxina, un antagonista nicotínico de nAChR alfa-7. Adicionalmente, se observó que lupanina y 17-oxo-esparteína incrementan la fosforilación de Akt en células PC-12 en un 50 y 30% respectivamente, permitiendo correlacionar la activación de nAChR con una señalización neuroprotectora intracelular. Nuestros resultados sugieren que la neuroprotección inducida por lupanina y 17-oxo-esparteína están asociados a la activación de nAChR, particularmente el alfa-7, pudiendo representar un punto de partida en la caracterización de nuevas moléculas anti-EA a partir de fuentes naturales.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales
Dirección de Correo: javieragavilan@udec.cl
Agradecimientos: Proyectos FONDECYT 113-0747 y 116-1078 (JF)
Socio Patrocinante: Dr. Jorge Patricio Fuentealba Arcos

25- ANTOCIANINAS DE *A. CHILENSIS* PREVIENEN FISIÓN MITOCONDRIAL Y ACUMULACIÓN DE LÍPIDOS INDUCIDAS POR OLANZAPINA. Anthocyanins from *A. chilensis* prevent olanzapine-induced mitochondrial fission and lipid accumulation.

Rojo, L.E.1, del Campo, A.4, Cubillos-Robles, K.1, Gaspar, P.A.2, Vélez, D.K.1, Mateluna, C.1, Di Capua, G.1, Pastene, E.3

1Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile. 2Translational Psychiatry Laboratory, Clínica Psiquiátrica Universitaria, Hospital Clínico Universidad de Chile, Santiago, Chile. 3 Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Chile. 4Centro Estudios Moleculares de la Celula (CEMC), Fac. Cs. Qcas. y Farmaceuticas & Facultad Medicina, Universidad de Chile.

Antipsicóticos de segunda generación (ASG) han mejorado la calidad de vida de miles de millones de pacientes de esquizofrenia (SZ) en todo el mundo. Además de su uso en pacientes con SZ, recientemente ha aumentado significativamente el uso de ASG por pacientes con otros trastornos psiquiátricos clasificados en DSM-IV, incluyendo a millones de niños y adultos no esquizofrénicos. Los usuarios de ASG pueden desarrollar alteraciones cardiometabólicas graves en corto tiempo, las cuales se deben a disfunciones de los centros hipotalámicos de la saciedad y la acumulación de lípidos en tejidos periféricos. Olanzapina (OLZ) es el fármaco ASG más cardiotoxico de la categoría. Se ha descrito que la desregulación del factor transcripcional SREBP1c es un evento clave en esteatosis y acumulación de lípidos inducida por ASG. En este trabajo mostramos que antocianinas de *Aristolochia chilensis* (Maqui) previenen el aumento de peso inducido por OLZ en ratas y la acumulación de lípidos en adipocitos 3T3 en cultivo. Delfinidina 3,5-diglucosido (DG) y delfinidina 3-sambubiosido, 5-glucosido (DS), las principales antocianinas de Maqui, mostraron efectos tipo-insulina evitando la fisión mitocondrial inducida por OLZ en células de músculo esquelético (L6 ATCC CRL-1458). Interesantemente, hasta la fecha este es el primer reporte que describe el mecanismo cardiotoxico de OLZ mediado por la alteración de la morfología mitocondrial. Creemos que estos resultados apoyan el efecto protector de antocianinas de Maqui en pacientes de alto riesgo metabólico inducido por ASG. Los resultados del presente trabajo se sustentan en estudios de farmacológicos, de espectrometría de masas, citoquímica, docking molecular, western blot y PCR en tiempo real.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales
Dirección de Correo: leonel.rojo@gmail.com
Agradecimientos: Financiamiento por CONICYT, Chile, Proyecto FONDECYT N° 111-40915

26- ROL DE ÁCIDO QUILLAICO OBTENIDO DESDE QUILLAJA SAPONARIA MOL. EN LA EXPRESIÓN DE COX-2 E INOS Y EN LA TRANSLOCACIÓN DE NF-κB. Role of quillaic acid obtained from *Quillaja saponaria* Mol. in the expression of COX-2 and iNOS and translocation of NF-κB.

Rodríguez-Díaz, M.; Otero, C.; Cabañas, M.; Torres, N.

Laboratorio de Investigación de Química y Farmacia, Facultad de

Medicina, UNAB.

Quillaja saponaria Mol. es una especie endémica de Chile. En su composición se encuentra un gran porcentaje de saponinas, de la cual se puede obtener la principal aglicona: ácido quillaico. Este compuesto ha demostrado in vivo un efecto analgésico y antiinflamatorio. Con el objeto de conocer en profundidad el efecto antiinflamatorio y mecanismo molecular del ácido quillaico, se realizaron estudios in vitro en la línea celular RAW 264.7, macrófagos provenientes de ratón. Las células fueron estimuladas con LPS para conseguir un efecto inflamatorio reflejado en un aumento de la enzima proinflamatoria COX-2 e iNOS, además se estudió el efecto antiinflamatorio del ácido quillaico evaluando el comportamiento del factor nuclear NF-κB mediante inmunofluorescencia y la cantidad de enzima en presencia de distintas concentraciones de esta aglicona utilizando el método de Western Blot. Se demostró que el aumento de la concentración de ácido quillaico, proveniente de *Quillaja saponaria* Mol. provocó una inactivación en la translocación del factor nuclear NF-κB y una disminución en la cantidad de enzima proinflamatoria expresada, concluyendo que el ácido quillaico presenta actividad antiinflamatoria y su mecanismo de acción podría estar directamente relacionado con la disminución de enzimas proinflamatorias en consecuencia de la inactivación del factor nuclear NF-κB.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales
Dirección de Correo: maiterd1974@gmail.com
Agradecimientos: Natural Response S.A por donar la saponina de quillay ULTRA dry 100Q

27- ACETATO DE MATURINA COMO POSIBLE ANTAGONISTA DE PPARs Y SU EFECTO ANTINFLAMATORIO. Maturine acetate as PPARs antagonist potential and anti-inflammatory effect.

Almanza, P.J.2, Giacoman, M.A.1, Zamilpa, A.A.3, Mora, R.B.1 Alarcón, A.F.J.2

1Posgrado en Biología Experimental, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Cd. de México, México. 2Departamento de Farmacología, Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM-I. Cd. de México, México. 3Departamento de Fitoquímica Farmacológica del Centro de Investigación Biomédica del Sur.

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad caracterizada por hiperglucemia crónica debido a resistencia a la insulina. Altas concentraciones de glucosa generan incremento de EROS, lo cual favorece la producción de citocinas inflamatorias, propiciando un estado inflamatorio crónico sistémico, característico de los pacientes con DM2. El tratamiento actual de la DM2 se enfoca en el uso de antihiper-glucémicos o hipoglucémicos, dejando de lado el estado inflamatorio. Un blanco molecular que se asocia con ambos efectos es la activación de PPARγ, el cual también favorece la sensibilización a la insulina, inhibiendo la activación de NF-κB, y por ende la producción de citocinas inflamatorias. *Psacalium peltatum* es una planta utilizada en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de DM2 que presenta efecto antiinflamatorio, considerándose una fuente importante de moléculas con efectos

benéficos en la DM2. En el presente trabajo se evaluó el efecto antiinflamatorio del acetato de matorina (AM) aislado de *P. peltatum* en un modelo de inflamación aguda inducido por 13-acetato-12-Orto-tetra-decanoiforbol (TPA) y se determinó la expresión de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, TNF α), adiponectina, GLUT4 y PPAR γ en macrófagos en cultivo. Los resultados mostraron que AM disminuye de manera significativamente el edema auricular. Este compuesto también redujo los niveles de expresión tanto del ARNm como de proteína de las citocinas proinflamatorias. Interesantemente, AM redujo significativamente la expresión de esta PPAR γ , así como de GLUT4 y adiponectina. Por lo tanto, otros mediadores moleculares como la COX y los canales de potasio dependientes de ATP deben de estar implicados en los efectos antiinflamatorios y antidiabéticos del AM.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales
Dirección de Correo: jcap@xanum.uam.mx (J.C. Almanza-Pérez).
Agradecimientos: A. Giacomán-Martínez recibe una beca de estudios de doctorado otorgado por CONACyT (México).

28- EFECTO DE DOS FRACCIONES OBTENIDAS DE U DERMESTOIDES CHEVROLAT SOBRE LA GLUCEMIA Y LA ARQUITECTURA PANCREÁTICA DE RATONES DIABÉTICOS. Effect of two fractions obtained from *U. dermestoides Chevrolat* on glycemia and pancreatic architecture of diabetic mice.

Giacoman, M.A.1; Almanza, P.J.1; Jasso, E.I.1; Lorenzana, M.2; Prado L.A.3; Alarcón, A.F.J.1

1Laboratorio de Farmacología, Departamento de Ciencias de la Salud. D.C.B.S., Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México. 2Laboratorio de Neurobiología Tisular. Área de Neurociencias. Departamento de Biología de la Reproducción. D.C.B.S., Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México. 3Planta Piloto de Fermentación en Medio Sólido. Departamento de Biotecnología. D.C.B.S. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México.

La diabetes mellitus es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizado por alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, produciéndose una hiperglucemia persistente, consecuencia de defectos en la secreción y/o acción de la insulina. *Uromoides dermestoides Chevrolat* es un coleóptero usado en la medicina tradicional china para el tratamiento de la diabetes. El objetivo del trabajo fue determinar el efecto de dos fracciones obtenidas de *U. dermestoides* sobre la glucemia y la arquitectura pancreática de ratones diabéticos. De organismos de *U. dermestoides* adultos, secos y molidos, se obtuvieron dos fracciones, las proteínas por el método de precipitación y lípidos por el método de soxhlet. Para la evaluación biológica de estas fracciones se formaron 5 grupos de ratones *Mus musculus* CD-1, machos (n=6). Los grupos 2 a 4 recibieron previamente aloxana (70 mg/kg vía intravenosa) para inducir diabetes experimental y se trataron como sigue: Grupo 1, control sano con solución salina isotónica (SSI) a razón de 4mL/Kg de peso corporal; Grupo 2, control diabético (SSI) (4mL/Kg); Grupo 3, fracción de proteínas a razón de 16 mg/Kg; Grupo 4, fracción de lípidos (16 mg/Kg); y el Grupo 5, glibenclamida (5 mg/Kg). Todos los tratamientos fueron administrados durante 30 días por vía

oral. Al término del estudio se determinó la glucemia y se obtuvo el páncreas para la realización de un análisis morfométrico con la tinción de hematoxilina-eosina. El estudio mostró disminución de la glucemia en los grupos tratado con ambas fracciones. En relación con la arquitectura histológica, el páncreas de los ratones tratados con la fracción lipídica mostró aumento en el número de islotes y en la densidad celular. Estos resultados permiten concluir que los lípidos presentes en *U. dermestoides*, poseen actividad hipoglucemiante y regenerativa del páncreas.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales
Dirección de Correo: jcap@xanum.uam.mx (J.C. Almanza-Pérez).
Agradecimientos: E.I. Jasso-Villagomez recibió una beca de estudios de doctorado otorgado por CONACyT (México).

29- ACTIVIDAD INHIBITORIA DE ACETILCOLINESTERASA DE LA FRACCIÓN ALCALOÍDEA DE RHODOPHIALA ANDICOLA. Acetylcholinesterase Inhibitory activity of alkaloid fraction from *Rhodophiala andicola*.

Moraga, F.1,2; Iturriaga-Vásquez, P.2; Mutis, A.2; Jara, C.3; Quiroz, A.2; Becerra, J.4; Hormazábal, E.2

1Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. 2Laboratorio de Ecología Química, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. 3Estudiante de Bioquímica, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. 4Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, Chile.

Acetilcolinesterasa es un importante objetivo en el manejo de enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, relacionadas con bajos niveles de acetilcolina, a través de la inhibición de esta enzima. En la búsqueda de nuevos inhibidores de origen natural, el género *Rhodophiala* perteneciente a la familia Amaryllidaceae, destaca por la presencia de un grupo de alcaloides isoquinolínicos, capaces de inhibir la acción de esta enzima. Aunque los inhibidores comerciales, utilizados frecuentemente en el control de la enfermedad de Alzheimer, han demostrado una alta eficacia, estos han reportado efectos secundarios en pacientes, destacando, hepatotoxicidad, y síntomas gastrointestinales. Sin embargo, una de las principales limitaciones de la regulación de la actividad enzimática de Acetilcolinesterasa, es el desarrollo de tolerancia al inhibidor, posiblemente como resultado de la nueva síntesis de esta enzima en los terminales nerviosos. Considerando que el descubrimiento de nuevos y más efectivos inhibidores es un gran desafío en la actualidad. El objetivo de este trabajo fue estudiar la actividad inhibitoria, de la fracción alcaloidea proveniente de *Rhodophiala andicola*, sobre acetilcolinesterasa. Los alcaloides presentes en *R. andicola*, fueron obtenidos por maceración con metanol y posteriormente fraccionados, para la aislación de los alcaloides presentes en los bulbos de la planta. La putativa composición alcaloidea de la fracción fue analizada por cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas, destacando la presencia de alcaloides del tipo licorina, galantamina y tazetina. La actividad inhibitoria del extracto alcaloideo, fue evaluada mediante el método Ellman, mostrando

una actividad inhibitoria con un valor de IC50 de 85±3.0 µg/mL, utilizando galantamina como control.

Area de la Farmacología: Farmacología de Productos Naturales

Dirección de Correo: Emilio.hormazabal@ufrontera.cl

Agradecimientos: Financiamiento por Proyectos FONDECYT 11140668, Proyecto DI 16-2007 Universidad de La Frontera y el soporte técnico al Laboratorio de Ecología Química, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera. Becas Conicyt 2014 N° 211-40301

Socio Patrocinante: Dr. Patricio Iturriaga-Vásquez

30- ESTUDIO DE LA VARIANTE EGFR R521K G>A (RS2227983), Y SU IMPACTO SOBRE EL RIESGO DE CÁNCER DE LARINGE. Study of EGFR R521K G>A variant and its impact on laryngeal cancer.

Escalante, P., Miranda, C., Barría, T, Rahal, M., Quiñones, L.

1Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Departamento de Oncología Básico Clínica (DBOC), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile.

Introducción. En Chile el cáncer de laringe tiene una incidencia de 1,2 casos y una tasa de mortalidad de 0,82 casos por cada 100.000 habitantes. El factor de crecimiento epidérmico (EGF) es un factor mitogénico que tiene efecto en el desarrollo y diferenciación de diversos tipos celulares EGF se une a su receptor EGFR, gatillando cascadas de señalización relacionadas con la diferenciación y proliferación del tejido epitelial. La activación desmesurada de este receptor esta relacionada con el desarrollo de cáncer hepatocelular y de pulmón entre otros, y es blanco terapéutico para fármacos como Cetuximab. La variante EGFR R521K G>A sustituye un aminoácido Arginina por Lisina disminuyendo la afinidad por su ligando, y se ha observado un efecto protector del riesgo y mejor pronóstico en cáncer colorectal y cáncer de faringolaringe. **Metodología.** Se analizaron muestras de ADN genómico de 68 pacientes con cáncer de laringe del Hospital Barros Luco, y de 81 voluntarios sanos como control, mediante PCR-RLFP. Se determinó prevalencia de cada variante en los grupos de estudio y el odds ratio (OR) estableciendo un valor $p=0,05$ como criterio de significancia. **Resultados:** La prevalencia de cada genotipo para el grupo de pacientes es de GG(wild type)= 51,47%; G/A(heterocigoto)= 42,65% y A/A(mutado)= 4,41%, y para el grupo de voluntarios es de G/G= 7,41%; G/A= 33,33% y A/A=7,41%. El OR para el genotipo mutado es de 0,68 ($p=0,609$). **Conclusión.** Al analizar el impacto de la variante R521K G>A en el riesgo de cáncer de laringe en la población chilena determinamos que no existe una asociación estadística que permita definir este SNP como un factor protector, aunque sí una tendencia a un efecto protector para el genotipo mutado.

Area de la Farmacología: Farmacogenética

Dirección de Correo: pescalante@farmacogenetica.cl

Agradecimientos: Al servicio de Otorrinolaringología del Hospital Barros Luco Trudeau

Socio Patrocinante: Dr. Luis A. Quiñones.

31- POLIMORFISMOS GENÉTICOS RELACIONADOS CON LA QUIMIOTERAPIA PEB EN PACIENTES CON CÁNCER TESTICULAR: BIOMARCADORES POTENCIALES DE REACCIONES ADVERSAS.

Genetic polymorphisms related to PEB chemotherapy in testicular cancer: potential biomarkers for adverse reactions.

Cayun, J.P.1, Celedón, C.1, Cerro, R.1, Roco, A.1, Molina, S.1, Sandoval, C.1, García, E.2, Agúndez, J.A.2, Cerda, B.3, Peña, K.4, Acevedo, C.1, Cáceres D.5, Varela, N.1, Quiñones, L.1

1Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Departamento de Oncología Básico-Clinica (DOBC), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile. 2Laboratorio Farmacogenética, Universidad de Extremadura, España. 3Instituto Nacional del Cáncer, (INC), Chile. 4Hospital San Juan de Dios, Chile. 5Instituto de Salud Poblacional, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile.

Introducción: Uno de los principales focos de la farmacogenómica es la predicción de reacciones adversas a medicamentos (RAMs) con el fin de obtener biomarcadores de utilidad clínica. El estudio específico del tratamiento con cisplatino-etopósido-bleomicina (PEB) en cáncer testicular puede permitir determinar la aparición de reacciones adversas tras la quimioterapia, explicando la variabilidad interpaciente y dirigiendo por lo tanto hacia una farmacoterapia personalizada. **Metodología:** se analizó el perfil de reacciones adversas mediante un estudio caso-control en 103 pacientes. Se realizó la extracción de ADN genómico desde muestras de sangre periférica y se genotificaron para los principales polimorfismos genéticos implicados en la farmacocinética del esquema PEB (CYP3A4*1B, GST-M1 null, GST-T1 null, GSTP1 rs1695, ERCC1 rs11615, ERCC2 rs13181, ERCC2 rs238406, ERCC2 rs1799793 y BLMH rs1050565). **Resultados:** las RAMs más frecuentes encontradas fueron la neutropenia grados 3-4 (37,1%), leucopenia grados 3-4 (28,9%), dolor grados 1-4 (25,8%), mucositis grados 1-4 (17,5%) y reacciones dermatológicas grados 1-4 (16,5%). El polimorfismo BLMH rs1050565 se asocia a un mayor riesgo de presentar toxicidad dermatológica (OR=5,33; IC=1,044-26,83; $P=0,0437$) y dolor (OR=5,543; IC=1,268-26,49; $P=0,02$), y presenta una tendencia de asociación con el riesgo de mucositis (OR=4,597; IC=0,921-22,29; $P=0,0645$). Aun cuando no se encontró una relación estadísticamente significativa entre genotipos de ERCC2 A/G (rs13181), existe una tendencia del genotipo heterocigoto a presentar dolor 1-4 (OR=5,412; IC=0.8932-43.69; $P=0,070$) y a presentar neutropenia o leucopenia 3-4 (OR=3,72; IC=0,8354-18,46; $P=0,092$), así como también con la aparición de toxicidad dermatológica en individuos con genotipo heterocigoto para CYP3A4*1B (OR=13,36; IC=0,74-251,4; $P=0,083$), lo cual será corroborado en el futuro próximo con mayor número de pacientes. **Conclusión:** El perfil de reacciones adversas es similar a lo descrito en otros estudios para pacientes sometidos a este mismo esquema. Es necesario seguir la búsqueda de biomarcadores con el fin de predecir la toxicidad asociada al esquema PEB y evaluar el aumento en el tamaño muestral.

Area de la Farmacología: Farmacogenética

Dirección de Correo: jpcayun@farmacogenetica.cl

Agradecimientos: trabajo financiado a través del proyecto Fondecyt regular N° 114-0434

Socio Patrocinante: Dr. Luis Quiñones Sepúlveda.

32- ESTUDIO DE ASOCIACIÓN ENTRE EL POLIMORFISMO CYP1A1*2A Y LA OCURRENCIA DE CÁNCER TESTICULAR. Risk association study between CYP1A1*2A polymorphism and occurrence of testicular cancer.

Martínez, M.1, Cayun, J.P.1, Roco, A.1, García, E.2, Agúndez, J.A.2, Cerda, B.3, Peña, K.4, Acevedo, C.1, Cáceres D.5, Varela, N.1, Quiñones, L.1

1Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Departamento de Oncología Básico Clínica (DBOC), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile. 2Laboratorio Farmacogenética, Universidad de Extremadura, España. 3Instituto Nacional del Cáncer (INC), Chile. 4Hospital San Juan de Dios, Chile. 5Instituto de Salud Poblacional, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile.

Introducción: El cáncer testicular (CT) es una patología que afecta a hombres principalmente en edad laboral y tiene un alto impacto, tanto a nivel sanitario, como económico y social. Conocer los factores genéticos asociados a su ocurrencia es de utilidad en su prevención. La enzima CYP1A1, participa en el metabolismo de tóxicos, generando metabolitos potencialmente carcinogénicos y su influencia en la aparición de CT es de interés en el estudio de la patología. Metodología: Mediante un estudio de casos y controles, se analizó el riesgo que implica la exposición al factor genético del polimorfismo CYP1A1*2A T3801C (rs4646903). Los casos fueron pacientes de 18 años o más diagnosticados con CT, los controles fueron voluntarios de sexo masculino en el mismo rango de edad, sin el diagnóstico de CT. La presencia de la variante genética fue detectada mediante la técnica de PCR-RFLP. La asociación de riesgo se realizó mediante el OR e intervalo de confianza 95% (IC95%). Resultados: En este estudio preliminar, las frecuencias alélicas en población general cumplen con el equilibrio de Hardy Weinberg. La presencia del alelo infrecuente no se encontró asociada estadísticamente con un mayor riesgo de ocurrencia del CT, en comparación con aquellos homocigotos wild type y heterocigotos. La observación confirmativa de los resultados obtenidos se realizará una vez que se disponga de un mayor tamaño de muestra. Conclusiones: La presencia del alelo polimórfico *2A no fue asociado de manera estadísticamente significativa con protección ni riesgo de ocurrencia de CT. Nuevos estudios deberán llevarse a cabo para estudiar el potencial predictivo de este potencial biomarcador en la incidencia de cáncer testicular.

Area de la Farmacología: Farmacogenética
Dirección de Correo: lquinone@med.uchile.cl
Agradecimientos: Trabajo financiado a través del proyecto Fondecyt regular N° 114-0434
Socio Patrocinante: Dr. Luis Quiñones S.

33- DETERMINACIÓN DEL POLIMORFISMO DEL GEN BLMH EN LA POBLACIÓN CHILENA Y SU ASOCIACIÓN CON LA TOXICIDAD DE LA QUIMIOTERAPIA DEL CÁNCER TESTICULAR. Determination of the BLMH polymorphism in the Chilean population and the association with toxicity of chemotherapy in testicular cancer.

Sandoval, C.1, Cayun, J.P.1, Celedón, C.1, Cerro, R.1, Roco, A.1,

Molina, S.1, García, E.2, Agúndez, J.A.2, Cerda, B.3, Peña, K.4, Acevedo, C.1, Cáceres, D.5, Quiñones, L.1, Varela, N.1,6.

1Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Departamento de Oncología Básico Clínica (DBOC), Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2Laboratorio Farmacogenética, Universidad de Extremadura, España. 3Instituto Nacional del Cáncer (INC), Chile. 4Hospital San Juan de Dios, Chile. 5Instituto de Salud Poblacional, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 6Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Chile.

Introducción: La Bleomicina, droga utilizada en la quimioterapia para cáncer testicular, junto con cisplatino y etoposido (esquema PEB), detiene la proliferación celular, mediante la generación de rupturas en el DNA, que bloquean la progresión en el ciclo celular e incluso pudiendo inducir apoptosis. La susceptibilidad a esta droga aumenta en células que están en división celular, principalmente en las fases G2 o M. La Bleomicina Hidrolasa (BH), encargada de su inactivación, está presente en la mayoría de los tejidos, disminuyendo la toxicidad en células no tumorales, sin embargo, está ausente en piel y pulmón. El polimorfismo genético A1450G (rs1050565) conlleva disminución en la actividad BH, favoreciendo la toxicidad asociada a la quimioterapia PEB. Metodología: se realizó genotipificación por real-time PCR y por PCR RFLP del polimorfismo rs1050565 en población general y en pacientes con cáncer testicular tratados con quimioterapia PEB, bajo un protocolo éticamente autorizado. Resultados: Las frecuencias genotípicas obtenidas en población general chilena y pacientes de cáncer testicular fueron 42% A/A, 47% A/G, 11% G/G; y 35% A/A, 47% A/G, 18% G/G, respectivamente. Se observó asociación con respuestas adversas de carácter dermatológico (OR: 5.33; IC: 1.044, 26.83; P: 0.04371) y con dolor (OR: 5.543; IC: 1.268, 26.49; P: 0.02020), una tendencia asociada al desarrollo de mucositis (OR: 4,597; IC: 0.921, 22.29; P: 0.06451), y no se observa asociación con toxicidad hematológica. Conclusión: Los resultados muestran que la presencia del polimorfismo rs1050565, se asocia con la aparición de reacciones adversas, no hematológicas, a la quimioterapia PEB. Estas asociaciones se seguirán evaluando en la medida que aumente el número de pacientes incluidos en el presente estudio.

Area de la Farmacología: Farmacogenética
Dirección de Correo: chris.sandovalp@gmail.com
Agradecimientos: Financiado por Proyecto Fondecyt Regular N° 114-0434
Socio Patrocinante: Dr Nelson Varela

34- MODELOS PREDICTIVOS PRELIMINARES DE RESPUESTA FARMACOLÓGICA DE TAMOXIFENO EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA HORMONO-DEPENDIENTES. Preliminary predictive models of Tamoxifen response in hormone-dependent Breast Cancer patients.

Miranda, C.1,6; Galleguillos, M.2; Torres, M.R.3; Tardón, K.3; Cáceres, D.4; Lee, K.5; Quiñones, L.1

1Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Departamento de Oncología Básico-Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2Pontificia Universidad Católica. 3Instituto Nacional del Cáncer (INC). 4Instituto de Salud Poblacional,

Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 5Hospital Barros Luco-Trudeau. 6Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile.

Tamoxifeno es el tratamiento a elección para cáncer de mama hormono-dependiente (CMH) y ampliamente biotransformado. Su respuesta farmacológica podría estar influenciada en gran medida por la existencia de polimorfismos genéticos participantes en su farmacocinética y farmacodinamia. Metodología: Se determinaron las variantes genotípicas de enzimas citocromo P450 (CYP2D6*4, CYP3A4*1B, CYP3A5*3), uridin di fosfato glucuronil transferasas (UGT2B7*2, UGT2B15*2), sulfotransferasa (SULT1A1*2) y el receptor de estrógenos (ESR1V364E) mediante PCR-RFLP. Complementariamente, se determinaron las concentraciones plasmáticas de Tamoxifeno, N-desmetiltamoxifeno, 4-hidroxitamoxifeno y endoxifeno, en estado estacionario, mediante HPLC-MS/MS de pacientes con CMH en tratamiento con Tamoxifeno, como herramienta de evaluación de respuesta farmacológica. Resultados: Se encontró que UGT2B15*1/*2 protege de presentar recidiva (OR=0,09;p=0,02), CYP3A5*3/*3 protege de presentar engrosamiento de endometrio (OR=0,07; p=0,01), SULT1A1*1/*2 protege de presentar ginecorragia (OR=0,09;p=0,03) y ESR1364E/364E aumenta la posibilidad de presentar ginecorragia (OR=5,68;p=0,02), CYP3A4*1/*1B y SULT1A1*1/*2 disminuye la eliminación de 4-hidroxitamoxifeno (coef.=4,17;p=0,002) y 17β-Estradiol (coef=-0,035;p=0,025), respectivamente. Utilizando modelos de regresión logística se logró obtener modelos predictivos preliminares que explican posibilidad de presentar Recidiva (p=0,004), Engrosamiento de endometrio (p=0,002) y Ginecorragia (p=0,014), incluyendo variables genómicas y no genómicas. Conclusión: Los modelos predictivos obtenidos muestran que la respuesta al tratamiento con Tamoxifeno en pacientes con CMH está asociada a la presencia de variantes genéticas en proteínas participantes de la farmacocinética y farmacodinamia de tamoxifeno. Estos modelos, luego de un protocolo de validación clínica pueden ser utilizados para predecir la recurrencia de la enfermedad y los efectos negativos de la terapia con Tamoxifeno, mejorando la respuesta individual al tratamiento con Tamoxifeno.

Area de la Farmacología: Farmacogenética

Dirección de Correo: cmiranda@farmacogenetica.cl

Agradecimientos: Agradecimientos a las pacientes del Instituto Nacional del Cáncer por participar en este estudio.

Socio Patrocinante: Trabajo financiado por CONICYT a través de Beca de Doctorado y Apoyo de tesis Doctoral.

35- MALNUTRICION OCULTA PROGRAMA DESENSIBILIZACION MOLECULAR DEL FEEDBACK NEGATIVO CORTICOSTERONA/RECEPTOR GR2 EN EL NUCLEO PARAVENTRICULAR DE LA RATA. Hidden malnutrition programs molecular desensitization of the corticosterone/GR2 receptor negative feedback in the paraventricular nucleus of the rat.

Barra, R.1, Pérez, H.2, Morgan, C.3, Sáez-Briones, P.1, Burgos, H.4, Reyes-Parada, M.1, Urrutia, P.2, García, C.2, Hernández, A.5

1Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile; 2Facultad de Medicina, Universidad Pedro de Valdivia; 3INTA, Universidad de Chile; 4CITIAPS, Universidad de Santiago de Chile;

5Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

En la rata, la malnutrición fetal programa hiperactividad neuronal en el núcleo paraventricular (NPV) del hipotálamo, lo que genera hipertensión arterial en la adultez. La actividad neuronal en el NPV de la rata es regulada por un feedback negativo a través de corticosterona/receptores GR2 (eje hipotálamo-hipofisis-adrenal) y/o por interconexiones recíprocas excitatorias con el locus coeruleus (LC) vía noradrenalina/receptores alfa-1. Para determinar la relevancia de ambos sistemas de control en el NPV, se cuantificaron las expresiones de RNAm para GR2 y alfa-1 en el PVN mediante hibridización in situ y de sus proteínas en hipotálamo total mediante ensayo de binding (3H-dexametasona). Los resultados mostraron que la malnutrición fetal programa disminuciones significativas de RNAm y proteína del receptor GR2, así como una disminución del RNAm para el receptor alfa-1 pero no de su proteína. Se sugiere que la hiperactividad neuronal en el PVN es consecuencia de una desensibilización del feedback negativo que ejerce corticosterona en este núcleo, y no de modificaciones moleculares en el control noradrenérgico proveniente del LC.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular

Dirección de Correo: rafael.barra@usach.cl

Agradecimientos: Financiado por Proyecto de Postdoctorado 021501RP_Postdoc para RB.

Socio Patrocinante: Dr. Rafael Barra

36- ANÁLISIS NEUROQUÍMICO DE LA SINAPSIS ENTRE LA AMÍGDALA BASOLATERAL Y LA CORTEZA PREFRONTAL. Neurochemical analysis of the synapses between basolateral amygdala and prefrontal cortex.

Yarur, H.E.; Vega, I.M.; Gysling, K.

Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La amígdala basolateral (BLA) y la corteza prefrontal (PFC) están involucradas en la modulación de la respuesta a estrés. La actividad neuronal en la PFC se reduce cuando ocurren eventos estresantes (García et al, 1999). Además, la exposición a eventos estresantes, bloquea la inducción del LTP en la sinapsis BLA-PFC (Maroun & Richter-Levin, 2003). Las drogas de abuso involucran estructuras y neurotransmisores similares a los involucrados en la respuesta a estrés como la PFC, el área del tegmento ventral (VTA) y la amígdala, y neurotransmisores como el factor liberador de corticotrofina (CRF) y la dopamina. Existe evidencia que el receptor 2 para el factor liberador de corticotrofina (CRF2) (Guan et al, 2014) y el receptor 1 de dopamina (DAD1) (Sanchez et al, 2003) en la PFC están involucrados en la recaída a la búsqueda compulsiva de drogas de abuso. Considerando la evidencia disponible, decidimos estudiar si el CRF2 y DAD1 están involucrados en la regulación neuroquímica que ejerce la BLA sobre la PFC. Para ello realizamos experimentos en ratas anestesiadas en los que se estimuló la BLA mediante una solución despolarizante y se analizó, mediante microdiálisis, los niveles extracelulares de glutamato en la PFC, en presencia o ausencia de antagonistas farmacológicos para los receptores CRF2 y DAD1. Los resultados mostraron que la estimulación de la BLA aumenta los

niveles extracelulares de glutamato en la PFC. En presencia de antisauvagina30, antagonista CRF2, se observó un aumento significativo en los niveles de glutamato en PFC. En cambio, en presencia de SCH23390, antagonista DAD1, no se observó cambios significativos en los niveles de glutamato. Los resultados sugieren que la activación de CRF2, y no de DAD1, en PFC reduce la liberación de glutamato inducida por la estimulación de la BLA.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular

Dirección de Correo: hevarur@uc.cl

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT N° 115-0244

Socio Patrocinante: Dra. Katia Gysling

37- EVALUACION DE FENOFIBRATO COMO NUEVO FARMACO PARA EL TRATAMIENTO DEL ALCOHOLISMO.

Evaluation of fenofibrate as a new drug to the treatment for alcoholism.

Muñoz, D.1, Rivera-Meza, M.2, Quintanilla, M.E.3, Karahanian, E.1,4

1Centro de Investigación Biomédica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile. 2Depto. Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad De Chile. 3Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 4Centro de Investigación para el Estudio de la Conducta del Consumo de Alcohol en Adolescentes, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile.

Se ha visto que los fibratos (agonistas del receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa –PPAR alfa-) disminuyen la ingesta voluntaria de alcohol en ratas bebedoras UChB. Sin embargo, se desconoce el mecanismo por el cual se produce esta disminución en el consumo. Postulamos que el efecto aversivo al alcohol se debe a la acumulación de acetaldehído en sangre, producido en exceso debido a un aumento de la actividad de la catalasa presente en los peroxisomas. Para probar la hipótesis, se administró por vía oral fenofibrato (50 mg/kg/día) durante 14 días a ratas bebedoras UChB que habían ingerido alcohol durante 2 meses. Se observó una reducción entre 70-90% en el consumo de alcohol. La administración oral de 1 g de etanol/kg produjo un aumento marcado del acetaldehído en la sangre de animales tratados con fenofibrato (70 microM vs. 7 microM en los controles). La actividad de catalasa hepática después del tratamiento con fenofibrato aumentó 3 veces; se observó también mediante western blot un aumento en la cantidad de enzima presente en el hígado. Otras enzimas hepáticas, como alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa, principales responsables del metabolismo del etanol se mantuvieron sin alteraciones. El análisis en la actividad de la transaminasa séricas no evidenció daño hepático. Estos datos apoyan la hipótesis que el aumento del acetaldehído mediado por catalasa genera un efecto aversivo al etanol.

Area de la Farmacología: Farmacología bioquímica, neuropsicofarmacología.

Dirección de Correo: eduardo.karahanian@uautonoma.cl

Agradecimientos: Financiado por proyectos Fondecyt 115-0850 y Conicyt Anillo ACT1411

38- IDENTIFICACIÓN DE SITIOS MOLECULARES INVOLUCRADOS EN LA MODULACIÓN DEL RECEPTOR DE GLICINA POR EL ALCALOIDE NATURAL GELSEMINA. Identification of molecular sites associated with the modulation of the glycine receptor by the natural alkaloid gelsemine.

Marileo, A.M., Burgos, C.F., Lara, C.O., San Martín, V.P., Yévenes, G.E.

Departamento de Fisiología, Universidad de Concepción, Concepción.

Los receptores de glicina (R-Gli) son canales iónicos permeables a cloruro activados por el neurotransmisor glicina. La actividad inhibitoria del R-Gli contribuye al control de diversos procesos fisiológicos esenciales, como control motor, procesamiento sensorial y tono muscular. Estudios recientes han demostrado que alcaloide natural gelsemina es capaz de modular directamente la actividad del R-Gli. Además, estudios in vivo han mostrado que gelsemina ejerce efectos ansiolíticos y analgésicos. Sin embargo, hasta la fecha no se han determinado los sitios moleculares involucrados en la modulación del R-Gli por gelsemina. A través de estudios electrofisiológicos de R-Gli quiméricos y mutados en combinación con modelamiento molecular, el presente estudio tuvo como objetivo comenzar a identificar los sitios moleculares relevantes para la modulación del R-Gli por gelsemina. Registros electrofisiológicos utilizando R-Gli salvajes demostraron que gelsemina posee un efecto potenciador en R-Gli compuestos de la subunidad alfa1. Contrariamente, gelsemina inhibió la actividad de R-Gli compuestos de la subunidad alfa2 y alfa3. A través del estudio de R-Gli quiméricos, se determinó que estos efectos diferenciales son exclusivamente dependientes de la composición del dominio extracelular de las subunidades alfa. Por otra parte, estudios de modelamiento molecular mostraron que gelsemina es capaz de interaccionar selectivamente con el sitio ortostérico del R-Gli, el cual se encuentra en la interfase entre subunidades alfa en el dominio extracelular. En línea con estos hallazgos, mutaciones puntuales en residuos críticos del sitio ortostérico de la subunidad alfa1 del R-Gli (F63A, F203A y G160E) generaron R-Gli resistentes a la modulación por gelsemina. En conjunto, nuestros resultados sugieren que gelsemina modula la actividad del R-Gli a través de interacciones moleculares específicas con residuos del sitio ortostérico del canal iónico.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular

Dirección de Correo: anamarileo@udec.cl

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 114-0515

Socio Patrocinante: Dr. Gonzalo Yévenes

39- LOS ALCALOIDES GELSEMINA Y KOUMINA MODIFICAN LA FUNCIÓN DE RECEPTORES DE GLICINA RECOMBINANTES Y ESPINALES. The alkaloids Gelsemine and Koumine modify the function of native and spinal glycine receptors.

Lara C.O., Murath, P.E., Muñoz B., Marileo, A.M., San Martín, V.P., Yévenes, G.E.

Departamento de Fisiología, Universidad de Concepción, Concepción.

Los extractos de las plantas del género *Gelsemium* han sido utilizados tradicionalmente en la medicina popular. Estudios recientes han mostrado que los alcaloides principales de estos extractos, denominados gelsemina y koumina, ejercen efectos analgésicos y ansiolíticos en modelos de comportamiento animal. Interesantemente, estos efectos benéficos fueron dependientes de la actividad de los receptores de glicina (GlyRs), los cuales son canales iónicos que se expresan en el sistema nervioso central y que son activados por el neurotransmisor glicina. Sin embargo, es actualmente desconocido si gelsemina o koumina pueden modular directamente la función del GlyR. Para examinar los efectos de gelsemina y koumina a nivel funcional, realizamos experimentos de electrofisiología en células HEK293 que expresaron diferentes subunidades de GlyRs. Además, analizamos los efectos de gelsemina en GlyR nativos a través de registros electrofisiológicos de neuronas espinales en cultivo. Nuestros resultados mostraron que koumina y gelsemina modulan directamente GlyR recombinantes. Koumina redujo las corrientes evocadas de todas las subunidades de GlyR examinadas, mientras que gelsemina ejerció efectos específicos en diferentes isoformas. Registros de canal único mostraron que gelsemina modificó diferencialmente la probabilidad de apertura de diferentes subunidades de GlyR sin cambiar la conductancia. En neuronas espinales, gelsemina disminuyó la frecuencia de los eventos sinápticos glicinérgicos y glutamatérgicos, sin alterar la amplitud. En conjunto, nuestros resultados contribuyen a explicar, al menos en parte, las bases farmacológicas de los efectos in vivo de los alcaloides del género *Gelsemium* que son mediados por GlyRs. Por otra parte, nuestros resultados sugieren que gelsemina podría ser un templado interesante para el desarrollo de moduladores selectivos para diferentes isoformas de GlyRs.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular
Dirección de Correo: cesarolara@udec.cl
Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 114-0515
Socio Patrocinante: Dr. Gonzalo Yévenes

40- VARIANTES GENÉTICAS EN LA ENZIMA DE REPARACIÓN DEL ADN ERCC2, Y SU RELACIÓN CON HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA. Genetic variants on ERCC2 DNA reparation enzyme and its relationship with benign prostatic hyperplasia.

Molina, S.1, Roco, A.1, Cerro, R.1, Sandoval, C.1, García, E.2, Agúndez, J.A.2, Cerda, B.3, Peña, K.4, Acevedo, C.1, Varela, N.1, Cáceres, D., Quiñones, L.1

Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenómica Molecular y Clínica, Departamento de Oncología Básico-Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Universidad Andrés Bello.

El factor genético juega un rol relevante en la susceptibilidad a desarrollar distintas patologías y en la respuesta a xenobióticos. La presencia de polimorfismos genéticos que alteran la función y la actividad de los mecanismos de reparación del ADN puede ser un factor determinante en la etiología del cáncer (susceptibilidad), la respuesta frente a agresores del medio ambiente, a fármacos como el cisplatino y en otros procesos degenerativos. El objetivo de este trabajo fue relacionar la presencia de los polimorfismos rs13181, rs238406 y rs1799793 del gen Excision Repair Cross-

Complementation Group 2 (ERCC2), que participa en el sistema de reparación de ADN, en la población general y su posible asociación con el desarrollo de hiperplasia prostática benigna (HPB). Metodología: El ADN genómico fue obtenido de 198 personas de población chilena Y DE 140 pacientes con hiperplasia prostática benigna. Se obtuvo el ADN mediante la extracción con kits comerciales y se realizó la genotipificación mediante real-time PCR asociado a sondas TaqMan. Resultados: La presencia del polimorfismo rs1799793 se asocia con la susceptibilidad de desarrollar HPB para el genotipo heterocigoto (OR=2,60; IC=1,45-4,71; P<0,001; modelo codominante); junto con el genotipo homocigoto mutado (OR=10,83; IC=4,53-29,10; P<0,001; modelo codominante). Por otro lado el polimorfismo rs13181, se asocia con la presencia de HPB, para el genotipo homocigoto mutante (OR=7,41; IC=2,93-22,39; P<0,001-modelo recesivo). Mientras que para el rs238406, no se encontraron diferencias en los genotipos que se relacionan con la presencia de HPB. Conclusión: La presencia de los polimorfismos rs13181 y rs1799793 de la enzima de reparación de ADN ERCC2 pueden ser biomarcadores de una mayor susceptibilidad a desarrollar hiperplasia prostática benigna en la población chilena.

Area de la Farmacología: Farmacogenética
Dirección de Correo: lquinone@med.uchile.cl
Socio Patrocinante: Dr. Luis Quiñones

41- FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS DE LA ENZIMA DE REPARACIÓN ERCC2 EN POBLACIÓN CHILENA Y SU ASOCIACIÓN CON EL RIESGO EN EL DESARROLLO DE CÁNCER TESTICULAR. Allelic and genotypic frequency of ERCC2 reparation enzyme in the Chilean population and its association with testicular cancer risk and development.

Cerro, R.1, Roco, A.1, Molina, S.1, Sandoval, C.1, Cayun, J.P.1, García, E.2, Agúndez, J.A.2, Cerda, B.3, Peña, K.4, Acevedo, C.1, Cáceres D.5, Varela, N.1, Quiñones, L.1

1Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Departamento de Oncología Básico Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2Laboratorio Farmacogenética, Universidad de Extremadura 3Instituto Nacional del Cáncer. 4Hospital San Juan de Dios. 5Instituto de Salud Poblacional, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El cáncer testicular (CT) en Chile presenta tasas que duplican la incidencia mundial y alcanzan hasta 10 veces la mortalidad, según el rango etario. Entre los factores fisiológicos que influyen el cáncer el factor genético juega un rol relevante, tanto en la incidencia, como en la respuesta a quimioterápicos. La presencia de polimorfismos genéticos que alteran la función de proteínas involucradas en los mecanismos de reparación del ADN pueden ser un factor determinante en la etiología del CT y en la variabilidad de respuesta terapéutica, por ejemplo en la reparación de aductos en el ADN, producidos por cisplatino. El objetivo de este trabajo fue relacionar la presencia de tres polimorfismos del gen Excision Repair Cross-Complementation Group 2 (ERCC2) en la susceptibilidad a CT. Metodología: Se obtuvo DNA genómico de 198 voluntarios de población general chilena y 180 pacientes con cáncer testicular. El análisis genotípico fue realizado mediante Real Time-PCR. Resultados: Al realizar la

comparación entre el grupo de población general y el grupo de pacientes con CT, se encontró que el polimorfismo rs238406 se asocia a la presencia de CT en un modelo recesivo (OR=2,438, 95% IC:1,513-3,960, p=0,0001). Además, se encontró que los individuos que presentan el alelo G para el polimorfismo rs13181 presentan un mayor riesgo de desarrollar CT bajo un modelo co-dominante (OR=2,549, 95% IC:1,364-4,942, p=0,002 para el genotipo AG y OR=0,1953, 95% IC:0,07812-0,443, p=0,0001 para el genotipo GG), finalmente, el los portadores del genotipo GG para el polimorfismo rs238406 presentan un mayor riesgo bajo un modelo co-dominante (OR=2,243, 95% IC:1,276-3,965, p=0,0041). Conclusión: Los polimorfismos rs13181, rs1799793 y rs238406 están relacionados con la incidencia y riesgo de desarrollar CT en la población chilena.

Area de la Farmacología: Farmacogenética

Dirección de Correo: rcerrojas@gmail.com

Agradecimientos: Proyecto Fondecyt Regular N° 114-0434.

Socio Patrocinante: Dr. Luis Quiñones Sepúlveda

42- ACTIVACIÓN DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN PPARALFA-FGF21 EN EL TRATAMIENTO CONJUNTO DE HORMONA TIROIDEA (T3) Y ÁCIDO DOCOSAHEXAENOICO (DHA). Upregulation of rat liver PPARalpha-FGF21 signaling by a docosahexaenoic acid and thyroid hormone combined protocol.

Cornejo, P.1, Vargas, R.2, Riquelme, B.2, Fernández, V.2, Videla, L.A.2

Afiliación: 1Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Salud y Odontología, Universidad Diego Portales 2Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Resumen:

El tratamiento conjunto de hormona tiroidea (T3) con ácidos grasos omega-3 (DHA) ejerce efectos biológicos protectores, como la prevención del daño hepático por isquemia-reperusión. El objetivo de este estudio fue probar la hipótesis de que el tratamiento combinado de T3 y DHA activa la vía de señalización PPAR-alfa-FGF21 en hígado. Para esto se administraron dosis diarias de DHA (300/mg/kg por 3 días) junto con T3 (0,05 mg/Kg en única dosis al cuarto día) a ratas macho de la cepa Sprague-Dawley. El tratamiento T3-DHA produjo un incremento (p<0,05) en el contenido de DHA hepático (33%) y en los niveles séricos de T3 (13%). También se observó un aumento en la unión a ADN de PPAR-alfa (65%) y en los niveles de ARNm de PPAR-alfa, junto con esto se observó un incremento de ARNm de los genes blanco de PPAR-alfa, carnitina-palmitoil transferasa 1alfa (153%, p<0,05), acil-CoA oxidasa (101%; p < 0,05), y 3-hidroxil-3-metilglutaril-CoA sintasa 2 (113%; p<0,05). En estas condiciones también se incrementó la expresión de ARNm del receptor X retinoico -alfa (RXR-alfa) (54%, p<0,05) concomitantemente con el aumento en los niveles hepáticos del ARNm (3,5 veces) y de la proteína (91%) de FGF21 y los niveles séricos de FGF21 (132%). Se concluye que el tratamiento conjunto T3-DHA induce la vía de señalización PPAR-alfa-FGF21 que podría involucrar la activación de PPAR-alfa por DHA y el aumento en su expresión por efecto de T3, con la consecuente activación de FGF21 por acción de PPAR-alfa.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular

Dirección de Correo: pamecornejoz@gmail.com

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 115-0104

Socio Patrocinante: Dr. Luis A. Videla

43- BIOENSAYOS Y MECANISMOS DE ACCION CELULAR DE DROGAS ANTINEOPLÁSICAS DE ORIGEN QUINÓNICO. Bioassays and action mechanisms of quinone-derived antineoplastic drugs.

Sandoval-Caballero, C., Arismendi-Macuer, M., Molinari, A.A., Guzmán, L., Reyes, J.G.

Laboratorio de Química-Biológica, Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

En Chile, el cáncer es la segunda causa de muerte seguida de las enfermedades cardiovasculares. El impacto económico del cáncer alcanza casi el 1% del PIB siendo los tipos de cáncer más costosos para el sector público, el gástrico (17,6%), de mama (7%) y de próstata (4,2%). Previamente, se ha identificado que moléculas tipo quinona son elementos farmacológicos con actividad citotóxica sobre células tumorales. Su principal característica es sufrir oxidación o reducción de forma reversible generando radicales semiquinona promoviendo la generación de ROS/RNS y afectando fenómenos fisiológicos como la fosforilación oxidativa o la concentración de iones intracelulares. Esto hace que estos compuestos sean considerados como una estructura base para el diseño de antineoplásicos. En este trabajo se probaron mediante estudios ciegos los compuestos quinónicos MA50, MA49, MA25 y MA23 como potenciales elementos citotóxicos sobre células de cáncer gástrico SNU-1. Se caracterizaron los valores de LC50 mediante ensayos de reducción de MTS para los cuatro compuestos, cuyas magnitudes son 74, 33, 14, y 83 µM, respectivamente. Mediante el uso de la sonda H2DCFDA se determinó que no hay efectos significativos de ningún compuesto sobre el nivel intracelular de ROS/RNS. Tres de los compuestos tienen un efecto significativo sobre el potencial de membrana mitocondrial y los niveles de Ca(II), evaluados con Rodamina123 y Fluo3, respectivamente, a excepción de MA23. En conclusión, este trabajo permite una aproximación sobre los posibles mecanismos de muerte de SNU-1 frente a compuestos quinónicos. Aunque el colapso del potencial de membrana mitocondrial es considerado como uno de los primeros signos de apoptosis, se requeriría evaluar en más detalle el tipo de muerte celular generada por estos compuestos.

Area de la Farmacología: Farmacología molecular

Dirección de Correo: carosandovalcab@gmail.com

Agradecimientos: FONDECYT 110-0316, FONDECYT 114-0758, DI-PUCV: 037.437/2015, DI-PUCV: 039.331/2016.

Socio Patrocinante: Dr. Javier A. Bravo Vivallo

44- PRODUCCION DE ANTICUERPOS MONOCLONALES CONTRA LA FOSFOLIPASA A2 ASOCIADA A LIPOPROTEÍNA. Monoclonal Antibody Production against lipoprotein-associated phospholipase A2.

Soto, D.; Castillo, D.; Zúñiga, F.A.; Bustos, P.; Aguayo, C.

1Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de

Farmacia, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la primera causa de muerte en Chile. Las herramientas usadas actualmente, no permiten, una evaluación temprana de la enfermedad, cuya génesis es la aterosclerosis. Estudios realizados en las últimas décadas han descrito biomarcadores relacionados con la evolución de la placa aterosclerosis, dentro de los cuales destaca la Fosfolipasa A2 asociada a lipoproteína (Lp-PLA2), descrita como un biomarcador de inflamación vascular. Existe una correlación entre los niveles de Lp-PLA2 con la estabilidad de la placa aterosclerótica y el riesgo cardiovascular. Además estudios de cohorte, han demostrado que sujetos con niveles de Lp-PLA2, por sobre los 200 ng/mL, son más susceptibles de sufrir un evento cardiovascular a futuro, sugiriéndose como factor para reestratificar el riesgo cardiovascular. Con el fin de relacionar los niveles de Lp-PLA2 con el riesgo cardiovascular, nuestra investigación va dirigida a la generación de un inmunoensayo que cuantifique los niveles plasmáticos de Lp-PLA2, en individuos de la región del Bío-Bío. Para esto se produjo invitro la proteína recombinante en células HEK-293. Utilizando la tecnología de hibridomas de células B, se generaron anticuerpos monoclonales específicos para Lp-PLA2, a partir de células de bazo de ratones Balb/c inmunizados con Lp-PLA2 recombinante. Los anticuerpos fueron caracterizados por westernblot y ELISA. Nuestros datos demostraron que fue posible generar in vitro la proteína recombinante de Lp-PLA2. Además se produjeron 14 anticuerpos, de los cuales, dos presentaron una alta afinidad y especificidad contra la Lp-PLA2 recombinante. En conclusión este trabajo representa una primera etapa, en el desarrollo de un inmunoensayo que permita cuantificar niveles plasmáticos de la Lp-PLA2 en pacientes con riesgo cardiovascular.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular

Dirección de Correo: danitzasoto@udec.cl

Agradecimientos: Innova Chile CORFO 12IDL2-1335-1, Proyecto de cooperación internacional, PII220150053

Socio Patrocinante: Dra. Valeska Ormazábal

45- SIMVASTATINA DISMINUYE LAS MOLECULAS DE ADHESION ENDOTELIAL INDUCIENDO LA PRODUCCIÓN DE 15-EPI-LIPOXINA A4 IN LA CARDIOPATIA CHAGASICA CRONICA MURINA.

Simvastatin decreases endothelial adhesion molecules by inducing the production of 15-epi-lipoxin a4 in murine chronic chagas's cardiomyopathy.

Maya, J.D.1; González-Herrera, F.1; Cramer, A.2; Pimentel, P.2; Liempi, A.3; Castillo, C.3; Guzmán-Rivera, D.1; Machado, F.S.2; Kemmerling, U.3

1Program of Clinical and Molecular Pharmacology, ICBM, Faculty of Medicine, University of Chile. 2Department of Biochemistry and Immunology, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Brazil. 3Program of Anatomy and Developmental Biology, ICBM, Faculty of Medicine, University of Chile.

La enfermedad de Chagas, producida por el *Trypanosoma cruzi*, produce, en 30% de los casos, la Cardiomiopatía Chagásica Crónica (CCC), principal causa de mortalidad en esta enfermedad. En la CCC hay disfunción endotelial por aumento en la expresión de citoquinas proinflamatorias, activación del factor nuclear kappa B

(NFkB) y consecuente incremento en la expresión de moléculas de adhesión endotelial (ECAMs) aumentando la permeabilidad endotelial, inflamación y subsecuente fibrosis cardiaca. Actualmente, el benznidazol es el único agente antichagásico, pero no reduce todos los factores fisiopatológicos de CCC. Por otro lado, las estatinas (hipolipemiantes) también disminuyen la inflamación. In vitro, las estatinas disminuyen los niveles de NFkB y la expresión de ECAMs inducidos por *T. cruzi*. Más aun, se ha reportado que estos efectos están mediados por 15-epi-lipoxina A4 (15-epi-LXA4), eicosanoide producido por 5-lipooxigenasa (5-LO), en presencia de estatinas. La 15-epi-LXA4 reduce la inflamación cardiaca. Por tanto, en este estudio evaluamos la habilidad de las estatinas para disminuir la expresión de moléculas de adhesión en suero y corazones murinos infectados con *T. cruzi*, y el compromiso de 15-epi-LXA4 en estos efectos. Ratones Sv/129 WT y knockout para 5-LO infectados con *T. cruzi* se trataron con benznidazol 100 mg/kg/día, simvastatina 40 mg/kg/día o 15-epi-lipoxina A4 25 ug/kg/día durante 20 días, comenzando al día 30 postinfección. En los tejidos cardiacos, recolectados al día 80 postinfección, se determinó VCAM-1, ICAM-1, E-selectina por inmunohistoquímica, y la carga parasitaria cardiaca por qPCR. Tanto benznidazol como simvastatina disminuyeron las ECAMs tanto tisulares como solubles, excepto en los ratones 5-LO-/-; excepto cuando se administró 15-LXA4 exógenamente. Por tanto, 15-epi-LXA4 disminuye la activación endotelial inducida por simvastatina en ratones crónicamente infectados con *T. cruzi*.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular

Dirección de Correo: imaya@u.uchile.cl

Agradecimientos: FONDECYT Project N° 113-0189

46- STAT2 Y STAT3 GATILLADOS POR EL IFN-B MUESTRA UN ROL ANTI-INFLAMATORIO EN EL FIBROBLASTO CARDIACO DE RATA. Stat2 and Stat3 triggered by IFN-β shows an anti-inflammatory role in rat cardiac fibroblast.

Bolívar, S.; Humeres, C.; Vivar, R.; Muñoz, C.; Pardo, V.; Anfossi, R.; Osorio, J.M.; Olivares-Silva, F.; Díaz-Araya, G.A.

Laboratorio de Farmacología Molecular, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile; Santiago, Chile.

Introducción: El fibroblasto cardiaco (FC) es importante en la fase inflamatoria del remodelado cardiaco. El IFN-β activa las proteínas transductoras de señal y activadoras de la transcripción (Stats). Varios aspectos de este proceso siguen sin ser aclarados, en particular el papel de las Stats activadas por el IFN-β, en la regulación de la respuesta inflamatoria en el FC. Objetivo: Determinar que el rol anti-inflamatorio de IFN-β es mediado por la activación de las proteínas Stat2 y Stat3. Materiales y Métodos: Cultivo primario de FC adultos de rata en pasaje 2 fueron mantenidos en medio libre de suero por 12 horas y estimulados con IFN-β y LPS en presencia o ausencia de siRNA contra Stat1, Stat2 y Stat3. Los niveles de secreción de citoquinas y quimioquinas inflamatorias se detectaron por Luminex, la expresión de proteínas ICAM-1 y VCAM-1 fueron determinadas por western blot y la adhesión de neutrófilos y PBMC a FC fue evaluada por citometría de flujo y fluorimetría. Resultados: En el FC el IFN-β reduce la expresión de TNF-α, MCP-1 e IP-10 inducidas

por LPS, mediante la activación de Stat3 y Stat2, y la presencia de los siRNA contra Stat2 y Stat3 inhiben este efecto. Por otra parte, el IFN- β aumenta la expresión de IL-10 y reduce los niveles de expresión de IL-6, ICAM-1/VCAM-1, la adhesión de neutrófilos y PMBC a FC inducida por LPS; estos efectos son dependientes solamente de la activación de Stat3, ya que la presencia del siRNA contra Stat3 inhibió este efecto. Conclusión: Nuestros resultados revelan que, frente a un estímulo pro-inflamatorio, la activación de Stat2 y Stat3 por el IFN- β inducen una respuesta anti-inflamatoria en el FC.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular
Dirección de Correo: samirbolivargonzalez@hotmail.com
Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 113-0300. Beca CONICYT Doctorado en Chile para extranjeros sin residencia permanente en Chile 63130233.

47- COMPARACIÓN DE LA LIBERACIÓN BASAL Y LA INDUCIDA POR ESTIMULO MECÁNICO: EFECTO DE AE Y DIDS EN LA SECRECIÓN DE ATP Y SUS DERIVADOS. Comprision between basal and mechanical stimuli induced release: Effect of EA and DIDS in ATP and derivatives secretion.

Hernández, F.; Donoso, F.; Donoso, M.V.; Huidobro-Toro, J.P.

Laboratorio de Farmacología, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología y Centro de Desarrollo de NanoCiencia y Nanotecnología, Universidad de Santiago de Chile.

Las células endoteliales están en contacto directo con la sangre y participan en la regulación del tono vascular. En nuestro laboratorio hemos descrito que estímulos mecánicos liberan ATP extracelular como mensajero auto y paracrino. Para examinar la liberación de este se utilizó un estímulo mecánico en las células endoteliales de mesenterio de rata en cultivo. Los nucleótidos se separan mediante HPLC y se cuantifican por fluorescencia, se normalizan por la cantidad de proteínas presentes en el pocillo donde se realiza el estudio expresándose en pmol ATP/mg proteína. El estímulo mecánico aumentó rápidamente la secreción de ATP al medio con un curso temporal definido (el valor basal fue de 43 ± 13 n=8), y el máximo se alcanzó a los 30 seg (207 ± 86 , n=5) o 60 seg (192 ± 28 , n=5) para decaer a los 180 seg a 111 ± 21 (n=5), llegando a un valor cercano al basal a los 15 min. Para evaluar la participación vesicular en la de liberación de ATP tanto basal como estimulada, usamos azul de Evans (AE, 0,03-10 μ M) y Ácido 4,4'-Diisotiocianostilbeno-2,2'-Disulfónico (DIDS, 0,03-30 μ M), compuestos que se postulan que inhiben el transportador vesicular de nucleótidos (VNUT). 3-10 μ M AE aumentó la secreción basal de ATP, siendo 5 veces el aumento con la dosis más alta (97 ± 21 , n=15; v/s 539 ± 99 , n=8). DIDS no modifica la liberación basal de ATP. La secreción estimulada de ATP en presencia de AE se reduce en 3 y 10 μ M, en cambio DIDS no modifica la liberación de ATP por estímulo mecánico. Esto sugiere que la naturaleza de la liberación de ATP es diferente entre la basal y la estimulada, siendo al parecer la estimulada dependiente de vesículas sensibles a AE.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular
Dirección de Correo: felipe.hernandezv@usach.cl
Agradecimientos: FONDECYT 114-1132 y FB 0807, CEDENNA.
Socio Patrocinante: Dr. Juan Pablo García-Huidobro Toro

48- UNA DIETA RICA EN POTASIO REDUCE EL ALZA DE DIMETILARGININA ASIMÉTRICA PLASMÁTICA, INDUCIDA POR DIABETES EN RATAS. Rats fed a high potassium diet reduces plasma diabetes-induced asymmetric dimethyl-arginine.

Donoso, M.V.; Huidobro-Toro, J.P

Laboratorio de Farmacología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Las metilargininas son metabolitos producidos por arginina metiltransferasas 1 y 2 (PRMT1 y PRMT2), enzimas que generan tanto la forma asimétrica (ADMA) como la simétrica (SDMA) de la dimetilarginina. Mientras ADMA es un inhibidor endógeno de la eNOS, SDMA inhibe el transportador de arginina. Al aumentar ADMA se altera la función endotelial por disminución de la síntesis de NO, vasodilatador endógeno. Dietas rica en potasio (K) previenen/reducen la hipertensión y otras enfermedades vasculares. Para estudiar el efecto de la K en los niveles plasmáticos de ADMA y SDMA, se suplementó por dos semanas con K en ratas controles y diabéticas con 1 % de K en el alimento y en el agua con 0.5% la primera semana y 1 % K la segunda semana. Las dimetilargininas plasmáticas se caracterizaron luego de separación por HPLC y determinación fluorométrica; estándar interno se utilizó homoarginina. Los niveles plasmáticos de ADMA (1.1 ± 0.2 μ M, n=9) no se modifican por K (0.98 ± 0.5 μ M, n=7); sin embargo, ratas diabéticas por estreptozotocina el ADMA circulante (2.4 ± 0.8 μ M, n=7) se reduce al suplementar con K (0.4 ± 0.28 μ M, n=4, $p < 0.05$ vs diabéticos sin K). En forma paralela se determinó niveles de SDMA. El valor plasmático en animales controles es de 0.22 ± 0.03 μ M (n=9), valor que cambia a 1.3 ± 0.6 μ M, (n=7), $p < 0.05$ en ratas tratadas con K. En ratas diabéticas, los niveles plasmáticos de SDMA de 0.25 ± 0.05 μ M (n=4), se incrementan al suplementar con K 3.8 ± 1.7 μ M (n=4), $p < 0.05$. Se concluye que en diabetes, la dieta alta en K reduce los niveles de ADMA, en contraste con un aumento en los niveles de SDMA.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular
Dirección de Correo: verodonoso@hotmail.com
Agradecimientos: Financiado por Proyecto FONDECYT 114-1132 y Centro para el desarrollo de la Nanociencia y la Nanotecnología CEDENNA FB0807.
Socio Patrocinante: Dr. Juan Pablo García-Huidobro

49- APOLIPOPROTEÍNA A-I PROMUEVE LA CAPACIDAD ANGIOGÉNICA DE CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES HUMANAS, VÍA SÍNTESIS DE ÓXIDO NÍTRICO. Apolipoprotein A-I improves the angiogenic capacity of human endothelial progenitor cells through nitric oxide synthesis.

Parada, N.; León, M.; Valdés, S.; Honorato, P.; Sánchez, A.; Aguayo, C.; Radojkovic C.

Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción.

Apolipoproteína A-I (apoA-I), en su forma libre de lípidos, aumenta la síntesis de óxido nítrico (NO), en células endoteliales humanas maduras, mediante el receptor ecto-F1-ATPasa. En células progenitoras endoteliales humanas (hEPC), péptidos miméticos de

apoA-I favorecen la migración, proliferación y adhesión, vía síntesis de NO. Nuestro grupo demostró que apoA-I humana promueve la proliferación de las hEPC y la angiogénesis in vitro, a través de ecto-F1-ATPasa. Objetivo: Establecer si apoA-I humana aumenta la capacidad angiogénica de hEPC tempranas, vía síntesis de NO. Métodos: Las hEPC fueron aisladas desde sangre periférica de donantes sanos, previo consentimiento informado. Luego de 7 días de cultivo, se determinó: 1) la angiogénesis in vitro por la técnica Matrigel; 2) la actividad de la sintasa endotelial de óxido nítrico (eNOS), mediante la formación de L-[3H]-citrulina; 3) la biodisponibilidad de NO por fluorescencia, con la sonda DAF-FM-DA. Resultados: La capacidad angiogénica de hEPC tempranas aumentó significativamente en presencia de apoA-I 0,2 mg/mL (área +55%; largo +38%, $p < 0,01$). Este efecto se correlacionó con una mayor actividad de la eNOS (+49%, $p < 0,01$) y biodisponibilidad de NO (+28%, $p < 0,001$); este último fue revertido totalmente con L-NAME (0,1 mM), inhibidor de la eNOS. Conclusión: ApoA-I aislada desde plasma humano aumenta la capacidad angiogénica de hEPC tempranas, lo que dependería de una mayor síntesis de NO. Este efecto podría ser mediado por ecto-F1-ATPasa.

Area de la Farmacología: Farmacología cardiovascular

Dirección de Correo: cradojkovic@udec.cl

Agradecimientos: Becas Postgrado Magíster, Universidad de Concepción.

50- ESTUDIO COMPUTACIONAL DE INTERACCIONES POLÍMERO-FÁRMACO EN NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS. Computational study of polymer-drug interactions in polymeric nanoparticles.

Matus, M.F.*1; Palomo, I.1; Vilos, C.2

1Laboratorio de Hematología e Inmunología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile. 2Laboratory of Nanomedicine and Targeted Delivery, CIMIS-Facultad de Medicina, CBIB-Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile.

El uso de nanopartículas (NPs) poliméricas en sistemas de liberación de fármacos, ha tenido un alto impacto en medicina moderna y se han generado estrategias innovadoras para distintas enfermedades. El ácido poliláctico (PLA) es uno de los polímeros más utilizados en el desarrollo de este tipo de formulaciones, el cual en combinación con polímeros hidrofílicos como polietilenglicol (PEG) permite que las nanopartículas sean estables en el entorno fisiológico, manteniendo una alta biocompatibilidad y baja citotoxicidad. La alta prevalencia de enfermedades cardiovasculares (ECV) y las numerosas aplicaciones de nanopartículas PEGiladas, brindan una excelente oportunidad para el desarrollo de nuevas propuestas terapéuticas para ECV. En este trabajo, se utilizaron técnicas computacionales como Simulación de Dinámica Molecular y Blind Docking para comprender las propiedades estructurales y fisicoquímicas que establecen la asociación de cilostazol y adenosina 5'-monofosfato (AMP), ambos antiagregantes plaquetarios, con PLA-NPs y caracterizar la distribución de los fármacos en su interior, para ser propuesto como un nuevo nanosistema para ECV. Los resultados mostraron que la estructura de cilostazol presenta una mayor afinidad al core de PLA que AMP, lo cual se corresponde con los valores de logP.

Una correlación simple entre la energía de unión y la carga terapéutica no es suficiente para categorizar los compuestos, sino que se requiere un análisis más exhaustivo, considerando interacciones físicas y la orientación de los compuestos en las cavidades del core. La caracterización in silico de los complejos polímero-fármaco proporciona un mejor entendimiento de los factores que contribuyen a la formación de las NPs y el encapsulamiento de los compuestos en estos nanocarriers. Este enfoque representa una estrategia innovadora para evaluar el encapsulamiento de diversos fármacos antiplaquetarios dentro de PLA-NPs.

Area de la Farmacología: Farmacoquímica, Biotecnología

Dirección de Correo: mmatusc@alumnos.uta.cl

Agradecimientos: Financiado por CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2014-21140225. CV agradece el financiamiento de FONDECYT Regular #116-1438. UNAB Regular, DI-695-15/R.

51- INTERACCIÓN ANTINOCICEPTIVA DE TRAMADOL CON GABAPENTINA EN DOLOR MONONEUROPÁTICO EXPERIMENTAL.

Antinociceptive interaction of tramadol with gabapentin in experimental mononeuropathic pain.

Miranda, H.F.1,3; Noriega, V.1,2, Prieto, J.C.2,3, Zanetta, P.3, Castillo, R.5, Aranda, N.3, Sierralta, F.3,4

1Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello. 2Hospital Clínico, Departamento Cardiovascular, Universidad de Chile. 3Programa de Farmacología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 4Facultad de Odontología, Universidad Finis Terrae. 5Programa de Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

The neuropathic pain is the result of an injury to the nervous system, and different animal models have been established to meet the manifestations of the neuropathy. The pharmacotherapy for neuropathic pain includes nortriptyline, desipramine, amitriptyline, duloxetine, venlafaxine, oxycodone, pregabalin, ketamine, tapentadol, gabapentin and tramadol, but these are only partially effective when given alone. The aim of this study was to assess the antinociceptive interaction between gabapentin and tramadol using the isobolographic analysis and changes of the IL-1 β concentration in a mouse model of neuropathic pain (partial sciatic nerve ligation or PSNL). The i.p. administration of gabapentin (5 -100 mg/kg) or tramadol (12.5 - 100 mg/kg) displayed a dose- dependent antinociception in the hot plate assay of PSNL mice, and effects induced by the coadministration of gabapentin with tramadol was synergistic. Administration of gabapentin or tramadol reversed significantly the increase of concentration of IL-1 β induced by PSNL either 7 or 14 days and their combination was significantly more potent in reverse the elevated concentration of IL-1 β . The synergism obtained by coadministration of gabapentin and tramadol is proposed to result from action on different mechanism in pain pathways. Gabapentin or tramadol or their combination modulates the expression of pro-inflammatory cytokine, IL-1 β , in a model of mice PSNL which could be due to an inhibition of glial function.

Area de la Farmacología: Farmacología del dolor

Dirección de Correo: hmiranda@med.uchile.cl

Agradecimientos: Universidad Andres Bello y Universidad de Chile
Socio Patrocinante: Dr. H.F. Miranda

52- EFECTO CRONICO DE RESVERATROL EN UN MODELO DE DOLOR ONCOLOGICO OSEO EN RATONES. Chronic effect of resveratrol in a chronic oncologic pain model in mice.

Lux, S.1, Flores, C.1, Lobos, N.1, Miranda, H.F.1, Hernández, A.2, Constandil, L.2

1Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

El dolor por cancer es una causa importante de morbilidad en pacientes con cancer metastásico. La terapia analgésica actual para este tipo de dolor no esta exenta de efectos adversos. Por este motivo es importante el estudio de nuevos farmacos con efectividad similar y menos efectos adversos. Resveratrol es un polifenol con efectos analgesicos que podría tener utilidad en este tipo de dolor. En este estudio investigamos el efecto antinociceptivo crónico de resveratrol administrado intraperitoneal (ip) en un modelo de dolor oncológico óseo. El modelo de cáncer oseo se generó por la inyección de 15 uL de células BJ3Z, en el fémur izquierdo de ratones Balb/c. Entre el día 0 y 28 post inyección se determinó el umbral mecánico nociceptivo con el test del filamento de Von Frey en la pata y la funcionalidad con el test de marcha ambulatoria en un cilindro giratorio. Evaluamos el efecto de resveratrol 30 mg/Kg, 100 mg/Kg y 200 mg/Kg ip, Metadona 2,5 mg/Kg ip y/o sus vehículos inyectado una vez al dia entre el dia 14 y 20 sobre la conducta nociceptiva. Resveratrol ip disminuyó significativamente la algesia mecánica ($35,84 \pm 0,36$ gf/t-1, $41,21 \pm 1,10$ gf/t-1, $42,16 \pm 1,46$ gf/t-1 para 30, 100 y 200 mg/Kg respectivamente) respecto a su vehículo ($24,14 \pm 0,41$ gf/t-1) y a metadona ($22,66 \pm 0,33$ gf/t-1). Resveratrol tambien disminuyo el dolor funcional ($16,81 \pm 1,05$, $13,62 \pm 2,73$, $15 \pm 2,23$, para 30, 100 y 200 mg/Kg respectivamente) respecto a vehiculo ($26,75 \pm 1,78$) y metadona ($28,75 \pm 2,69$). En resumen resveratrol tiene un efecto antinociceptivo crónico en el modelo de dolor oncológico óseo y ademas es superior a metadona. Ademas el efecto de resveratrol se prolonga mas alla del dia 21 quedando un efecto residual hasta el dia 28.

Area de la Farmacología: Farmacología del dolor

Dirección de Correo: sebastianluxfebre@gmail.com

Agradecimientos: Financiado por Beca Conicyt N° 211-40171, Dicyt N°021-543CC y CEDENA FB0807

Socio Patrocinante: Dra. Teresa Pelissier S.

53- EFECTO AGUDO DE RESVERATROL EN UN MODELO DE DOLOR ONCOLOGICO OSEO EN RATONES. Acute effect of resveratrol in a chronic oncologic pain model in mice.

Flores, C.1, Lux, S.1, Lobos, N.1, Miranda, H.F.1, Constandil, L.2

1Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2 Laboratorio de Neurobiología,

Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

El tratamiento analgésico del dolor por cáncer presenta una insuficiente efectividad y reacciones adversas, propiciando la búsqueda de nuevos fármacos. Resveratrol es un polifenol que ha mostrado efectos analgésicos, sin embargo nunca ha sido evaluado en modelos de dolor oncológico óseo. En este estudio investigamos el efecto antinociceptivo agudo de resveratrol administrado vía intratecal (it) e intraperitoneal (ip) en un modelo de dolor oncológico óseo. El modelo de cáncer óseo se generó por la inyección de 15 uL de células BJ3Z, en el fémur izquierdo de ratones Balb/c. El día 14 post inyección se determinó el umbral mecánico nociceptivo con el test del filamento de Von Frey en la pata y la funcionalidad con el test de marcha ambulatoria en un cilindro giratorio. Evaluamos el efecto de resveratrol 200 mg/Kg ip, resveratrol 100 ug/5ul it y/o sus vehículos sobre la conducta nociceptiva durante 3 horas para los grupos ip y 1 hora para los grupos it. Resveratrol ip disminuyó significativamente la algesia mecánica ($6,12 \pm 0,09$ gf/t-1) respecto a su vehículo ($4,35 \pm 0,03$ gf/t-1), así como el dolor funcional ($-3,11 \pm 0,82$ s vs. $0,37 \pm 0,37$, respectivamente). Resveratrol it produjo un aumento significativo del umbral mecánico ($2,37 \pm 0,11$ gf/t-1) vs vehículo ($1,67 \pm 0,02$ gf/t-1) y una disminución del dolor funcional ($-0,54 \pm 0,17$ s vs. $0,55 \pm 0,15$, respectivamente) Se evidenció además que el efecto it es más precoz que el efecto ip. En resumen resveratrol tiene un efecto antinociceptivo agudo en el modelo de dolor oncológico óseo, siendo la it más rápida que la ip, lo que sugiere que el efecto de resveratrol es predominante a nivel del sistema nervioso central.

Area de la Farmacología: Farmacología del dolor

Dirección de Correo: christianfloresneumann@gmail.com

Agradecimientos: Financiado por Beca Conicyt N° 211-40171, Dicyt N°021543CC y CEDENA FB0807

Socio Patrocinante: Dra. Teresa Pelissier S.

54- EL ANTIOXIDANTE N-ACETILCISTEINA PREVIENE LA DISMINUCIÓN DE RYR2 CORRELACIONADO CON LA ALTERACIÓN EN EL APRENDIZAJE Y MEMORIA ESPACIAL. The antioxidant N-acetylcysteine prevents the RyR2 down-regulation correlated with impaired spatial learning and memory.

More, J.1, Montecinos, L.1, Galusso, N.2, Valdes, J.1, Hidalgo, C.1,3, Paula-Lima, A.C.1,4

1BNI, F. Medicine, Universidad de Chile; 2Dpt. Neurochemistry, Stockholm University; 3CEMC and ICBM, F. Medicine, Universidad de Chile; 4Institute for Research in Dental Sciences; F. Odontología, Universidad de Chile.

Introduction: Amyloid-beta peptide oligomers (ABOs), which are likely causative agents of Alzheimer's disease (AD), promote oxidative stress in primary hippocampal neurons, deregulate Ca²⁺ signaling mediated by redox-sensitive Ryanodine Receptor channels (RyR) and alter downstream Ca²⁺ dependent pathways, including down-regulation of RyR type-2 (RyR2) expression. The antioxidant N-acetyl-cysteine (NAC) prevents ABOs-induced aberrant Ca²⁺ signal generation. In addition, ABOs reproduce most AD pathological hallmarks when injected into rodent brains. Here, using an "in vivo" rodent model of early AD we investigated

the effects of NAC on learning and memory tasks and expression of two RyR isoforms, RyR2 and RyR3. Methods: ABOs or saline were injected bilaterally into the CA3 region of rat hippocampus. To evaluate hippocampal dependent spatial learning, animals were trained during 6 consecutive days in the Oasis Maze task, which involves searching for the reward in 1 of 21 equidistant wells on a circular arena provided with visual cues; in each session, the position of the reward was modified. Sessions were video recorded and analyzed using a Matlab routine. After 6 sessions, rat brains were removed for RyR2/RyR3 protein determination by western blot analysis. Results: Rats previously treated with NAC (oral ingestion for 3 weeks) and subsequently injected with ABOs exhibited improvement in learning and memory tasks, together with an increase in RyR2 but not in RyR3 protein content. Discussion: Based on these results, we suggest that the general antioxidant NAC protects hippocampal function from the noxious effects of ABOs, which include down-regulation of RyR2 channels that play essential roles in synaptic plasticity and memory. Hence, this antioxidant agent may represent a future approach to treat early AD.

Area de la Farmacología: Fisiología

Dirección de Correo: acpaulalima@u.uchile.cl

Agradecimientos: FONDECYT 115-0736, 114-0545; BNI P-09-015F

55- EL ESTRÉS POTENCIADO FARMACOLOGICAMENTE DURANTE LA LACTANCIA, ALTERA EL SISTEMA ENDOCANABINOIDE HEPÁTICO EN EL RATÓN ADULTO. ASOCIACIÓN CON DESARROLLO DE RESISTENCIA A INSULINA. Pharmacologically potentiated stress during lactation alters the hepatic endocannabinoid system in adult mice: association with development of insulin resistance.

Castillo, V.A.; Ponzano, P.; Pasmans, H.; Ronco, A.M.; Llanos, M.N.

Laboratorio de Nutrición y Regulación Metabólica. Unidad de Nutrición Humana. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA). Universidad de Chile. Santiago. Chile.

El Sistema Endocanabinoide (SEC), implicado en respuestas al estrés, está formado en parte por receptores canabinoides tipo 1 (RCB1), su agonista la anandamida (AEA) y la amido-hidrolasa de ácidos grasos (FAAH). Previamente, demostramos que el estrés temprano genera alteraciones metabólicas en el ratón adulto, con participación de RCB1. Dado que se requieren RCB1 hepáticos para el desarrollo de resistencia a insulina (RI), evaluamos si ratones estresados durante la lactancia con bloqueo simultáneo de RCB1, desarrollan RI cuando adultos. Además, evaluamos la expresión RCB1 y FAAH en hígado, fosforilación de AktSer473/Treo308, y nitración en tirosina (NO2-Tir) de mediadores de señalización de insulina. Ratones neonatos machos se tratan (días 1-10 de lactancia) vía oral con AM-251 (1-3 µg/g peso) y 1 h después con una inyección subcutánea de suero fisiológico en el lomo. Para este grupo principal AMST se diseñan controles apropiados. A los 150 días de edad, se evalúa la expresión (qPCR) y abundancia proteica (Western Blot) de RCB1, FAAH (adicionalmente su actividad), Akt total, Akt-pSer473, Akt-pTreo308 y Akt-NO2-Tir (por inmunoprecipitación). El grupo AMST desarrolló RI y mayor contenido de RCB1 en hígado en comparación a los controles, siendo la cantidad y actividad de

FAAH significativamente menor. Se observó un desbalance en la fosforilación de AktSer473/Treo308, y mayor Akt-NO2-Tir en el grupo AMST, no observándose nitración en IR-beta ni IRS1/IRS2. El estrés durante la lactancia junto con AM-251, altera el SEC hepático de ratones adultos, aumentando RCB1 y disminuyendo cantidad y actividad de FAAH. Esto sugiere un mecanismo concertado que conduce a hiperactividad de RCB1, asociado a un desbalance en la fosforilación de Akt-Ser473/Treo308 y una mayor Akt-NO2-Tir, que conduce a RI hepática y luego sistémica.

Area de la Farmacología: Fisiología

Dirección de Correo: mllanos@inta.uchile.cl

Agradecimientos: Financiado por Proyecto FONDECYT # 113-0106.

56- OLIGÓMEROS DEL PÉPTIDO B-AMILOIDE INDUCEN ALTERACIONES TEMPRANAS EN LA BIOGÉNESIS Y DINÁMICA MITOCONDRIAL EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER. β-amyloid peptide induces early alterations on mitochondrial biogenesis and dynamics in Alzheimer's disease.

Panes, J.; Barra, K.; Celis, T.M.; Godoy, P.; Silva-Grecchi, T.; Mennickent, D.; Fuentealba, J.

Laboratorio de Screening de Compuestos Neuroactivos, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

La enfermedad de Alzheimer (EA) se caracteriza por pérdida de la memoria, y del aprendizaje. El péptido beta-amiloide (Aβ) se ha descrito como mediador clave de la EA, especialmente los oligómeros solubles del Aβ (SO-Aβ, 50-70 kD), dada su capacidad de formar poros en la membrana, inducir una sobrecarga de Ca²⁺ mitocondrial y una disfunción mitocondrial. Sin embargo, se desconocen los mecanismos que subyacen las alteraciones en la regulación de la función mitocondrial y que participarían de la neurodegeneración provocada por Aβ. Las posibles alteraciones en la Biogénesis y en la Dinámica mitocondrial, son el objetivo principal de estudio en este trabajo. Dentro de los principales mediadores que participan en este proceso se encuentra la desacetilasa Sirt-1, la cual modifica postraduccionalmente, activando a PGC-1α. Por otra parte, DRP1 y Mfn1 son las principales proteínas implicadas en el proceso de fisión/fusión mitocondrial que regulan la dinámica. Así, nos propusimos estudiar si el péptido Aβ es capaz de alterar, de forma temprana, ambos procesos. Pudimos observar que los niveles de Sirt1 (SO-Aβ 1hrs: 60,79%, Aβ 2hrs: 56,03, n=4) y PGC-1α (SO-Aβ 1hr:24,72%, n=3) se reducen drásticamente luego de tratamientos agudos con SO-Aβ. En paralelo Mfn1 disminuye en presencia de SO-Aβ (2hrs: 41,84%, n=3), en tanto que DRP1 mostró un sustantivo incremento frente al tratamiento con el péptido (SO-Aβ 1hr: 220% , Aβ 2hr:198,38, n=5). Finalmente, el péptido promueve un potente cambio en el fenotipo de la red mitocondrial, desde una forma alargada y tubular (>1 µm) hacia un fenotipo fragmentado (<1 µm, n=3). En conclusión, nuestros resultados muestran que el péptido β-amiloide altera tempranamente el proceso de biogénesis, provocando un desbalance del equilibrio fisión/fusión, que lleva a la red mitocondrial hacia un estado fragmentado.

Area de la Farmacología: Fisiología

Dirección de Correo: jpanes@udec.cl

Agradecimientos: Proyectos Fondecyt 113-0747 y 116-1078 (JF).
Socio Patrocinante: Dr. Jorge Patricio Fuentealba Arcos

57- BLANCOS FARMACOLÓGICOS EN EPITELIO Y SISTEMA NERVIOSO ENTÉRICO DE COLON EN UN MODELO DE MALNUTRICIÓN PROTEICA. Pharmacological targets in colon epithelium and enteric nervous system in a protein malnutrition model.

González-Arancibia, C.1, Eyzaguirre-Velásquez, J.1, Díaz-Zepeda, C.1, González-González, M.1, Olavarría-Ramírez, L.1, Beltrán, C. J.2, Bravo, J.A.1, Julio-Pieper, M.1

1Grupo de Neurogastrobioquímica, Instituto de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. 2Laboratorio de Inmunogastroenterología, Servicio de Gastroenterología, Hospital Clínico Universidad de Chile.

El eje intestino-cerebro mantiene una comunicación recíproca y altamente regulada entre todos sus componentes, siendo una interacción importante la que ocurre entre células epiteliales del intestino y células nerviosas del sistema nervioso entérico. Se sabe que la malnutrición proteica tiene como consecuencia un aumento de la permeabilidad en intestino delgado, pero poco se conoce sobre cómo esta dieta afecta al intestino grueso (colon), y si es que la disrupción de la barrera repercutirá en el fenotipo de neuronas entéricas, al permitir el paso de moléculas exógenas hacia el plexo submucoso. Este trabajo tuvo como objetivo esclarecer una relación entre el aumento de permeabilidad de colon de ratas alimentadas con una dieta baja en proteínas y los cambios que ocurren en el código neuroquímico de neuronas del sistema nervioso entérico. En concordancia con resultados previos obtenidos por nuestro grupo de investigación, se encontró que una dieta baja en proteínas disminuye la resistencia eléctrica transepitelial de colon en ratas juveniles sometidas a malnutrición proteica. Además, en esta investigación se observó acortamiento del largo de las criptas del colon y disminución en la expresión de proteínas de unión estrecha Occludina y ZO-1, mediante western blot e inmunofluorescencia, respectivamente. Finalmente, se evaluaron cambios en el código neuroquímico en neuronas del plexo submucoso de colon, particularmente del péptido intestinal vasoactivo y neuropéptido Y, para los cuales se encontró co-localización con un marcador de neuronas sensoriales. Estos resultados permitirán determinar nuevos blancos farmacológicos en patologías de permeabilidad intestinal aumentada, no solo a nivel de barrera epitelial, sino también a nivel de neuronas del sistema nervioso entérico.

Area de la Farmacología: Farmacología gastrointestinal

Dirección de Correo: camila.gonzaran@gmail.com

Agradecimientos: Proyecto PUCV DI 125.709/2016

Socio Patrocinante: Dra. Marcela Julio Pieper

58- REGULACIÓN DIFERENCIAL DE LA PROLIFERACIÓN CELULAR EN CÉLULAS DERIVADAS DE CÁNCER GÁSTRICO A TRAVÉS DE LOS RECEPTORES PURINÉRGICOS P2Y2 Y P2X4. Differential regulation of cell proliferation in Gastric Cancer cells through the purinergic P2Y2 and P2X4 receptors.

Hevia, M.J.1,2; Castro, P.A.1; Bernal, G.1 y Coddou, C.1,2

1Laboratorio de Señalización Purinérgica, Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile. 2Programa de Doctorado en Biología y Ecología Aplicada. Universidad de La Serena y Universidad Católica del Norte.

Actualmente en Chile existen algunos tratamientos para el cáncer gástrico (CG), los que incluyen la extirpación quirúrgica del tumor seguido de quimioterapia. En estudios recientes se han descrito los efectos potenciales de drogas que afectan la señalización mediada por receptores para factores de crecimiento. En este contexto, la señalización purinérgica, mediada por ATP y otros nucleótidos extracelulares, ha ganado interés debido a su participación en diversos procesos relacionados con el cáncer. En la línea celular AGS, derivada de CG, hemos observado la expresión de los receptores purinérgicos P2Y2 y P2X4. Con el fin de estudiar su rol se realizaron estudios de proliferación con MTT en la línea celular AGS exponiéndolas a agonistas y antagonistas específicos. Los resultados de los de proliferación mostraron aumentos a concentraciones de 10-100 uM de ATP, pero a 300 uM se evidencia una significativa inhibición de la proliferación celular. Por otro lado 1-300 uM de UTP, un agonista selectivo de P2Y2, aumentó la proliferación de manera concentración-dependiente. La utilización del antagonista específico para P2Y2, AR-C118925XX, disminuyó significativamente la proliferación basal, mientras que el agonista específico de P2Y2, MRS2365, aumento la proliferación de manera similar al UTP. En otros experimentos se agregó ivermectina, un potenciador específico de P2X4, se observó que a concentraciones de 10 uM la proliferación disminuye respecto al control. Por otra parte, al utilizar los antagonistas de P2X4, BX430 y PPADS, se observó un aumento en la proliferación basal. Estos resultados nos permiten concluir que la estimulación de estas células con agonistas y antagonistas purinérgicos tiene efectos en la proliferación celular, lo que sugiere que la señalización purinérgica puede ser un blanco terapéutico para el tratamiento del CG.

Area de la Farmacología: Farmacología gastrointestinal

Dirección de Correo: maria.hevia@ucn.cl

Agradecimientos: FONDECYT 116-1490; FONDEQUIP EQM 140100

59- EFECTOS DE MALNUTRICIÓN JUVENIL SOBRE NEURONAS SENSORIALES DE COLON Y MARCADORES DE PERCEPCIÓN DE DOLOR EN RATA. Effects of juvenile malnutrition on colon sensory neurons and pain perception markers in the rat.

González-González, M.1; Díaz-Zepeda, C.1; González-Arancibia, C.1; Bravo, J.A.1; Julio-Pieper, M.1

1Grupo de Neurogastrobioquímica, Instituto de Química, Facultad de ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

Un óptimo funcionamiento intestinal consiste en que este prevenga el paso de toxinas, alérgenos y patógenos desde el contenido luminal. En diversas patologías de alta incidencia y prevalencia existen alteraciones en la permeabilidad de este órgano. También se ha reportado que alteraciones en la dieta pueden influir en el proceso fisiológico de permeabilidad y con ello en la disfunción intestinal. Por otra parte cabe mencionar la presencia de un repertorio neuro-químico correspondiente al sistema nervioso entérico (SNE), sistema propio del intestino, que incluye marcadores de inflamación y dolor, destacando al neuromodulador Sustancia P (SP). SP es un péptido que al unirse a su receptor neurokinina-1 (NK1R) actúan regulando la percepción de dolor. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de alteraciones de la dieta sobre el código neuro-químico de SP en colon de ratas en etapa juvenil, etapa crítica de desarrollo neuronal entérico. Mediante técnicas de inmunofluorescencia se realizaron análisis morfológicos de neuronas sensoriales y se evaluaron los cambios en el número de neuronas positivas para sustancia P en ratas sometidas a dieta control (CON) o baja en proteínas (BP) por 40, 45 y 50 días. Respecto a los grupos CON40, 45 y 50 no se encontraron cambios significativos en el número de neuronas sensoriales, sensoriales positivas para SP y negativas, todavía queda evaluar los cambios en dieta los cuales están asociados a un aumento en permeabilidad intestinal y podrían tener mayor participación a nivel de SNE que el efecto de la edad. Los efectos de los cambios en permeabilidad inducidos por malnutrición sobre la neuroquímica del SNE podrían contribuir para dilucidar mecanismos de patologías gastrointestinales o su participación como blanco farmacológico.

Area de la Farmacología: Farmacología gastrointestinal
Dirección de Correo: Marianela.g231@gmail.com
Agradecimientos: Proyecto PUCV DI 125.709/2016
Socio Patrocinante: Dra. Marcela Julio Pieper

60- EFECTO DE LA DISBIOSIS MATERNA SOBRE CONDUCTAS ASOCIADAS AL TRASTORNO DE DÉFICIT ATENCIONAL E HIPERACTIVIDAD EN RATAS JUVENILES. Effect of maternal dysbiosis on attention deficit and hyperactive disorder like behaviours in young rats.

Illanes-González, J.C.1, Barrera-Bugueño, C.1, Ponce-Guequén, E.1, Díaz-Zepeda, C.1, Gotteland, M.2, Julio-Pieper, M.1, Bravo, J.A.1

1Grupo Neurogastrobioquímica, Instituto de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso. Chile. 2Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago. Chile

El trastorno de déficit atencional e hiperactividad (TDAH) se manifiesta como falta de atención e impulsividad en niños debido a alteraciones en el sistema dopaminérgico afectando la funcionalidad de la corteza prefrontal y el cuerpo estriado. Además, la microbiota intestinal modula el comportamiento animal, siendo importante para el desarrollo y funcionamiento del sistema nervioso central (SNC), dando cuenta del eje intestino-microbiota-cerebro. Por ejemplo, ratones axénicos mostraron hiperactividad, elevados niveles de dopamina y baja expresión del receptor DA1 en el cuerpo estriado apuntando a la importancia de

la microbiota en el SNC. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de una disbiosis en etapas tempranas de la vida y su impacto en la aparición de conductas similares al TDAH en ratas juveniles. Para esto se generó disbiosis materna administrando oralmente un coctel de antibióticos de amplio espectro no absorbibles a ratas hembras tres días antes de parir hasta los 7 días post-natal (P7), y se evaluó la actividad motora, evaluación de riesgos y memoria en las crías machos al día P35. El grupo con disbiosis materna ganó menos peso y presentó mayores niveles de corticosterona plasmática que el grupo control. En el campo abierto el grupo experimental pasó menos tiempo en la zona periférica del aparato, tuvo menor distancia recorrida y velocidad media que los controles. En la prueba de reconocimiento de objeto novedoso, el grupo experimental reconoce el objeto novedoso, mientras que el grupo control no lo reconoce. Esto sugiere que la adquisición de bacterias intestinales maternas son importantes para el desarrollo del SNC. Además, estos efectos son observados en etapas juveniles, pero no se ajustan a los parámetros asociados al TDAH.

Area de la Farmacología: Farmacología gastrointestinal
Dirección de Correo: javi.illago@gmail.com
Agradecimientos: FONDECYT #114-0776
Socio Patrocinante: Dr. Javier A. Bravo Vivallo

61- EFECTO DE LA SEPARACIÓN MATERNA EN EL EJE INTESTINO-CEREBRO DE RATAS INFANTES. Effect of maternal separation on the gut-brain axis of infant rats.

Escobar-Luna, J.1., Barrera-Bugueño, C.1, Eyzaguirre-Velásquez, J.1, González-Arancibia, C.1, Olavarría-Ramírez, L.1, Ponce-Guequén, E.1, Gotteland, M.2, Julio-Pieper, M. 1, Bravo, J.A.1

1Grupo Neurogastrobioquímica, Instituto de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso. Chile. 2Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

La separación materna (SM) en roedores es un modelo utilizado para generar estrés en etapas tempranas de la vida. En este modelo existen alteraciones en funciones del sistema nervioso central (SNC) y también del sistema gastrointestinal, las cuales se han identificado en animales adultos. Sin embargo, no existe evidencia si estas alteraciones ocurren también en individuos más jóvenes, por ejemplo durante la infancia. Nuestro objetivo fue determinar si al día post-natal 21 (p21) ratas macho Sprague-Dawley que fueron separadas de sus madres 3h/día entre p2 y p12, presentan alteraciones tanto a nivel de permeabilidad intestinal como también a nivel de SNC. Para evaluar la permeabilidad intestinal del grupo SM vs un grupo control sin separar se determinó el tránsito de una molécula de FITC-dextrano 4,4kDa (FD4) y la resistencia eléctrica transepitelial (TEER). Además, se evaluó la expresión hipocámpal de mRNA 5HT1A mediante hibridación in-situ. No se observaron diferencias entre ratas SM y controles en la permeabilidad del colon a FD4 ni tampoco en la TEER. A nivel del hipocampo, tampoco se observaron diferencias entre SM y controles en la expresión del transcrito de 5HT1A. Estos datos sugieren que no es posible detectar los efectos de la separación materna sobre el eje cerebro-intestino de ratas infantiles, cambios que si se observan en

animales adultos. De esta forma, es posible sugerir que los individuos a esta edad presentan mecanismos de resiliencia al estrés, por lo que estudios posteriores que se realicen en edades juveniles permitirán pesquisar el momento en que las alteraciones descritas en animal adulto se manifiestan, con el fin de generar terapias que prevengan algunas de las patologías psiquiátricas y gastrointestinales.

Area de la Farmacología: Farmacología gastrointestinal
Dirección de Correo: jorge.escobar.luna87@gmail.com
Agradecimientos: FONDECYT #114-0776
Socio Patrocinante: Dr. Javier A. Bravo Vivallo

62- ACCIÓN DE MARESINA 1, UN DERIVADO DE ÁCIDO GRASOS OMEGA-3 Y SU ACCIÓN FRENTE AL DAÑO HEPÁTICO EN MODELO DE ISQUEMIA-REPERFUSIÓN. Maresin 1, a derivative from omega-3 fatty acids and its action against ischemia-reperfusion liver damage.

Rodríguez, M.J.^{1,2}; Soto, G.^{1,3}; Fuentealba, R.⁴; Zuñiga-Hernández, J.¹

¹Unidad de Farmacología, Laboratorio de Investigaciones Médicas, Escuela de Medicina, Universidad de Talca. ²Programa de Doctorado en Ciencias mención Investigación y Desarrollo de Productos Bioactivos, Instituto de Química de los Recursos Naturales, Universidad de Talca. ³Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca. ⁴Laboratorio de Fisiología. Departamento de Ciencias Biomédicas. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Talca.

La isquemia-reperfusión (IR) es una causa importante de daño hepático durante procedimientos quirúrgicos. La IR se desencadena tras la privación de oxígeno, seguida de la posterior restauración del flujo sanguíneo y aporte de oxígeno al hígado, en condiciones tales como resección de tejidos, trasplante y trauma. Dentro de los muchos factores involucrados durante la IR, el nuclear factor erythroid-2-related factor 2 (Nrf2) juega un papel clave en la inducción transcripcional de enzimas detoxificantes de fase II y de antioxidantes endógenos. Previamente se ha demostrado el efecto hepatoprotector de los ácidos grasos Omega-3, donde uno de sus derivados recientemente descubierto Maresina-1 (MaR1), posee acciones antiinflamatorias, antioxidantes y regenerativas. El objetivo de este estudio fue determinar la acción protectora de MaR1 frente al daño hepático en un modelo de isquemia-reperfusión. Ratas Sprague-Dawley fueron pretratadas 1 hora antes de la cirugía con MaR1 (70 ng/animal i.p) y sometidas a 1 hora de isquemia hepática parcial, seguido de 3 horas de reperfusión. Se evidenció un aumento diferencial de los niveles de Nrf2 nuclear (western blot) respecto al grupo sometido a IR (control daño). En concordancia con lo anterior se observó una normalización de la arquitectura hepática y los niveles de transaminasas GOT y GPT, en el grupo pretratado respecto al grupo IR, evidenciándose además un aumento en el número de células en división en el grupo pretratado con MaR1. Se concluye que la acción hepatoprotectora de MaR1 estará relacionada con su capacidad de activar rutas antioxidantes mediadas por Nrf2, junto a su potencial capacidad regenerativa, información que puede aportar a situaciones clínicas de IR, como de daño hepático, tales como cirugías bajo exclusión vascular y trasplante.

Area de la Farmacología: Farmacología gastrointestinal
Dirección de Correo: mariodrodriguez@utalca.cl
Agradecimientos: Escuela de Medicina, Universidad de Talca; CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2015-21151622

63- AUTOMATED HIGH-THROUGHPUT PERMETHYLATION FOR GLYCOSYLATION ANALYSIS USING MALDI-TOF-MS. Automated High-Throughput Permethylaton for Glycosylation Analysis Using MALDI-TOF-MS.

Shubhakar, A.^{1,2}; Spencer, D.I.R.¹; Fernande, D.¹; Wuhner, M.³

¹Ludger Ltd, Culham Science Centre, Abingdon, Oxfordshire United Kingdom. ²Division of BioAnalytical Chemistry, VU University Amsterdam, The Netherlands. ³Leiden University Medical Center, Center for Proteomics and Metabolomics, Leiden, The Netherlands.

For most therapeutic glycoproteins the glycosylation patterns correlate strongly with the clinical safety and efficacy profiles. In biological tissues these patterns can also correlate with the state of health or disease of the individual. Given this, there is increasing interest in accurately characterising changes in glycosylation, for example in Quality by Design (QbD) studies throughout biopharmaceutical development as well as in glycan biomarker discovery for medical diagnostics. Changes in glycosylation patterns can be complex and subtle and the numbers of samples needed to be analysed can be large, ranging from hundreds to thousands. To perform these studies, reliable systems for High throughput (HT) glycomics are needed. However, despite many advances in glycosylation analysis there are still problems with current technologies, including high cost per sample, low sample throughput, long turnaround times and high labour intensity. This poster presents “LongBow” — a system developed at Ludger for reliable HT glycomics. The “LongBow” system is made up of flexible, modular technologies for semi-automated processing of glycans from a variety of clinical and bio-therapeutic samples and analysis by mass spectrometry (MS) and/or ultrahigh performance liquid chromatography (UHPLC). The focus here will be on permethylated N- and O-glycans analysed by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS). The topics covered here, include automated sample preparation and clean-up, automated HT permethylation, and relative quantitation of glycoprotein samples using MALDI-TOF-MS and we conclude this automated HT method is convenient, fast, and reliable.

Area de la Farmacología: Tecnología farmacológica
Dirección de Correo: archana.shubhakar@ludger.com
Agradecimientos: Ph.D. Scholarships
Socio Patrocinante: Dr. Patricio Iturriaga-Vásquez

64- BIOCOMPATIBILIDAD DE MIOBLASTOS CON MATRICES FORMULADAS A PARTIR DE EXCIPIENTES NO MAMÍFEROS. Myoblasts biocompatibility with scaffolds formulated with non-mammalian excipients.

Weinstein-Oppenheimer, C.¹, Brown, D.I.², Orellana, N.¹, Pino, K.², Sánchez, E.³, Acevedo, C.^{3,4}

1Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso. 2Unidad de Biología de la Reproducción y el Desarrollo, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. 3Centro de Biotecnología Daniel Alkalay, Universidad Técnica Federico Santa María. 4Departamento de Física, Universidad Técnica Federico Santa María.

La ingeniería de tejidos se sustenta en constructos en los que coexisten células y un conjunto de excipientes. Estos últimos deben ser biocompatibles con las células que albergarán y además recientemente ha surgido el interés por contar con alternativas exentas de componentes mamíferos. El objetivo de este estudio fue comparar una serie de 6 formulaciones de matrices constituidas por combinaciones de agar o agarosa de origen comercial utilizando diferentes agentes plastificantes como glicerol y sorbitol en cuanto a su biocompatibilidad con células C2C12 de mioblasto murino. Para alcanzar este objetivo se sembró las matrices a densidades celulares de 1000, 2500 y 5000 células/cm² y se evaluó la viabilidad celular a las 24, 48 y 72 h usando el método de resazurin, un método fluorométrico, que se fundamenta en la actividad de las deshidrogenasas mitocondriales. Las formulaciones que utilizaron glicerol como agente plastificante exhibieron mejor desempeño. Por otra parte, las formulaciones agar/glicerol o agarosa/glicerol permitieron mejorar el tiempo de duplicación celular con cargas celulares de 2500 y 5000 células/cm². En general, en todos los sistemas se observa que a las 72 h se produce una estabilización de las curvas de crecimiento. En conclusión, la formulación agar /glicerol es biocompatible y mejora el tiempo de duplicación a alta carga celular con referencia a cultivo en monocapa. Esto permite contar con un sistema que se proyecta como formulación para propagación y diferenciación de miofibroblastos hacia tejido muscular con fines alimentarios o terapéuticos.

Area de la Farmacología: Tecnología farmacológica
Dirección de Correo: caroline.weinstein@uv.cl
Agradecimientos: Fondecyt 116-0311
Socio Patrocinante: Dra. Caroline Weinstein

65- SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS BIO-MIMÉTICAS DE ALBÚMINA RECUBIERTAS CON MEMBRANAS DE ERITROCITOS PARA LA LIBERACIÓN DE ATP. Synthesis and characterization of biomimetic albumin nanoparticles covered with erythrocyte membranes for ATP delivery.

Díaz, P.1; Huidobro-Toro, J.P.1,2

1 Laboratorio de Farmacología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. 2 Centro para el Desarrollo de la Nanociencia y la Nanotecnología (CEDENNA), Universidad de Santiago de Chile.

Para funcionalizar la superficie de nanopartículas (NPs) se usan generalmente materiales sintéticos que no siempre logran mejorar propiedades como la bio-compatibilidad y el tiempo de circulación. Proponemos el uso de membranas de eritrocitos (MEs) como recubrimientos bio-miméticos para funcionalizar NPs. Nuestro objetivo fue sintetizar y caracterizar NPs de circulación prolongada hechas con albúmina y recubiertas con MEs,

proyectando su uso con quimioterapéuticos que tienen receptores de membrana como es el caso del ATP. Se sintetizaron NPs de albúmina (NPA) por el método de desolvatación, determinando los valores óptimos de pH (8-10), de concentración de albúmina (10, 20 o 40 mg/ml) y de agente precipitante (2,33±0,04 ml). Las MEs fueron obtenidas a partir de lisados de eritrocitos y usadas para recubrir las NPA usando un extrusor. El tamaño fue analizado por microscopía electrónica de transmisión (NPA=91,9±4,3 nm y NPA-MEs=98,3±5,1 nm), mientras que el tamaño hidrodinámico (NPA=180,5±6,8 nm y NPAS-MEs=197,8±3,2 nm) y el potencial zeta (NPA=+17,8±3,5 mV y NPA-MEs=-13,7±2,9 mV) fueron determinados por dispersión dinámica de luz. El recubrimiento de las NPAs con las MEs fue verificado por microscopía electrónica y confocal mediante la colocalización de fluoróforos hidrofóbicos (DiO para MEs) e hidrofílicos (Fluoresceína para NPA). La capacidad de internalización fue analizada por microscopía confocal usando cultivos de células HeLa tratados con NPs teñidas con los fluoróforos mencionados. Observamos un menor número de NPs recubiertas internalizadas comparadas con las NPAs. Los resultados obtenidos demuestran que es posible obtener NPs a partir de materiales altamente bio-compatibles y bio-degradables y que los recubrimientos con MEs permiten regular el proceso de internalización para favorecer un mayor tiempo de circulación. Estas NPs serán usadas para la liberación de ATP.

Area de la Farmacología: Tecnología farmacológica
Dirección de Correo: patricia.diaz@usach.cl
Agradecimientos: Proyecto FONDECYT Postdoctorado N° 3160837
Socio Patrocinante: Dr. Juan Pablo García-Huidobro

66- ASPIRINA LIBERADORA DE ÓXIDO NÍTRICO INHIBE LA FORMACIÓN DE BIOFILMS DE CANDIDA ALBICANS DE MUCOSA ORAL. ANÁLISIS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO. Nitric Oxide releasing aspirin inhibits formation of biofilms from *Candida albicans* of oral mucosa. A Scanning Electron Microscopy study.

Suarez, N.; Duarte, L.F.; 1, D.; Delgadillo, D.; Molina-Berríos, A.

Laboratorio de Farmacología, Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

La capacidad de *C. albicans* de formar biofilms se asocia fuertemente al desarrollo de estomatitis protésica y además actúa como mecanismo de resistencia a antifúngicos. La predominancia de células filamentosas (hifas) en biofilms, está relacionada con la resistencia a fármacos debido a que estas células son cruciales para la adhesión a la superficie, desarrollo y maduración del biofilm, síntesis de matriz extracelular, invasividad, entre otros procesos. La aspirina posee efecto antibiofilm, lo que también se ha descrito en los fármacos liberadores de óxido nítrico (NO). En este estudio se evaluó el efecto antibiofilm de la aspirina liberadora de óxido nítrico (NCX-4040) sobre biofilms de *C. albicans* obtenidas de pacientes con estomatitis protésica. Metodología: luego de la obtención de un cultivo estandarizado de *C. albicans* (0,5 McFarland), los biofilms fueron desarrollados en placas de 96 pocillos a 37°C (RPMI 1640, SFB 10%) en ausencia y presencia de los fármacos durante 24 y 48 horas. Los biofilms fueron analizados a través de microscopía electrónica al cabo de

24 horas (etapa de formación) y 48 horas (biofilms maduros). Resultados: Por otro lado, la incubación de las células durante las primeras 24 horas con NCX-4040 inhibe la formación del biofilm con una disminución importante de células filamentosas. Este efecto se mantuvo incluso 24 horas post-tratamiento en ausencia del fármaco. NCX-4040 además fue capaz de potenciar el efecto de fluconazol, el cual por sí sólo no es capaz de afectar la microarquitectura del biofilm. Conclusión: NO-ASA inhibe la formación de biofilms, efecto que se mantiene incluso 24 horas después de remover el fármaco del medio. Además, es capaz de potenciar el efecto de fluconazol.

Area de la Farmacología: Farmacología Odontológica

Dirección de Correo: nicole.suarez@ug.uchile.cl

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT de Iniciación N° 111-40227 (CONICYT), UINICIA-2014-82383 y URED-2014-007 de la Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Chile. Las cepas de *Candida spp.* fueron cordialmente donadas por la Dra. Ximena Lee y Profesora Leyla Gómez, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

Socio Patrocinante: Dr. Alfredo Molina Berrios

67- EFECTO DE KAEMPFEROL EN LA CAPACIDAD DE MIGRACIÓN Y FORMACIÓN DE COLONIAS EN CELULAS DE CARCINOMA ESPINOCELULAR DE LENGUA. Kaempferol's effect on migration and colony formation ability on tongue squamous cell carcinoma.

Rodríguez, C.1; Peñailillo, C.1; Jara, J.A.2

1Facultad de Odontología, Universidad de Chile. 2 ICOD, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

El carcinoma espinocelular oral es una neoplasia maligna de etiología multifactorial con mal pronóstico en estados avanzados y gran capacidad de generar metástasis principalmente a ganglios linfáticos. Kaempferol es un polifenol que se encuentra en variados frutos y sus propiedades se atribuyen a la capacidad de inducir apoptosis e inhibir metástasis. El objetivo de este trabajo fue determinar la concentración efectiva 50 (EC50) de kaempferol en células de carcinoma espinocelular de lengua (CAL 27) mediante la técnica de MTT. Determinar efecto de kaempferol en capacidad de migración de CAL 27 mediante el método de la herida. Además, se determinó el efecto de kaempferol en capacidad de formar colonias de CAL 27 a través del ensayo clonogénico y establecer la selectividad de kaempferol mediante la comparación de los EC50 establecidos por MTT entre el efecto citotóxico en células tumorales y en queratinocitos orales. Se obtuvo un EC50 para kaempferol de 143

células Cal 27. En el método de la herida se observa una inhibición en la migración de las células tumorales al respecto del grupo control. En el ensayo de las colonias no se observa una disminución significativa a las concentraciones evaluadas. Los resultados revelan un efecto similar a otros polifenoles descritos en la literatura en otros tipos de cáncer sobre la viabilidad de CAL27. La inhibición de la capacidad de migrar determinada concuerda con estudios que muestran un efecto de inhibición de algunas metaloproteinasas de la matriz. En conclusión, se requieren más estudios para determinar un EC50 en otras líneas celulares u realizar ensayos de combinación que ayuden a

sensibilizar las células al efecto de quimioterápicos.

Area de la Farmacología: Farmacología Odontológica

Dirección de Correo: catalina.rodriguez@ug.uchile.cl

Agradecimientos: Proyecto U-Inicia 2014-82379

Socio Patrocinante: Dr. José Antonio Jara

68- LA PROGRAMACIÓN NEONATAL DE NEURONAS DOPAMINÉRGICAS CON HORMONAS SEXUALES REDUCE LA PREFERENCIA DE LUGAR CONDICIONADO A ANFETAMINA EN RATAS HEMBRAS ADULTAS. Programming of dopaminergic neurons by sex hormones reduces amphetamine-induced conditioned place preference in adult female rats.

Sanguinetti, N.; Martínez, J.; Cruz, G.; Andrés, M.E.; Renard, G.M.; Sotomayor-Zárate, R.

Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

Introduction: The programming concept is defined as the physiological redirection of an organ or tissue due to an early insult during sensitive developmental periods. In this context, our laboratory has shown that neonatal exposure to estradiol valerate (EV) increases the amount of dopamine (DA) in brain circuits associated with reward and locomotion in adult rats. Unexpectedly, amphetamine-induced DA release (systemic and intra-nucleus accumbens) is significantly lower in EV-treated females than control female rats. The objective of this study was evaluate the expression of conditioned place preference (CPP) to amphetamine in adult male and female rats exposed to EV at postnatal day (PND) 1.

Methods: Sprague-Dawley rats of both sexes were used. At PND1, they received a single dose of EV (0.1 mg/50 µL s.c. in sesame oil) or an equivalent volume of sesame oil (Control rats). At PND60, both, EV-treated and control rats were randomly assigned for a seven days CPP protocol. CPP protocol consisted of a pretest day, five days of conditioning with a daily dose of amphetamine (1 mg/Kg i.p.), and a test day. Time spent in the compartment associated with amphetamine is an index of the reinforcing value of the drug. Results: Results show that EV-treated female rats did not express CPP to amphetamine while control females, control males, and EV-treated males showed a significant preference for the amphetamine-associated compartment at the test day. In other work of our lab (see poster Selva, M.) using the same methods we observed a significant reduction of DAT mRNA expression in SN and VTA of EV-treated female rats, that could explain our behavioral and previous neurochemical results.

Conclusion: These results suggest that neonatal administration of EV does not produce CPP behavior in adult female rats due to reduced expression of the DAT (amphetamine molecular target) in midbrain dopaminergic neurons.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología

Dirección de Correo: nikole.sanguinetti@gmail.com

Agradecimientos: FONDECYT Grant N° 116-0398 For RS-Z

Socio Patrocinante: Dr. Ramón Sotomayor-Zárate

69- EFECTO DEL TRATAMIENTO CRÓNICO CON ANFETAMINA SOBRE EL SISTEMA VASOPRESINÉRGICO Y OXITOCINÉRGICO Y CONDUCTAS SOCIALES. Effect of amphetamine chronic treatment on vasopressinergic and oxytocinergic system and social behaviors.

Cid, V.1,3; Tapia, S.1; Cruz, G.2; Renard, G.M.1

1Laboratorio de Neurobiología de Conductas Sociales y Adictivas, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. 2Laboratorio de Alteraciones Reproductivas y Metabólicas, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. 3Programa Doctorado en Ciencias mención Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

El tratamiento del trastorno por déficit atencional en nuestro país para niños, niñas y adolescentes de bajos recursos es la anfetamina. Se ha observado que la exposición crónica en ratas jóvenes causa efectos conductuales similares a la depresión, reduce la sensibilidad a la recompensa por cocaína y afecta la memoria de trabajo. Sin embargo, hay una falta de investigaciones sobre los efectos a largo plazo de este fármaco. El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos a largo plazo de un tratamiento crónico con anfetamina en ratas preadolescentes sobre conductas sociales. Se utilizaron ratas macho tratadas con anfetamina (1 mg/Kg i.p.) durante 15 días desde el día postnatal (DPN) 25. Al DPN 60 se realizó el test de preferencia y memoria social. Luego se microdisectó la amígdala y septum lateral (SL) y se realizó análisis por qPCR de los receptores de oxitocina (OXTR) y vasopresina (V1aR). Los animales tratados con anfetamina mostraron una disminución en la preferencia social con respecto a los animales control. No se observaron diferencias en la prueba de memoria social. La expresión de OXTR y V1aR en amígdala y SL no mostraron diferencias, pero en ambos se aprecia una tendencia al aumento en las ratas tratadas. Nuestra investigación da luces sobre los efectos a largo plazo en algunos comportamientos como además en la expresión de dos receptores específicos, los cuales han sido ligados con conductas sociales como también en algunas enfermedades. Más allá de los efectos esperados del tratamiento para el déficit atencional, también se debería tener en cuenta las implicancias a nivel social, ya que en la actualidad los estudios se han enfocado en otros ámbitos, pero no en interacciones sociales, las cuales son fundamentales, sobre todo en etapas tempranas de la vida.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología

Dirección de Correo: cid.valeska@yahoo.cl

Agradecimientos: FONDECYT N° 111-40065 de GMR

Socio Patrocinante: Dra. Georgina M. Renard

70- LA BROMACIÓN EN C(5) DEL ALUCINÓGENO 2,4-DMA (2,4-DIMETOXIANFETAMINA) INDUCE EFECTOS ANSIOLÍTICOS EN RATAS SPRAGUE DAWLEY. Bromination at C(5) of the hallucinogen 2,4-DMA (2,4-dimethoxyamphetamine) induces anxiolytic-like effects in Sprague Dawley rats.

Klagges-Troncoso, J.1,2; Vilches-Lagos, M.J.1,2; Albornoz-Bustamante, J.1,2; Ramírez-Donoso, G.1,2; Avilés-Olmedo, G.1,2; Burgos-Villaseca, J.1; Castro-Castillo, V.3; Morgan, C.4, Hernández,

A.5; Sáez-Briones, P.1,2

1Laboratorio de Neurofarmacología y Comportamiento, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile. 2Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile. 3Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. 4Unidad de Nutrición Humana, INTA, Universidad de Chile. 5Laboratorio de Neurobiología, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

2,4-dimetoxianfetamina (2,4-DMA) es una fenilisopropilamina psicotrópica que se considera un alucinógeno de baja potencia en seres humanos y que posee un perfil farmacológico complejo, el cual incluiría efectos homologables al entactógeno MDMA (3,4-metilendioxi metanfetamina, "éxtasis"), los cuales son controversiales debido a las diferencias estructurales entre ambos compuestos y la carencia de datos experimentales que los respalden. No obstante, el perfil conductual de 2,4-DMA en ratas es atípico para un alucinógeno, no afectando los niveles basales de ansiedad y estableciendo una similitud con estimulantes estructuralmente relacionados. Esta característica contrasta con los efectos agudos a dosis bajas de otras anfetaminas alucinógenas dimetoxiladas en C(2) y C(5) y halogenadas en C(4), que poseen efectos ansiolíticos. Lo anterior sugiere que la trisustitución y/o la presencia de un halógeno podrían ser determinantes en la inducción de estos efectos. En este trabajo, se comparó los efectos agudos a diferentes dosis (5, 10 y 20 mg/kg) en ratas Sprague Dawley macho (200-250 g) de 2,4-DMA, su feniletilamina homóloga, el derivado correspondiente bromado en C(5), su feniletilamina homóloga y una anfetamina dimetoxilada en C(3) y C(4) y bromada en C(5) en el laberinto en cruz elevado post administración i.p. de dosis únicas. Se observa que la presencia del halógeno en C(5) induce un aumento del tiempo de permanencia en los brazos abiertos, efecto que es consistente con un perfil ansiolítico. Sin embargo, los efectos observados no se adscriben a una relación dosis-efecto estricta y se verifican a diferentes dosis en todos los derivados estudiados. Los resultados obtenidos indican que la bromación en C(5) modifica las propiedades farmacológicas de 2,4-DMA, generando derivados que poseerían características propias sólo de compuestos alucinógenos.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología

Dirección de Correo: jorge.klagges@usach.cl

Agradecimientos: Proyecto DICYT-USACH 0214015B

Socio Patrocinante: Dr. Patricio Sáez-Briones

71- REPROGRAMACIÓN NEONATAL CON ESTRADIOL VALERATO INDUCE EL CONSUMO DE ETANOL EN RATAS ADOLESCENTES SPRAGUE-DAWLEY. Neonatal reprogramming with estradiol induces ethanol consumption in adolescent Sprague-Dawley rats.

Rosas-Escobar, D.; Venegas, F.C.; Martínez, J.; Sotomayor-Zárate, R.

Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología,

Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

La reprogramación neonatal inducida por la administración de hormonas sexuales al día postnatal (PND)-1 produce efectos a largo plazo en órganos reproductivos y no reproductivos como el cerebro. Recientemente nuestro laboratorio demostró que la administración neonatal de estradiol valerato (EV) y testosterona propionato (TP) aumentan el contenido de Dopamina (DA) en Sustancia Nigra y Área Tegmental Ventral, la inmunoreactividad para tirosina hidroxilasa en ambas zonas cerebrales y un aumento de la liberación de DA inducida por estímulo depolarizante (K⁺ 110 mM) en Núcleo Accumbens. Sin embargo, la administración neonatal de Dihidrotestosterona (DHT), un andrógeno no aromatizable, no produce los efectos observados con la administración neonatal de EV y TP. El objetivo de este trabajo fue evaluar si la reprogramación neonatal con EV (0,1 mg/50 uL s.c.), TP (1 mg/50 uL s.c.), DHT (1 mg/50 uL s.c.) o aceite de sésamo (50 uL s.c.) afecta el consumo voluntario de etanol usando el paradigma de libre elección entre dos botellas con acceso intermitente a etanol desde el PND-32 hasta PND-66. Los resultados demuestran que la administración neonatal de EV (hembras: 6,6±0,2 g/Kg/día; machos: 8,1±0,2 g/Kg/día) y TP (hembras: 4,5±0,4 g/Kg/día; machos: 4,8±0,5 g/Kg/día) producen un aumento significativo del consumo de etanol respecto a ratas expuestas a DHT (hembras: 1,4±0,3 g/Kg/día; machos: 1,1±0,2 g/Kg/día) y aceite de sésamo (hembras: 1,2±0,1 g/Kg/día; machos: 1,7±0,3 g/Kg/día). Estos resultados sugieren que la exposición neonatal a hormonas sexuales con actividad estrogénica directa (EV) o indirecta (TP, mediante su aromatización a estradiol) favorece cambios celulares a largo plazo sobre neurotransmisión dopaminérgica que llevarían a un incremento del consumo de etanol.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología

Dirección de Correo: ramon.sotomayor@uv.cl

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT Regular 116-0398

Socio Patrocinante: Dr. Ramón Sotomayor-Zárate

72- CARACTERIZACION FARMACOLOGICA IN VIVO DE UNA NUEVA SUSTANCIA PSICOACTIVA DERIVADA DE METILTIOANFETAMINA. *In vivo* pharmacological characterization of a new psychoactive substance analogous to methylthioamphetamine.

Guajardo, F.G.1; Iturriaga-Vásquez, P.2; Reyes-Parada, R.3,4; Sotomayor-Zárate, R.1

1Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. Valparaíso, Chile. 2Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de la Frontera. Temuco, Chile. 3Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile. Santiago, Chile. 4Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile. Talca, Chile.

La síntesis de nuevas sustancias psicoactivas derivadas de amfetamina podría generar nuevas herramientas farmacológicas para tratar patologías como narcolepsia, obesidad, entre otras.

Durante el último tiempo nuestro grupo de investigación ha estudiado los efectos farmacológicos de nuevos derivados de p-metiltioanfetamina (MTA), específicamente sobre circuitos cerebrales dopaminérgicos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar un nuevo derivado de MTA denominado MT-But (p-metiltiofenil-2-butanamina; 2.5, 5.0 y 10.0 mg/Kg i.p.) en ratas Sprague-Dawley machos adultos, comparando su efecto con la droga patrón MTA (2.5 y 5.0 mg/Kg i.p.) y con la administración de solución salina fisiológica (1 mL/Kg i.p.). Se evaluó la actividad locomotora, la preferencia de lugar condicionado a la droga (CPP), la liberación de dopamina (DA) y el contenido de DA y su principal metabolito (ácido 3,4-dihidroxifenilacético [DOPAC]) en Núcleo Accumbens (NAcc). Nuestros resultados demostraron que la administración de MTA produce un aumento significativo de la actividad locomotora (P=0.0061), del grado de condicionamiento (CPP) (P=0.0030) y de la liberación de DA en NAcc (781.2072 ± 168,49%). Por el contrario, la administración de MT-But no produjo cambios estadísticamente significativos en las mismas pruebas experimentales. Por otro lado, MTA produjo un aumento del contenido de DA y una disminución del contenido de DOPAC en NAcc, mientras que MT-But solo disminuyó el contenido de DOPAC. Estos resultados nos demuestran que MT-But solo tendría un potencial efecto inhibitorio de la enzima monoaminoxidasa (MAO) y no bloqueante del transportador de DA. Además, a nivel de diseño de fármacos se pudo observar que las sustituciones alfa-éticas en la cadena alifática de la estructura de MTA, suprimen la actividad dopaminérgica que se observa en la droga patrón.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología

Dirección de Correo: ramon.sotomayor@uv.cl

Agradecimientos: Proyectos FONDECYT N°116-0398 (RSZ), N°113-0185 (MRP), N°115-0615 (PIV).

Socio Patrocinante: Dr. Ramón Sotomayor-Zárate

73- EFECTOS DE LA REPROGRAMACIÓN NEONATAL CON HORMONAS SEXUALES SOBRE LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS CLAVES PARA LA NEUROTRANSMISIÓN DOPAMINÉRGICA EN ÁREAS MESOLÍMBICAS DE RATAS HEMBRAS ADULTAS. Effects of neonatal reprogramming with sex hormones on the expression of key proteins for dopaminergic neurotransmission in mesolimbic areas of adult female rats.

Selva, M.1; Martínez, J.1; Bonansco, C.2; Sotomayor-Zárate, R.1

1Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, 2Laboratorio de Neurofisiología, Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

La reprogramación neonatal con hormonas sexuales produce cambios funcionales a largo plazo en el cerebro. Se ha descrito que la administración de estradiol valerato (EV) al día postnatal 1 (PND1) aumenta el contenido de dopamina (DA) en Sustancia Nigra-Área Tegmental Ventral (SN-VTA) y Cuerpo Estriado (CE) de ratas adultas, lo cual ha sido asociado al aumento de la inmunoreactividad para tirosina hidroxilasa en SN-VTA. Sin embargo, los efectos de la reprogramación neonatal con hormonas sexuales sobre otras proteínas claves para la neurotransmisión dopaminérgica no han sido estudiados. En este trabajo evaluamos el efecto de la administración neonatal de EV

(0.1 mg/50 uL), Testosterona Propionato (TP: 1 mg/50 uL) o Dihidrotestosterona (DHT: 1 mg/50 uL) sobre la expresión de receptores para DA-1 (D1), DA-2 (D2) y de su transportador (DAT) en SN, VTA, CE y Núcleo Accumbens (NAcc) en ratas hembras adultas. Nuestros resultados muestran una disminución significativa en los niveles del mRNA del D2 y DAT en SN y VTA para ratas hembras EV, y solo en SN para ratas tratadas con TP. Por otro lado, en SN y VTA de ratas tratadas con DHT se observó un aumento significativo en los niveles del mRNA de D1 y DAT. El CE mostró una disminución significativa en la expresión de D1 en ratas tratadas con EV y TP, mientras que D2 aumento en ratas DHT. Estos resultados sugieren que la exposición neonatal a hormonas sexuales modifica la expresión del mRNA de D1, D2 y DAT, de manera diferencial en los principales núcleos del sistema meso-límbico. Como etapa siguiente, nos proponemos evaluar las implicancias funcionales de estos cambios en los niveles de expresión de estas proteínas claves en la neurotransmisión dopaminérgica, a través de experimentos electrofisiológicos.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología
Dirección de Correo: ramon.sotomayor@uv.cl
Agradecimientos: Proyecto FONDECYT Regular N° 116-0398.
Socio Patrocinante: Dr. Ramón Sotomayor-Zárate.

74- SOBREEXPRESIÓN DEL TRANSPORTADOR DE GLUTAMATO GLT-1: EFECTO SOBRE LA HOMEOSTASIS DE GLUTAMATO Y EL CONSUMO DE ALCOHOL EN RATAS BEBEDORAS UCHB. Overexpression of glutamate transporter GLT-1: Effects on glutamate homeostasis and alcohol consumption in alcohol-drinking UChB rats.

Salas-Hernández, A.1; Rivera-Meza, M.1; Quintanilla, M.E.2; Herrera-Marschitz, M.2

1Laboratorio de Farmacología Experimental, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. 2Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se ha propuesto que el aumento del glutamato extracelular, específicamente en núcleo accumbens (NAc), sería un factor determinante en el desarrollo de tolerancia y dependencia al alcohol. GLT-1 es un transportador de glutamato que se expresa mayoritariamente en astrocitos y permite la recaptura del glutamato extracelular. La evidencia experimental muestra que en animales el consumo crónico de alcohol disminuye los niveles de GLT-1 en el NAc, resultando en niveles elevados de glutamato extracelular. Se encuentra además que la administración sistémica de fármacos que aumenta los niveles de GLT-1, disminuyen los niveles de glutamato y el consumo de alcohol. En esta investigación se propone estudiar los efectos que generaría la sobre-expresión del gen de GLT-1 en el NAc de ratas bebedoras UChB en los niveles de glutamato extracelular y en el consumo voluntario de alcohol. Para ello se generarán vectores lentivirales codificantes para GLT-1 y se evaluará en cultivo de astrocitos su capacidad de generar un transportador activo y de recapturar glutamato. Luego, estos vectores serán administrados estereotáxicamente en el NAc de ratas UChB y se determinará el consumo de etanol, los niveles extracelulares de glutamato en el NAc y la expresión del gen codificante para GLT-1 mediante RT-

qPCR y Western blot. Los resultados de esta investigación permitirán comprender de mejor forma el rol de GLT-1 y de la homeostasis de glutamato en el NAc en el desarrollo del alcoholismo.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología
Dirección de Correo: aimeeviviana@gmail.com
Agradecimientos: Financiamiento: OAICE-CAB-03-031-2015 (Universidad de Costa Rica); PI-0118-15 (Ministerio de Ciencia y Tecnología de Costa Rica); FONDECYT 111-30241 (MRM).

75- ESTUDIO NEUROQUÍMICO Y MOLECULAR EN UN MODELO DE EPILEPSIA EN RATONES. Neurochemical and Molecular Study in a Model of Epilepsy in Mice.

Noches, V., Rivera, C. y Andrés, M.E.

Laboratorio de Biología Celular y Molecular de la Adicción, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La epilepsia es un desorden neurológico, caracterizado por la aparición de ataques espontáneos recurrentes. La epilepsia del lóbulo temporal es la más frecuente y resistente al tratamiento farmacológico e incluye crisis originadas en estructuras mesio-basales, como hipocampo, amígdala y corteza entorrinal. De gran interés ha sido el tratamiento con cannabinoides para este tipo de epilepsias. El principal componente psicoactivo de la marihuana, el delta-9-tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC) y cannabidiol (CBD), componente no psicotrópico tienen propiedades anti-convulsivantes. En nuestro laboratorio se ha implementado un modelo de epilepsia en ratones por la inyección de Pilocarpina, un agonista del receptor muscarínico de acetilcolina, cuya administración sistémica causa ataques epilépticos del lóbulo temporal. En nuestras condiciones experimentales de microdiálisis *in vivo* en hipocampo de ratones C57BL/6 se observa un incremento en los niveles extracelulares de glutamato y GABA post inyección de Pilocarpina. Por otro lado, además de nuestros análisis neuroquímicos, estamos indagando los mecanismos epigenéticos/moleculares que se modifican durante el proceso de epilepsia, centrándonos en la desmetilasa de lisinas 1 (LSD1/KDM1A), enzima que tiene la función de desmetilar específicamente la lisina 4 de la histona H3 y que forma complejo con el represor de genes no neuronales CoREST. Hemos observado que la actividad de LSD1 disminuye tras el tratamiento de Pilocarpina. Nuestro objetivo es evaluar los efectos antiepilepticos a nivel neuroquímico y molecular de WIN 55,212-2, un agonista de los receptores CB.

Area de la Farmacología: Neuropsicofarmacología
Dirección de Correo: vero.noches@gmail.com
Agradecimientos: Proyectos FONDECYT Postdoctoral 316-0308, y FONDECYT Regular 115-0200.

76- CONTENIDO DE NORADRENALINA OVÁRICA Y EXPRESION DE LOS RECEPTORES BETA 2 Y BETA 3 ADRENÉRGICOS EN LA DESCENDENCIA DE RATAS OBESAS. Ovarian norepinephrine content and expression of beta 2 and beta 3 receptors in offspring of obese mothers.

Ceballo, K.1; Álvarez, D.1; Olgúin, S.1; Guajardo, F.G.2; Sotomayor-Zárate, R.2; Cruz, G.1

1Laboratorio de Alteraciones Reproductivas y Metabólicas, 2Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

En Chile más de un 50% de las mujeres embarazadas presenta un exceso de peso. Esta condición se asocia a un mayor riesgo de desarrollar enfermedades reproductivas y metabólicas en la etapa adulta. El ovario posee una regulación nerviosa por fibras simpáticas que son reguladas desde el núcleo paraventricular del hipotálamo. Una de las formas de activación del sistema simpático a nivel central está dada por la acción de la leptina a nivel del hipotálamo, razón por la cual la hiperleptinemia podría incrementar la actividad simpática ovárica provocando alteraciones al nivel reproductivo. Este estudio busca demostrar una asociación positiva entre los niveles de leptina y una potencial activación simpática en el ovario de ratas hijas de madres con obesidad gestacional inducida por el consumo de una dieta alta en grasa. Se utilizaron ratas de la cepa Sprague-Dawley, sometidas a dieta control (13% de kcal en grasa) o alta en grasa (62% de kcal en grasa) previo y durante la preñez y lactancia. Se analizó en la descendencia el contenido de noradrenalina (NA) por HPLC acoplado a detección electroquímica, la expresión génica de los receptores beta 2 y beta 3 adrenérgicos por qPCR y el número de quistes en el ovario a los 60 días de edad. Se determinó que las crías de madres obesas presentaron un mayor contenido de NA en el ovario, y una expresión aumentada de los receptores beta 2 adrenérgicos en comparación con crías controles. Esto se relacionó con un aumento de los quistes foliculares y disminución de los cuerpos lúteos. Concluimos que una hiperactivación simpática asociada a la obesidad puede conducir a una menor ovulación y la formación de quistes ováricos.

Area de la Farmacología: Farmacología endocrina-reproductiva

Dirección de Correo: gonzalo.cruz@uv.cl

Agradecimientos: FONDECYT 111-30707 (G.C.)

Socio Patrocinante: Dr. Gonzalo Cruz

77- ESTUDIO PILOTO QUE EXPLORA EL IMPACTO DEL ÍNDICE DE MASA CORPORAL DE LA MADRE EN EL PERFIL EXOSOMAL A TRAVÉS DE LA GESTACIÓN. A pilot study exploring the impact of maternal body mass index on the exosomal profile across gestation.

Zuñiga, F.A.1; Elfeky, O.2; Scholz-Romero, K.2; Rice, G.E.2,3; Díaz, E.1; Ormazábal, V.1; Aguayo, C.1; Salomon, C.1,2,3

1Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. 2Exosome Biology

Laboratory, Centre for Clinical Diagnostics, University of Queensland Centre for Clinical Research, Royal Brisbane and Women's Hospital, The University of Queensland. 3Department of Obstetrics and Gynecology, Ochsner Baptist Hospital, New Orleans, Louisiana, USA.

Aproximadamente un 52% de las mujeres presentan sobrepeso o son obesas, de las cuales el 35% esta en edad reproductiva. La obesidad favorece el inicio y desarrollo de varias complicaciones en el embarazo, con consecuencias a corto y largo plazo sobre la madre y el niño. Durante el embarazo, la placenta libera exosomas en la circulación materna, sin embargo, se desconoce el efecto del estado metabólico de la madre en el perfil exosomal a través de la gestación. Muestras de plasma se obtuvieron de mujeres embarazadas en diferentes momentos de la gestación (10-38 semanas) desde el Centro Médico Bautista de Ochsner (Nueva Orleans, EE.UU.) y se clasificaron de acuerdo al índice de masa corporal (IMC) en normal, sobrepeso y obesidad. Se determinó el número total de vesículas (exo) y exosomas específicos derivados de la placenta (PDE) mediante el análisis de nanopartículas (NanoSight) junto con el seguimiento de CD63 o PLAP. Por último, sólo partículas fluorescentes fueron rastreadas y se determinó el perfil exosomal. Resultados: EXO aumentó progresivamente a través de la gestación de 10 a 38 semanas, independiente del IMC materno. Las pendientes del análisis de regresión fueron significativamente diferentes ($p < 0,001$) entre las mujeres obesas y normales o con sobrepeso. Al final de la gestación EXO fue significativamente mayor en las mujeres obesas en comparación a normales y SP. Por último, la contribución de la PDE de la población total exosomal fue significativamente mayor en las mujeres obesas entre 10-20 semanas en comparación con normales y SP. Conclusiones: El IMC materno cambió el perfil exosomal derivado de placenta a través de la gestación. exosomas placenta pueden contribuir al estado proinflamatorio asociado con la obesidad.

Area de la Farmacología: Farmacología endocrina-reproductiva

Dirección de Correo: fzuniga@udec.cl

Agradecimientos: Proyecto Internacional de Investigación PII220150053

Socio Patrocinante: Dr. Felipe Zúñiga Arbalti

78- ESTUDIO FARMACOCINÉTICO EN CONEJOS DE UN FÁRMACO ANTIPARASITARIO Y SU COMPLEJO DE INCLUSIÓN CON HIDROXIPROPIL-BETA-CICLODEXTRINA. Pharmacokinetic in rabbits of a drug antiparasitic and its inclusion complex with hydroxypropyl-beta-Cyclodextrin.

Villagra, J.A.; Villa, F.; Torres, P.; Castillo, E.V.; von Plessing, C.

Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción.

Se caracterizó la farmacocinética de un antiparasitario (AP) utilizado ampliamente en medicina veterinaria y de un complejo de inclusión de este fármaco con Hidroxipropil-beta-ciclodextrina (AP-CD) en conejos. Se determinaron los principales parámetros farmacocinéticos de ambas preparaciones y la biodisponibilidad relativa del fármaco complejo frente al fármaco sin complejar.

El comportamiento farmacocinético de AP y AP-CD fue estudiado a partir de muestras de suero, luego de una administración oral a un grupo de 4 conejos cuyos pesos variaban entre 2,4 y 4,6 kg. El estudio se diseñó de manera de que cada conejo actuara como sujeto experimental y como sujeto control a la vez, administrándoles ambas formulaciones. Entre cada administración de fármaco, el período de blanqueo o washout fue de 3 semanas en donde se dejó reposar a los conejos para eliminar todo rastro de fármaco del organismo. Los resultados muestran una alta variabilidad intra individual, que se ve reflejada en los perfiles farmacocinéticos promedio obtenidos para ambas formulaciones. La absorción del fármaco es lenta, observándose que la concentración máxima (C_{max}) se alcanza alrededor de las 24 horas (t_{max}) luego de la administración. En todos los perfiles individuales de los conejos se observó que los parámetros C_{max} y AUCTOTAL fueron superiores para la formulación AP-CD (C_{max} promedio = 19,13 ng/mL; AUC promedio = 1849 ng*h/mL) respecto a AP (C_{max} promedio = 13,58 ng/mL; AUC promedio = 1121 ng*h/mL). Esto sería indicativo de un aumento de la solubilidad de AP por acción de la complejación con CD. Finalmente, la biodisponibilidad relativa promedio para AP-CD fue de 1,63 respecto al fármaco sin complejar.

Area de la Farmacología: Farmacocinética

Dirección de Correo: josevillagra@outlook.com

Agradecimientos: EWOS Innovation Chile

79- FRAGMENTOS DE ANTICUERPOS DE CADENA SIMPLE (SCFV) ACOPLADOS MEDIANTE DOMINIOS DE TRIMERIZACIÓN, UNA ALTERNATIVA AL USO DE ANTICUERPOS MONOCLONALES TERAPÉUTICOS. Single chain variable Fragments (scFv) coupled by trimerization domains, an alternative to Monoclonal Antibody Therapy.

Zapata, L.; Mansilla, R.; Sánchez, O.R.

Laboratorio de Biofármacos, Departamento de Farmacología, Universidad de Concepción.

Actualmente los Anticuerpos Monoclonales constituyen una importante herramienta para el tratamiento de patologías como cáncer, infecciones crónicas y enfermedades autoinmunes. Sin embargo, a pesar de las mejoras a nivel productivo que han experimentado las compañías biofarmacéuticas durante los últimos años, los tratamientos basados en Anticuerpos Monoclonales continúan siendo excesivamente caros, impidiendo el acceso de toda la población a estas nuevas terapias. Los altos precios se explican por los costos de inversión y producción necesarios para la obtención de anticuerpos monoclonales en cultivos de células superiores, sistema que no puede ser reemplazado por alternativas más económicas como cultivos de Bacterias o Levaduras, debido a las características intrínsecas de los Anticuerpos. En este trabajo se propone una alternativa a la producción de anticuerpos monoclonales terapéuticos, la que consiste en: La expresión de fragmentos de anticuerpos de cadena simple (scFv) acoplados mediante dominios de trimerización. Esto permite obtener moléculas de similar peso y actividad que un anticuerpo monoclonal, pero expresado en una plataforma más económica como Levaduras. Con el objetivo de obtener scFvs acoplados a nuevos dominios de trimerización, se construyó el

vector de expresión en levaduras *Pichia Pastoris* pPSHG20-tetra. Este vector codifica para la expresión de un scFv anti VEGF acoplado al dominio de trimerización de la tetranectina al que se añadió en su extremo N-Terminal una etiqueta de poli Histidina para facilitar su Identificación y posterior purificación. Posteriormente se transformaron levaduras de la cepa MP-36 con el plásmido pPSHG20-tetra mediante electroporación. Los clones transformantes fueron seleccionados mediante auxotrofia y la inserción del casete de expresión se chequeo mediante Southern Blot. La expresión de los scFv se indujo con 0.7% de metanol por 4 días. Luego los scFv fueron purificados mediante cromatografía de afinidad por iones metálicos. Tanto la expresión de las proteínas como su capacidad para trimerizar fueron analizadas mediante SDS-PAGE, Western Blot y densitometría, tanto en condiciones reductoras como no reductoras. Como resultados de este trabajo se logró expresar en altas concentraciones fragmentos scFv los cuales se encontraban acoplados mediante el dominio de trimerización de la tetranectina. La estimación del peso molecular de los scFv trimericos fue similar al de un mAb del isotipo IgG. Por otra parte, se obtuvieron trimeros de los fragmentos scFv con alta pureza (89%), los que mantuvieron intacta su estructura trimétrica. Finalmente fue posible comprobar su actividad bloqueadora, mediante ensayos in vitro Este trabajo confirma la posibilidad de producción y purificación de scFv funcionales acoplados a dominios de trimerización, lo que permitiría obtener scFv terapéuticos con características farmacocinéticas similares a un mAb pero por un menor costo de producción.

Area de la Farmacología: Farmacocinética

Dirección de Correo: lionelzv@gmail.com

80- EL RECEPTOR B1 DE CININAS INDUCE LA EXPRESIÓN Y SECRECIÓN DE IL-10 Y M-CSF EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA FAVORECIENDO LA MIGRACIÓN DE MACRÓFAGOS Stimulation of kinin B1 receptor in breast cancer cells increases IL-10 and M-CSF secretion favoring macrophage migration.

Pavicic, M.F.1; Matus, C.E.2, Molina, L.1, Figueroa, C.D.1, Ehrenfeld, P.1

1Laboratorio de Patología Celular, Instituto de Anatomía, Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. 2 Departamento de Ciencias Básicas, Universidad de La Frontera.

El microambiente tumoral en el cáncer de mama, es complejo y conformado por diferentes tipos celulares que interactúan a través de factores de crecimiento y citoquinas. Entre estas células están los macrófagos, los cuales en ambientes ricos en IL-10, factor estimulador de colonia de monocitos (M-CSF) o IL-4 son capaces de diferenciarse a un fenotipo conocido como M2. Un péptido presente, en altos niveles plasmáticos en pacientes con cáncer de mama, es Lis-des[Arg9]bradicipina (LDBK), el cual ejerce su efecto estimulando al receptor B1 de cininas (RB1). Estudios previos demuestran que el RB1 controla la proliferación e invasión de las células de cáncer de mama. Sin embargo, su participación en la expresión y liberación de citoquinas que favorezcan la migración y diferenciación de macrófagos en el cáncer de mama, no ha sido evaluada aún. Por lo tanto, nuestro objetivo fue determinar, si el RB1 induce la expresión y/o liberación de IL-10 y

M-CSF en células de cáncer de mama. Para ello, se utilizaron dos líneas celulares, tratadas a distintos tiempos y dosis con LDBK. Los extractos proteicos y medios condicionados (MC) fueron analizados mediante microarray y/o Western blotting, observándose un aumento en la expresión y secreción de IL-10 y M-CSF. Además, se determinó que la estimulación de los macrófagos con MC de células estimuladas con LDBK, induce un aumento en la activación de MAPK ERK1/2, vía relacionada con la actividad migratoria de estas células. Por tanto, la activación de RB1, en células de cáncer de mama induce la expresión y liberación de citoquinas como IL-10 y M-CSF las cuales vía activación de MAPK ERK1/2 podrían favorecer la capacidad migratoria de los macrófagos durante la progresión tumoral.

Area de la Farmacología: Fisiología, Farmacología oncológica

Dirección de Correo: francisca.pavicic@gmail.com

Agradecimientos: Proyecto DID S-2016-43, Dirección de Investigación y Desarrollo, Escuela de Graduados de Medicina, UACH.

81- PARTICIPACIÓN DE LAS VÍAS NITRIDERGIC Y OPIOIDERGIC EN LA ANTINOCICEPCIÓN DE GABAPENTINA EN EL TEST OROFACIAL DE FORMALINA EN RATONES
Involvement of nitridergic and opioidergic pathways in the antinociception of gabapentin in the orofacial formalin test in mice.

Noriega, V.1, Miranda, H.F.1, Sierralta, F.4, Lux, S.3, Ciudad, N.3, Zanetta, P.3, Prieto, J.C.2,3.

1Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello. 2Hospital Clínico, Departamento Cardiovascular, Universidad de Chile, 3Programa de Farmacología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, 4Facultad de Odontología, Universidad Finis Terrae, 5 Programa de Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Pain is one of the most common problems in clinical medicine. There is considerable evidence that pharmacologic approaches are the most widely used therapeutic options to ameliorate persistent or chronic pain. In this study it was evaluated the effect of I-NAME and naltrexone in the antinociception induced by administration of gabapentin in the orofacial formalin test of mice. The algometer assay was performed by the administration of 20 µl of 2% formalin solution injected into the upper right lip of each mouse. The dose of gabapentin that produces the 50% of the maximum possible effect (ED50) was significantly increased by the pretreatment with I-NAME or naltrexone. These results suggest that gabapentin produce antinociception partly via the activation nitridergic pathways and opioid system.

Area de la Farmacología: Farmacología del dolor

Dirección de Correo: vnoriega@ciq.uchile.cl

INDICE

A			
Abdalla, D.S.	68	Astudillo-Guerrero, C.	91
Acevedo, C. (1)	70, 92, 125	Astuya, A.	52, 79
Acevedo, C. (2)	83, 112, 113, 116	Avello, M.	108
Acevedo-Fuentes, W.A.	67	Avello, Z.	75
Acuña, M.	54	Avilés-Olmedo, G.	128
Adriasola-Carrasco, A.A.	91	B	
Aguayo, C.	81, 85, 98, 117, 119, 131	Baaden, M.	64
Aguayo, L.G.	48, 88	Bahamondes, C.	93
Aguilar, P.	73	Barra, K.	122
Aguilera, J.	57	Barra, R.	95, 114
Aguirre, C.A.	89	Barrera-Bugueño, C.	91, 124
Agúndez, J.A.	83, 112, 113, 116	Barreto, M.N.	91
Aguzzi, A.	56	Barroso, A.	53
Alarcón, A.F.J.	78, 110, 111	Bascuñan, D.A.	88
Alarcón, J.	108	Bastías, C.P.	105
Alarcón, P.	91	Beaumont, M.	75
Alberti, C.	104	Becerra, J.	77, 111
Albornoz-Bustamante, J.	128	Beltrán, C.J.	49, 123
Alderete, J.	60	Beltrán, M.J.	71
Alfaro, I.E.	98	Benavente, B.	101
Almanza, P.J.	78, 110, 111	Bennett, B.L.H.	53
Almohammadi, D.	98	Bermúdez, I.	48
Álvarez, D.	59, 131	Bernal, G.	123
Andrades, J.	56	Bernales, S.	98
Andrés, M.E.	105, 127, 130	Berríos-Cárcamo, P.	55
Anfossi, R.	86, 118	Bhat, M.A.	53
Anwandter, P.	53	Blanco, E.H.	105
Arancibia-Radich, J.	76, 109	Bolívar, S.	86, 118
Aranda, M.	108	Bonansco, C.	89, 129
Aranda, N.	120	Borges, K.	108
Aranguren, A.J.	89	Bravo, J.A.	90, 91, 123, 124
Araya, A.	82	Bravo-Sagua, R.	62
Arce, P.C.	69, 72	Brea, J.	67, 106
Ardiles, A.	74	Briceño, A.	107
Arenas, A.	84	Brito, P.	107
Arévalo-Romero, C.	91	Brito, R.	62, 84
Arias-Santé, M.F.	76	Brown, D.I.	70, 92, 97, 125
Arismendi-Macuer, M.	103, 117	Buendía, A.	94
Aroca, C.	85	Bugeño, I.	109
		Burger, C.	105

Burgos, C.F.	54, 115	Cires, M.J.	47, 75
Burgos, H.	94, 95, 114	Ciruela, F.	46
Burgos-Villaseca, J.	94, 95, 128	Ciudad, N.	133
C			
Cabezas, F.	74	Coddou, C.	90, 123
Cáceres, D.	79, 83, 112, 113, 116	Cofré, C.	94
Calfío, C.	76, 104	Coloma, B.	82
Calvo, M.	53	Constandil, L.	65, 87, 121
Camacho, F.	80, 102	Contreras, I.	97
Campanini, J.	56	Contreras, S.	79
Campanini-Salinas, J.	75	Contreras-Ferrat, A.	62
Campos, M.	67	Cornejo, P.	84, 117
Cancino, T.	106	Corringer, P.J.	54, 64
Cañadas, F.	91	Cortés, K.	107
Cardona, D.	91	Cortés-Toledo, G.	91
Carrasco, O.F.	67	Cortez-San Martín, M.	106
Carrasco-Pozo, C.	50, 75, 108	Court, F.A.	53
Cartier, L.	104	Covarrubias, A.	85
Carvajal, F.	91	Crisosto, N.	58
Carvajal, R.	108	Cruz, D.	80, 87
Casanova, A.	86	Cruz, G.	59, 93, 97, 127, 128, 131
Cassels, B.K.	39, 67, 94, 106	Cuervo, A.M.	98
Castillo, A.	94	Cuesta, S.	69
Castillo, C. (1)	100	Cuevas, A.	68
Castillo, C. (2)	118	D	
Castillo, E.V.	92, 131	De la Cruz, J.	98
Castillo, G.	62	De la Fuente, E.	90
Castillo, R.L.	50	del Campo, A.	62, 110
Castillo, V.A.	89, 122	Delarue, M.	64
Castro, P.A.	90, 123	Delgadillo, D.	93, 126
Castro-Castillo, V.	57, 61, 73, 94, 95, 104, 128	Delgado, L.M.	98
Catalán, M.	57, 61	Delporte, C.	75, 76, 108, 109
Cavalcante, M.F.	68	Di Chiara, G.	55
Cayún, J.P.	83	Di Lio, A.	54
Ceballo, K.	59, 131	Díaz, C.	60
Celis, T.M.	109, 122	Díaz, E.	98, 131
Cerda, B.	83, 112, 113, 116	Díaz, P.	126
Cerro, R.	112, 113, 116	Díaz-Araya, G.A.	64, 71, 86, 118
Cerro, R.P.	69, 80, 100, 101	Díaz-Carretero, A.	98
Chiong, M.	62, 64	Díaz-Zepeda, C.	90, 123, 124
Cid, V.	128	Dib, T.	96
Cifuentes, P.	69, 100, 101	Donoso, F.	119
		Donoso, J.C.	71

Donoso, M.V.	119	Gallardo, C.	80
Donoso, P.	86	Gallardo, C.A.	61
Dorfman, M.D.	63	Gallardo-Castillo, E.P.	82
Douglass, J.D.	63	Gallardo-Rodríguez, J.J.	52
Duarte, L.F.	93, 126	García López, M.	100
E		García, A.	91, 108
Ehrenfeld, P.	132	García, C.	69, 114
Elfeky, O.	131	García, E.	83, 112, 113, 116
Enrione, J.	92	García, F.	74
Escobar, E.	103	Gavilán, J.	52, 109
Escobar, F.	71	Giacoman, M.A.	78, 110, 111
Escobar, J.L.	67	Girard-Blanc, C.	64
Escobar-Luna, J.	91, 124	Gómez, K.	72
Escobar-Ramírez, J.L.	107	González, A.	53
Espina, C.	97	González, A.P.	102
Espinosa, V.	78	González, I.	69
Espinoza, F.I.	69, 71, 100, 101	González, J.	62, 84
Eugenín, J.L.	72	González, M.	105
Eyzaguirre-Velásquez, J.	91, 123, 124	González, V.	65
F		González-Arancibia, C.	90, 123, 124
Farías, J.G.	50	González-Chavarría, I.	80, 100, 101
Fasnacht, R.	63	González-González, M.	90, 123
Fernande, D.	125	Gonzalez-Herrera, F.	118
Fernández Escobar, M.	59	González-Horta, E.E.	69, 100, 101
Fernández, V.	83, 84, 117	Gotteland, M.	47, 75, 91, 108, 124
Fernández-Pérez, E.J.	88	Guajardo, F.G.	129, 131
Fernández-Ramírez, R.	93	Gutiérrez, N.	69, 100, 101, 102
Fernandois, D.	59	Gutiérrez, T.	62
Ferreira, J.	57, 61, 73, 104	Guzmán, L.	60, 103, 117
Fierro, A.	39	Guzmán-Rivera, D.	118
Figueroa, C.D.	132	Gysling, K.	82, 97, 105, 114
Figueroa, X.	104	H	
Flores, C.	121	Hernández, A.	65, 87, 94, 95, 114, 121, 128
Flores-Bastías, O.	91	Hernández, F.	119
Forman, K.	69	Herrera, E.A.	50
Franco, D.	79	Herrera, G.	53
Fuentealba, J.	52, 100, 109, 122	Herrera, M.	105
Fuentealba, M.	103	Herrera-Marschitz, M.	54, 55, 56, 130
Fuentealba, R.	66, 125	Hetz, C.	108
Fuentes-Retamal, S.	73, 104	Hevia, M.J.	90, 123
G		Hidalgo, A.	71, 100, 102
Galindo, H.	52	Hidalgo, C.	121

Hidalgo, F.S.N.	78	Leiva, E.	66
Hirata, M.H.	86	Leiva, M.	69, 72
Hirata, R.D.C.	86	Leiva, M.J.	68, 70, 80
Homanics, G.E.	48	Letelier, M.E.	52, 61
Hormazábal, E.	16, 77, 111	Llanos, M.N.	89, 122
Huidobro-Toro, J.P.	76, 81, 104, 119, 126	Llanos-Rivera, A.	52
Humeres, C.	86, 118	Lobos, N.	87, 121
Huon, C.	64	López, C.A.	82
I			
Ibacache, M.E.	50	López, F.J.	69, 72
Illanes-González, J.C.	124	López, J.	65
Inostroza, E.	103	López, R.A.	69
Israel, Y.	55, 56	López-Crisosto, C.	62
Iturriaga-Vásquez, P.	3, 39, 77, 111, 129	López-Muñoz, R.	58, 72
Ivulic, D.	53	López-Ortega, A.A.	89
J			
Jara, C.	77, 111	Lovinger, D.M.	48
Jara, J.A.	57, 61, 93, 127	Loza, M.I.	67, 106
Jerez, E.	82	Lühr, S.	39
Jiménez, E.M.	77	Luna, S.L.	97
Jiménez, S.P.	68, 80	Lux, S.	87, 121, 133
Jorquera, V.	88	M	
Juglar, M.P.	102	Madrid, R.	53, 67, 94
Julio-Pieper, M.	49, 90, 91, 123, 124	Magne, F.	49
K			
Karahanian, E.	55, 82, 115	Magos-Guerrero, G.A.	67, 107
Kemmerling, U.	73, 104, 118	Maldonado, M.	71, 73, 103
Kireev, R.	69	Malherbe, L.	64
Klagges-Troncoso, J.	94, 95, 128	Maliqueo, M.	97
Klink, A.	95	Mansilla, R.	132
Knox, M.	103	Mardones, L.	103
Kogan, M.J.	59	Marileo, A.M.	83, 115
Kumar, B.	99	Marín, Y.	67
L			
Lagos, J.	86	Márquez, M.C.	79
Lara, C.O.	54, 83, 115	Márquez, Y.C.	89
Lara, H.E.	97	Martínez, J.	59, 95, 96, 127, 128, 129
Larenas, H.	79	Martínez, M.	113
Latapiat, V.X.	81	Martorell, A.	89
Lavandero, S.	50, 62, 64	Mascayano, C.	74, 78, 106
Lavanderos, B.	67	Mateluna, C.	76, 110
Leighton, D.	105	Matus, C.E.	132
		Matus, M.F.	120
		Maura, R.	80, 81, 102
		McMahon, S.B.	53
		Medhi, B.	99

Medina, F.	104	Noriega, V.	44, 88, 120, 133
Mella-Raipan, J.	32	Nova, D.	60
Méndez, A.M.	93	Nuñez, M.	104
Mennickent, D.	109, 122	O	
Meza, C.	73, 101	Ochoa, M.	72
Miranda, C.	112, 113	Olavarría-Ramírez, L.	123, 124
Miranda, H.F.	87, 88, 120, 121, 133	Olguín, S.	59, 131
Miranda-Sepúlveda, J.	39	Olguín, Y.	92
Modi, M.	99	Oliva, A.	103
Moenne, A.	104	Olivares-Silva, F.	86, 118
Molina, L.	132	Olmedo, I.	86
Molina, S.	112, 113, 116,	Orellana, N.	70, 126
Molina-Berríos, A.	57, 93, 126,	Orio, P.	53
Molinari, A.A.	103, 117	Ormazábal, V.	81, 85, 98, 131
Moncada, N.	103	Orrego, R.	66
Montesino, R.	65, 68, 70, 71, 80, 102	Osorio, J.M.	86, 118
Mora, R.B.	77, 110	Osorio-Olivares, M.	106
Moraga, F.	16, 77, 111	Ovalle, P.	66
Moraga-Cid, G.	54, 64, 83	P	
Morales, B.	94	Pando, M.E.	104
Morales, J.	89	Parada, N.	119
Morales, P.	54	Parada, V.	108
Morales, P.E.	62	Pardo, V.	118
Morgan, C.	94, 114, 128	Pardo-Jiménez, V.	71
Moya, P.R.	63	Paris, I.B.	107
Mujica, V.	66	Parodi, D.	93
Muñoz, B.	48, 54, 83, 115	Parra, C.	91
Muñoz, C.	86, 115	Parra, V.	62
Muñoz, D.	115	Pastene, E.	75, 108, 110
Muñoz, C.A.	79	Pavani, M.	61, 73, 104
Muñoz, P. (1)	74	Pavicic, M.F.	132
Muñoz, P. (2)	107	Pedrozo, Z.	50, 86
Murail, S.	64	Pelissier, T.	65
Murillo, M.D.	89	Penny, J.I.	72
Mutis, A.	16, 77, 111	Peña, E.	73, 103
N		Peña, K.	83, 112, 113, 116
Navarrete, P.	75	Peña-Cerda, M.	109
Navarrete-Encina, P.A.	71	Peñailillo, C.A.	57, 93, 127
Navarro-Márquez, M.F.	62	Peoples, R.W.	88
Nieto, E.	80, 87	Peredo-Silva, L.	73, 103
Noches, V.	130	Pérez, C.	109

Pérez, R.	108	Rodrigo, R.	62, 84
Pérez, H.	114	Rodríguez, C.	57, 93, 127
Pertusa, M.	53, 67	Rodríguez, E.R.	102
Pessoa-Mahana, C.D.	7	Rodríguez, F.S.	69, 100, 101
Pessoa-Mahana, H.	26	Rodríguez, M.J.	125
Petres, S.	64	Rojas, D.	61
Pino, K.	70, 137	Rojo, M.	80
Piña, R.	53	Román, R.R.	78
Plaza, M.A.	89	Romero, M.R.	57
Poblete, P.	87	Rosas-Escobar, D.	128
Ponce-Guequén, E.	124	Rosiles, A.R.W.	77
Prieto, J.C.	51, 62, 120, 133	Rubilar, J.C.	80, 83, 87
Puente, J.	104	Ruiz, A.	102
Q		S	
Quintanilla, M.E.	55, 56, 115, 130	Saavedra, N.	68
Quintremil, S.	104	Saavedra, P.	101
Quiñones, L.	79, 80, 83, 87, 112, 113, 116	Sáez, J.	105
Quiroz, A.	16, 77, 111	Sáez-Briones, P.	94, 95, 114, 128
R		Saikia, B.	99
Ralvenius, W.	54	Salas-Duguet, V.	75
Ramírez, E.	104	Salas-Hernández, A.	130
Ramírez-Donoso, G.	128	Salazar, L.A.	68, 86
Rebolledo, S.	61	Salinas, N.	107
Renard, G.M.	93, 95, 127, 128	Salinas-Luypaert, C.	55, 82
Restrepo, C.	53	Salomon, C.	98, 131
Reyes, A.	93	San Martín, V.P.	106, 115
Reyes, C.	85	San Feliciano, A.	103
Reyes, J.G.	117	Sánchez, A.	119
Reyes-Farías, M.	75	Sánchez, E.	70, 92, 125
Reyes-Parada, M.	3, 31, 114, 129	Sánchez, G.	50, 62, 86,
Rice, G.E.	98, 131	Sánchez, O. R.	80, 102, 132
Richards, N.	53	Sandoval, C.	112, 113, 116
Riquelme, B.	84, 117	Sandoval, F.A.	69, 80, 100, 101
Riquelme, J.A.	50	Sandoval-Caballero, C.	117
Rivas, A.	108	Sanguinetti, N.	96, 127
Rivas, C.I.	73, 103	Santiago, J.	67
Rivera, B.	67	Santiago-Mejía, J.	107
Rivera, C.	130	Sauguet, L.	64
Rivera-Meza, M.	55, 56, 82, 115, 130	Schimd, A.B.	53
Rocha, G.	94	Scholz-Romero, K.	98, 131
Roco, A.	80, 83, 87, 112, 113, 116	Scorza, C.	55
		Seguel, I.	75, 76, 108, 109

Segura, C.	67	V	
Segura-Aguilar, J.	107	Valenzuela, G.	108
Selva, M.	129	Valenzuela, M.A.	104
Sepúlveda, F.J.	88	Valenzuela-Bustamante, P.	75
Sepúlveda, J.	51	Valladares, L.	94
Sepúlveda, N.	50	Valls, N.	84
Sepúlveda-Boza, S.	78	Vara, E.	69
Shubhakar, A.	125	Varas, N.J.	80
Sierralta, F.	133	Varela, N.	79, 83, 112, 113, 116
Silva, J.C.	68	Vargas, R.	83, 84, 117
Simonovich, B.A.	46	Vargas, Y.	69, 100, 101
Soto, D.	117	Vásquez, D.	56, 75
Soto, G.	125	Vásquez, P.	60
Sotomayor, K.	70	Vásquez-Martínez, Y.	106
Sotomayor-Zárate, R.	44, 59, 93, 95, 96, 127, 128, 129, 131	Vásquez-Trincado, C.	62
Soto-Núñez, M.	107	Veas, R.	109
Spanagel, R.	47	Vega, I.M.	97
Spencer, D.I.R.	125	Velásquez, V.	96
Suárez, M.	80, 87	Véliz, F.	95
Suarez, N.	93	Venegas, F.C.	128
Suazo, L.	79	Venthur, H.	16
T		Vera, J.C.	73, 103
Taly, A.	64	Verdejo, H.E.	62
Tan, K.	108	Vidal, F.	60
Tapia, S.	128	Videla, L.A.	83, 84, 117
Thaler, J.P.	63	Vilches-Herrera, M.	39
Toledo, J.R.	68, 69, 70, 71, 79 80, 81, 100, 101, 102	Vilches-Lagos, M.J.	128
Toro-Sazo, M.	106	Villa, F.	131
Torrent, C.	78, 106	Villagra, J.A.	92, 131
Torres, E.	107	Villagrán, R.	70
Torres, P.	131	Vinet, R.	103
Torres-Vergara, P.	72	Virga, M.C.	56
Tralma, K.	75	Vivar, R.	64, 118
Tresguerres, J.A.F.	69	Von Plessing, C.	92, 131
Triviño, S.	109	W	
Troncoso, R.	62	Weinstein-Oppenheimer, C.	70, 92, 125
U		Westermeier, F.	50
Ugarte, G.	53	Wuhrer, M.	125
Urzúa, R.V.	97	Y	
Utreras, E.	53	Yarur, H.E.	82, 114
		Yévenes, G.E.	54, 83, 115
		Yumha Laiz, J.	84

Z			
Zamilpa, A.A.	78, 110	Zeise, M.L.	94
Zamorano, G.	96	Zhu, L.	53
Zanetta, P.	133	Zhu, N.	53
Zamorano, P.	105	Zúñiga, F.A.	98, 131
Zapata, L.	132	Zuñiga-Hernández, J.	125
Zeilhofer, H.U.	54		

INTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

i) Tipos de Manuscritos:

- (a) Investigaciones Originales (Full papers): Trabajos que reportan investigaciones originales realizadas con procedimientos experimentales adecuados y según las guías nacionales e internacionales para el uso de sujetos de experimentación serán revisados para eventual publicación en la revista (ver preparación del manuscrito).
- (b) Comunicaciones Cortas (Short Communications): Reportes científicos originales cuyo tamaño debe ser de 1000 a 4000 palabras como máximo de extensión, incluyendo la leyenda de la figura (no se incluyen las referencias). Estos trabajos solo pueden incluir 1 figura y 1 tabla de resultados. En situaciones especiales se consideraran 2 figuras o 2 tablas. No deben ser usadas más de 15 referencias en el manuscrito.
- (c) Revisiones (Reviews): Revisiones sobre temas relevantes de la Farmacología serán solicitados por el Editor en jefe o el comité editorial, a través de invitación escrita. Estas revisiones no requerirán una exhaustiva revisión editorial y serán publicadas en volúmenes temáticos de la Revista de Farmacología de Chile.
- (d) Columnas de Opinión u otras Publicaciones: Columnas de opinión sobre temas de contingencia nacional que involucren políticas públicas de medicamentos, correcto uso de medicamentos por parte de la población o la aparición y/o retirada de medicamentos en el mercado nacional, serán solicitadas por el Editor en jefe o el comité editorial, a través de invitación escrita.

ii) Detalles para el envío de Manuscritos:

El envío de manuscritos a la Revista de Farmacología de Chile para revisión (*Full papers, Short Communications o Reviews*) o solicitudes de columnas de opinión deben ser enviados a los siguientes correos electrónicos (ramon.sotomayor@uv.cl cc: pablo.jara@uv.cl cc georgina.renard@uv.cl). Se solicita colocar en el asunto del correo electrónico la siguiente frase: [Manuscrito para Rev.Farmacol.Chile](#)

iii) Preparación del Manuscrito:

- * Se recomienda el uso del programa para procesar texto Word de Microsoft Office. Cuando guarde el manuscrito que ha elaborado se solicita que la opción de guardado sea: Guardar como: "Documento de Word 97-2003".
- * El manuscrito debe ser escrito en formato "Times New Roman" tamaño 12, doble espacio y a una columna. Las páginas del manuscrito deben ser enumeradas en el borde inferior derecho con números arábigos.
- * Cualquier figura inserta en el manuscrito debe ser en formato TIFF, JPEG o BMP de alta resolución (600 dpi) y en caso de usar tablas se debe usar la opción insertar tablas de Word. No se recomiendan tablas hechas con la opción de insertar líneas.
- * Fotografías y gráficos a color son aceptadas para la versión digital, sin embargo en la versión impresa de la revista se utilizará la impresión en escala de grises. Además se recomienda verificar la calidad de la figura reduciéndola al tamaño de 1 columna de ancho, es decir 8 cm.
- * La Revista de Farmacología de Chile acepta trabajos en español, sin embargo previa autorización del comité editorial se podrán revisar trabajos en inglés o portugués.

iv) Estructura del Artículo:

iv.1) Investigaciones Originales y Comunicaciones Cortas:

Cada una de las secciones del manuscrito debe ser enumerada con números arábigos y cada subdivisión con la nomenclatura (X.1). No se considera en la enumeración el resumen (abstract).

Primera página:

- Título: El título del trabajo debe ser conciso e informativo. No se recomiendan abreviaciones de palabras en el título. Se debe incluir el título del trabajo en inglés.
- Nombre de los autores y Filiación: Se solicita indicar el nombre de cada autor y su apellido. Se acepta incluir la inicial del segundo nombre, aunque no es obligatorio. Al término de cada apellido se solicita colocar un número arábigo en superíndice que relacionará al autor con su respectiva filiación.
- Autor Correspondiente: Se debe indicar claramente al autor correspondiente del trabajo, incluyendo: Nombre, Dirección Postal, Teléfono, Fax y Correo Electrónico.

Segunda página:

- Resumen (Abstract): La extensión máxima del resumen es de 300 palabras y debe describir claramente el propósito de la investigación, los principales resultados y principal conclusión del trabajo. El resumen debe ser escrito en español e inglés.
- Palabras Claves: Se deben incluir palabras claves que permitan identificar los aspectos más importantes del trabajo. No incluir más de 10 palabras claves. Las palabras claves deben ser escritas en español e inglés.

Tercera y más páginas:

- Introducción: La introducción al tema a discutir en el trabajo no debe tener una extensión superior a las 750 palabras.
- Materiales y Métodos: Se debe detallar claramente todos los materiales y metodologías utilizadas en el desarrollo del trabajo. Además se debe explicitar en consentimiento bioético de la institución donde fue realizada la investigación. Los trabajos realizados en humanos deben incluir el apego experimental a la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, considerando consentiendo informado y aprobación de comité de ética.
- Resultados: Se debe incluir en detalle los principales resultados obtenidos, con sus respectivos análisis estadísticos. No se aceptarán trabajos para publicar que no tengan un adecuado tratamiento estadístico. La expresión gráfica de resultados puede ser realizada a través

de gráficos de 1 columna de ancho (8 cm) o agrupaciones de gráficos con un ancho máximo de dos columnas (16 cm). También se pueden incluir tablas que detallen resultados relevantes para el trabajo, incluyendo número de casos y valor de la significancia *p*.

- **Discusión de los Resultados:** La discusión de resultados debe ser objetiva y se debe evitar una excesiva discusión bibliográfica que reste valor a los resultados presentados en el manuscrito. Es recomendado una conclusión final que indique las proyecciones de la investigación.
- **Agradecimientos:** Se pueden incluir las fuentes de financiamiento que permitieron el desarrollo del trabajo, indicando claramente a que autor corresponde la fuente de financiamiento. También se pueden incluir agradecimientos a personas que prestaron ayuda técnica o de revisión del manuscrito. En esta sección se debe declarar si existió conflicto de interés. En caso de no haber conflicto de interés se debe mencionar esta situación. Se recomienda consultar la siguiente dirección URL <http://zl.elsevier.es/es/revista/neurologia-295/conflicto-intereses-publicaciones-cientificas-90101004-editorial-2012> para aclarar en concepto y situaciones de conflicto de interés.
- **Referencias:** En el texto se deben citar las referencias con el apellido del primer autor, sus iniciales y el año de la publicación. En la sección de referencias se deben ordenar las mismas por orden alfabético. Se recomienda utilizar algún programa de manejo de referencias como EndNote con el formato de referencias de Journal of Neurochemistry.

Ejemplos:

Semenova M. M., Maki-Hokkonen A. M., Cao J., Komarovski V., Forsberg K. M., Koistinaho M., Coffey E. T. and Courtney M. J. (2007) Rho mediates calcium-dependent activation of p38alpha and subsequent excitotoxic cell death. *Nat. Neurosci.* 10, 436-443.

La abreviación de los títulos de las revistas debe de acuerdo a el listado de revistas indexadas en *Index Medicus* (Superintendent of Documents, US Government Printing Office, Washington, DC 20402, USA, DHEW Publication No. 95-267). Ejemplo: *Acta Neurol. Scand.*, *Acta Physiol. Scand.*, *Anal. Biochem.*, *Arch. Biochem. Biophys.*, *Biochem. J.*, *Biochem. Pharmacol.*, *Biochim. Biophys. Acta Biol. Chem.*, *Hoppe Seyler Br. J. Pharmacol.*, *Eur. J. Pharmacol.*, *Experientia J. Biol. Chem. J. Cell Biol. J. Mol. Biol. J. Pharmacol. Exp. Ther. J. Physiol. (Lond.) Mol. Pharmacol.*, *Nature Proc. Natl Acad. Sci. USA Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Science*

iv.2) Revisiones:

Las revisiones de unidades temáticas serán solicitadas por el editor en jefe o por el co-editor, sin embargo para aquellas unidades temáticas específicas oficiara como co-editor algún miembro del comité editorial que sea especialista en el tema

Primera página:

- **Título:** El título del trabajo debe ser conciso e informativo. No se recomiendan abreviaciones de palabras en el título. Se debe incluir el título del trabajo en inglés.
- **Nombre de los autores y Filiación:** Se solicita indicar el nombre de cada autor y su apellido. Se acepta incluir la inicial del segundo nombre, aunque no es obligatorio. Al término de cada apellido se solicita colocar un número arábigo en superíndice que relacionará al autor con su respectiva filiación.
- **Autor Correspondiente:** Se debe indicar claramente al autor correspondiente del trabajo, incluyendo: Nombre, Dirección Postal, Teléfono, Fax y Correo Electrónico.

Segunda página:

- **Resumen (Abstract):** La extensión máxima del resumen es de 300 palabras y debe describir claramente el propósito de la investigación, los principales resultados y principal conclusión del trabajo.
- **Palabras Claves:** Se deben incluir palabras claves que permitan identificar los aspectos más importantes del trabajo. No incluir más de 10 palabras claves.

Tercera y más páginas:

- **Introducción:** La introducción al tema a discutir en el trabajo no debe tener una extensión superior a las 750 palabras.
- **Temas a Desarrollar:** Por cada tema que se pretenda desarrollar se debe entregar una visión objetiva que destaque los avances más importantes en la investigación científica. Se pueden desarrollar subtemas, destacando claramente a que unidad temática corresponde. Se recomienda si se revisa algún procedimiento experimental mencionar las ventajas y desventajas de su aplicación. Es recomendado una conclusión final que integre la información entregada en la revisión.
- **Agradecimientos:** Se pueden incluir las fuentes de financiamiento que permitieron el desarrollo del trabajo, indicando claramente a que autor corresponde la fuente de financiamiento. También se pueden incluir agradecimientos a personas que prestaron ayuda técnica o de revisión del manuscrito. En esta sección se debe declarar si existió conflicto de interés. En caso de no haber conflicto de interés se debe mencionar esta situación. Se recomienda consultar la siguiente dirección URL <http://zl.elsevier.es/es/revista/neurologia-295/conflicto-intereses-publicaciones-cientificas-90101004-editorial-2012> para aclarar en concepto y situaciones de conflicto de interés.
- **Referencias:** En el texto se deben citar las referencias con el apellido del primer autor, sus iniciales y el año de la publicación. En la sección de referencias se deben ordenar las mismas por orden alfabético. Se recomienda utilizar algún programa de manejo de referencias como EndNote con el formato de referencias de Journal of Neurochemistry.

Ejemplos:

Semenova M. M., Maki-Hokkonen A. M., Cao J., Komarovski V., Forsberg K. M., Koistinaho M., Coffey E. T. and Courtney M. J. (2007) Rho mediates calcium-dependent activation of p38alpha and subsequent excitotoxic cell death. *Nat. Neurosci.* 10, 436-443.

La abreviación de los títulos de las revistas debe de acuerdo a el listado de revistas indexadas en *Index Medicus* (Superintendent of Documents, US Government Printing Office, Washington, DC 20402, USA, DHEW Publication No. 95-267). Ejemplo: *Acta Neurol. Scand. Acta Physiol. Scand. Anal. Biochem. Arch. Biochem. Biophys. Biochem. J. Biochem. Pharmacol. Biochim. Biophys. Acta Biol. Chem. Hoppe Seyler Br. J. Pharmacol. Eur. J. Pharmacol. Experientia J. Biol. Chem. J. Cell Biol. J. Mol. Biol. J. Pharmacol. Exp. Ther. J. Physiol. (Lond.) Mol. Pharmacol. Nature Proc. Natl Acad. Sci. USA Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Science*

Leyendas para las Figuras

Los títulos y leyendas de las Figuras deben presentarse en forma clara y corta. Se debe identificar y explicar todo símbolo, como flecha, número o letra que haya empleado para señalar alguna parte de las ilustraciones. En la reproducción de preparaciones microscópicas, explícite la ampliación y los métodos de tinción empleados.

Unidades de Medida y Nomenclaturas.

Use unidades correspondientes al sistema métrico decimal. Las abreviaturas deben ser definidas la primera vez que aparecen en el texto. El listado de abreviaturas debe ser de acuerdo a la siguiente publicación *Biochem. J.* (1978) 169, 1-27. Al finalizar este instructivo se mencionan las abreviaturas que no deberían ser definidas (el listado esta en idioma inglés).

La nomenclatura que se refiere a drogas y sustancias químicas no terapéuticas deben nombrarse de acuerdo a la nomenclatura IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Mientras que para fármacos solo se acepta el nombre genérico INN (DCI). Respecto a los nombres de fantasía solo pueden ser nombrados entre paréntesis con el signo ® siempre que esté registrada la patente y que no exista un conflicto de interés evidente con el laboratorio fabricante del fármaco.

Publicación de Artículos:

- Los artículos originales de investigación o de revisión serán evaluados por un comité especializado. Sin embargo para aquellos trabajos de revisión agrupados por unidades temáticas específicas, el editor en jefe de la revista y el co-editor del número, antes de aceptar los manuscritos revisarán que se cumplan a cabalidad las instrucciones antes detalladas.
- Los artículos originales de investigación que no se agrupen en unidades temáticas específicas y que sean aceptados para publicación, serán publicados en el volumen y número del congreso anual de la Sociedad de Farmacología de Chile. La fecha aproximada de publicación será comunicada a los autores con suficiente antelación.
- Respecto a la revisión de artículos originales los revisores enviarán al Editor en Jefe, los cambios propuestos, sus opiniones, sus proposiciones, rechazos, etcétera, las cuales serán comunicadas a los autores con absoluta confidencia.
- Las publicaciones de artículos originales tendrán un costo de UF 0,3 por página que servirán para la manutención de la Revista.

Abreviaciones Permitidas sin necesidad de definición en el texto:

ADP, CDP, GDP, IDP, UDP, 5(pyro)-diphosphates of adenosine, cytidine, guanosine, inosine, and uridine AMP, etc.-5-phosphates of adenosine, etc. ANOVA, analysis of variance ATP, etc.-5'(pyro)-triphosphates of adenosine, etc. ATPase, adenosine triphosphatase bp, base pair Ci, curie CoA and acyl-CoA-coenzyme A and its acyl derivatives (e.g., acetyl-CoA) cpm, counts per minute CNS, central nervous systemCSF, cerebrospinal fluid Cyclic AMP, 3,5-cyclic adenosine monophosphate Cyclic GMP-3,5-cyclic guanosine monophosphate DNA, deoxyribonucleic acid DNase, deoxyribonuclease DOPA, 3,4-dihydroxyphenylalanine dpm, dps-disintegrations per minute, disintegrations per second EDTA, ethylene-diaminetetraacetate EEG, electroencephalogramEGTA, ethyleneglycol bis(aminoethylether)tetraacetate ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay FAD, FADH₂, flavin-adenine dinucleotide and its reduced form FMN, flavin mononucleotide g, average gravity GABA, gamma-aminobutyric acid (not Gaba) GLC, gas-liquid chromatography GSSG, GSH, glutathione, oxidized and reduced forms h, hour HEPES, N-2-hydroxyethylpiperazine-N-2-ethanesulfonic acid HPLC, high performance liquid chromatography Ig, immunoglobulin IR, infrared kb, kilobase kDa, kilodalton μ m, micron min, minute MPP⁺, 1-methyl-4-phenylpyridinium MPTP, 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine NAD⁺, NADH-oxidized and reduced forms of nicotin-amide-adenine dinucleotide NADP⁺, NADPH-oxidized and reduced forms of nicotin-amide-adenine dinucleotide phosphate NAD, NADP may be used when the oxidation state need not be indicated NMDA, N-methyl-D-aspartate NMN, nicotinamide mononucleotide NMR, nuclear magnetic resonance PCR, polymerase chain reaction Pi, orthophosphate (inorganic) PNS, peripheral nervous system PPI, pyrophosphate (inorganic) rpm, revolutions per minute RNA, ribonucleic acid RNase, ribonuclease RT, reverse transcription s, second SEM, standard error of mean SD, standard deviation TLC, thin-layer chromatography Tris, 2-amino-2-hydroxymethylpropane-1,3-diol UV, ultraviolet