

Instituto de Neurología y Neurocirugía

Efecto de los extractos acuoso y etanólico de *Cestrum nocturnum* L. sobre la conducta exploratoria y pruebas de analgesia

Lic. María Teresa Buznego Rodríguez,¹ Téc. Alfredo Cuba Peña,² MSc. Eneida Garriga Sarría,³ Dr. Armando Cuéllar Cuéllar⁴ y Dr. Héctor Pérez-Saad⁵

Resumen

Se estudió el efecto neurofarmacológico de las fracciones acuosa y etanólica obtenidas a partir de las hojas secas de *Cestrum nocturnum* L. mediante su administración aguda sobre los modelos de conducta exploratoria y pruebas de analgesia. El propósito del estudio fue iniciar la búsqueda de los principios activos en estas fracciones responsables de los efectos analgésicos y sedantes. La fracción acuosa produjo una hipoactividad en la conducta exploratoria y redujo la respuesta al dolor en forma dependiente de las dosis en la prueba de las contorsiones inducida por ácido acético así como un aumento del tiempo de reacción en el método del plato caliente. La fracción etanólica provocó una disminución de la conducta exploratoria y de la permanencia en el círculo central, así como una disminución de las contorsiones inducidas por ácido acético en forma dependiente de las dosis y del tiempo de reacción en el plato caliente. Una ausencia de paralelismo entre las curvas dosis-efecto de ambos modelos sugirió una independencia molecular entre ambos efectos farmacológicos, los que parecen deberse a principios activos diferentes.

Palabras clave: *Cestrum nocturnum* L., conducta exploratoria, analgesia.

Estudios anteriores han demostrado que la decocción de hojas secas de *Cestrum nocturnum* L. poseen efectos analgésico, sedante¹ y antiepiléptico.² Estos resultados concuerdan con el uso que se le da a esta planta en la medicina natural y confirma lo informado por *Juan T. Roig* en su libro "Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba".³

En la literatura, diferentes resultados señalan que la planta posee efectos curativos en enfermedades de la piel, que tiene actividad cardiotónica, hipotensora y estimulante respiratorio (datos no publicados: Nilkulrat L, Master Thesis, Faculty of Pharmacy, Chulalongkorn University Bangkok, Thailand, 1979), abortiva, dispéptica, fungicida, antiespasmódica, diurética, herbicida, antiviral, entre otras.⁴⁻¹⁰ Trabajos fitoquímicos indican que posee diferentes compuestos con actividades biológicas, posiblemente responsables de las acciones farmacológicas encontradas, como alcaloides, saponinas, ácidos grasos, aceites esenciales, fenoles y otros.^{11,12}

Por otra parte, se conoce que existen varios desórdenes neurológicos que concommitan con dolor crónico. No todas las neuralgias tienen origen nociceptivo, dentro de ellas se encuentran algunas neuropatías que son causadas por disfunción del sistema nervioso periférico.¹³ Algunas drogas como antiepilépticos, anestésicos locales son utilizadas como analgésicos, actúan modulando o bloqueando canales e inhiben de esta manera la excitabilidad neuronal y la generación de impulsos nerviosos.¹⁴⁻²⁰ No necesariamente todos los antiepilépticos tienen buena actividad analgésica.²¹⁻²³ Debido a estas razones se emplean en los tratamientos farmacológicos antiepilépticos y analgésicos.

Por estos antecedentes, es de interés conocer los principios activos responsables de los efectos sedante y analgésico para su posible utilidad en las enfermedades neurológicas.

El propósito del presente trabajo fue comenzar la búsqueda de los principios activos en las fracciones acuosa y etanólica de *C. nocturnum* responsables de los efectos analgésicos y sedantes mediante su administración aguda sobre los modelos de conducta exploratoria y las pruebas de analgesia.

Métodos

La especie *C. nocturnum* fue identificada por el Dr. Víctor Fuentes Fiallo y registrada con el número de herbario ROIG 4633, en la Estación Experimental de Plantas Medicinales "Dr Juan Tomás Roig", CIDEM. Se recolectó en el mes octubre de 2003.

Los experimentos se realizaron en ratones machos, de la línea OF1, de 18 a 22 g de peso corporal. Se utilizaron 4 grupos de animales en cada experimento. A todos se le administraron 3 dosis de una fracción (acuosa o etanólica) y al grupo control, solución salina (NaCl 0,9 %) o etanol al 6 % en solución salina.

El extracto etanólico se diluyó en polivinilpirrolidona al 1% y después de secado a baño de maría se disolvió en etanol al 6 % en solución salina. Las fracciones acuosa y etanólica se emplearon en las dosis de 20, 100, 500 y 8, 40 y 200 mg/kg, respectivamente.

Las fracciones y la solución salina se administraron por vía intraperitoneal, en volumen de 0,01 mL/g de peso corporal, 30 min antes de comenzar la observación.

Método de extracción

Consistió en secado al aire del material vegetal, a temperatura ambiente. Luego, este material se trituró hasta quedar en pedazos muy pequeños y se colocaron en un dedal de un equipo soxhlet de extracción continua (80 g de planta y 750 mL). Las extracciones se realizaron durante 8 a 16 h, de forma sucesiva sobre el mismo material vegetal con los siguientes disolventes: etanol y agua.²⁴ Las 2 fracciones de forma independiente se concentraron a extracto seco con la utilización de un rotoevaporador al vacío, calculándose su rendimiento por gravimetría y se guardaron en desecadora hasta el momento de efectuar

su evaluación biológica.

Conducta exploratoria

La conducta exploratoria se evaluó en ratones mediante un recipiente de campo abierto, con una pared de 15 cm de alto y un diámetro de 30 cm. En el piso se dibujó un círculo concéntrico de 10 cm de diámetro.²⁵ La observación comenzó con la colocación del animal en el círculo central y a partir de ese momento se midieron los indicadores siguientes: 1. latencia (tiempo inicial transcurrido en el círculo central), 2. número de empinamientos, 3. número de veces que el animal atraviesa el círculo central-conducta diagonal y 4. tiempo de permanencia total transcurrido en el círculo central durante todo el tiempo de observación. Se empleó un cronómetro manual-mecánico y el tiempo total de observación fue de 6 min.

Pruebas de analgesia

Prueba del ácido acético. Se inyectó ácido acético al 0,6 % por vía intraperitoneal y se observaron inmediatamente las contorsiones y estiramientos producidos durante 20 min.²⁶

Plato caliente. Los ratones se colocaron encima de una plancha metálica puesta en contacto directo con el agua de un ultratermostato mediante unas paletas soldadas en su superficie inferior.²⁶ Estos fueron restringidos en su movimiento con el empleo de un cilindro de vidrio de 10 cm de diámetro y 15 cm de altura, la temperatura empleada fue de $54 \pm 10^\circ$ C. El tiempo de reacción se tomó como el tiempo de demora de lamido de una de las patas traseras o salto y el tiempo de observación total fue de 2 min.

Resultados

La fracción acuosa provocó una disminución significativa del número de cruces más empinamientos con la administración de las dosis 100 y 500 mg/kg (tabla1). Sin embargo no afectó la latencia, ni el tiempo de permanencia total en el círculo central.

Tabla 1. *Efectos de diferentes dosis de la fracción acuosa de C. nocturnum sobre la conducta exploratoria*

	Solución salina	Dosis (mg/kg)		
		20	100	500
Latencia(s)	5,8	4,7	4,8	7,4
T-círculo(s)	27,4	39,2	42,5	37,1

No. cruces + empinamientos	24,8	17,5	8,9	1,3
----------------------------	------	------	-----	-----

n = 10. Los datos representan las medias.

T-círculo: tiempo de permanencia total transcurrido en el círculo central.

*($p < 0,05$), **($p < 0,01$) respecto a solución salina según las pruebas de Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney.

La fracción acuosa disminuyó significativamente el número de contorsiones y estiramientos inducidos por ácido acético, en una forma dependiente de la dosis.

La dosis de 100 mg/kg prolongó significativamente el tiempo de reacción del plato caliente (tabla 2).

Tabla 2. *Efecto de diferentes dosis de la fracción acuosa de C. nocturnum sobre el método de plato caliente y la prueba de ácido acético*

Dosis (mg/kg)	Tiempo de reacción: lamidos de patas traseras o saltos (s)	Número de estiramientos y contorsiones
Solución salina	13,0	35,0
20	17,7	8,1**
100	25,0 *	3,2 **
500	10,8	0,8**

n = 10. Los datos representan las medias.

*($p < 0,05$), **($p < 0,01$) respecto a solución salina según las pruebas de Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney.

En la figura 1, se puede observar la ausencia de paralelismo entre las curvas dosis-efecto de la conducta exploratoria y de la prueba de analgesia.

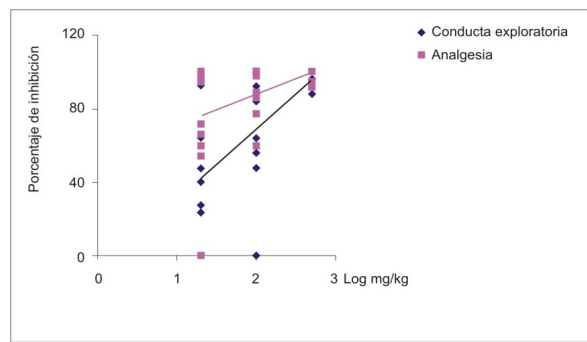


Fig. 1. Curvas dosis-efecto del extracto acuoso en la conducta exploratoria y en la prueba de irritación peritoneal inducida por ácido acético. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$), en la comparación de las pendientes de las rectas según la prueba de regresión, $n = 10$

La administración aguda de la fracción etanólica produjo una disminución significativa de los cruces más empinamientos y del tiempo de permanencia total transcurrido en el círculo central con las dosis de 40 y 200 mg/kg correspondientemente (tabla 3), sin afectar la latencia.

Tabla 3. *Efectos de diferentes dosis de la fracción etanólica de C. nocturnum sobre la conducta exploratoria*

	Diluyente	Dosis (mg/kg)		
		8	40	200
Latencia (s)	8,2	4,7	9,4	10,4
T-círculo (s)	42,5	26,4	5,9 *	1,8**
No. cruces + empinamientos	16,4	10,7	4,6 *	0,9**

$n = 10$. Los datos representan las medias.

Diluyente: etanol al 6 % en solución salina.

T-circulo: tiempo de permanencia total transcurrido en el círculo central.

*($p < 0,05$), **($p < 0,01$) respecto al diluyente según las pruebas de Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney.

La fracción etanólica disminuyó significativamente el número de contorsiones y estiramientos inducidos por ácido acético, en una forma dependiente de la dosis. El extracto en las dosis de 40 y 200 mg/kg disminuyó significativamente el tiempo de reacción del plato caliente (tabla 4).

Tabla 4. *Efecto de diferentes dosis de la fracción etanólica de C. nocturnum sobre el método de plato caliente y la prueba de ácido acético*

Dosis (mg/kg)	Tiempo de reacción: (lamidos de patas traseras o saltos(s))	Número de estiramientos y contorsiones
Diluyente	10,8	40,0
8	12,5	3,5**
40	8,9 *	0,9 **
200	4,4*	0,6**

n = 10. Los datos representan las medias.

Diluyente: etanol al 6 % en solución salina.

*($p < 0,05$), **($p < 0,01$) respecto al diluyente según las pruebas de Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney.

La figura 2 muestra 2 curvas dosis-efecto de la conducta exploratoria y de la prueba de analgesia plantar, en la que se observa una ausencia de paralelismo entre ambas.

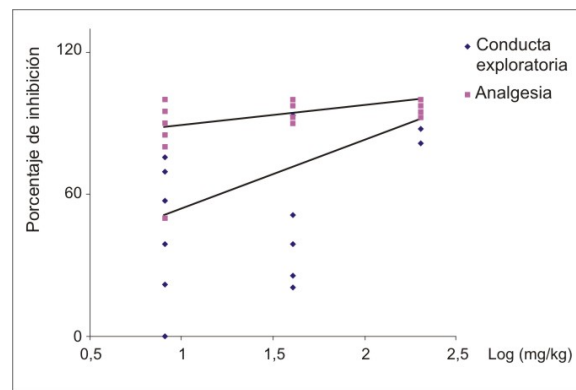


Fig.2. Curva dosis-efecto del extracto etanólico en la conducta exploratoria y en la prueba de irritación peritoneal inducido por ácido acético. En la comparación de las pendientes de las rectas se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) según la prueba de regresión. n=10.

Discusión

Tanto el extracto acuoso como el etanólico mostraron resultados concordantes con el modelo de irritación peritoneal inducido por ácido acético, ya que en ambos casos existió una clara relación dosis-efecto. No ocurrió lo mismo con la prueba del plato caliente, en la que, por el contrario, los efectos fueron opuestos y no existió una relación dosis-efecto.

Es necesario tomar en consideración que las dosis del extracto etanólico que produjeron reducción en el tiempo de reacción del plato caliente inhibieron notoriamente la conducta exploratoria, lo que puede determinar un efecto aparentemente hiperalgésico debido a una mayor inmovilidad del animal en el plato caliente.

Se puede afirmar que ambos extractos se comportaron como sedantes en la conducta exploratoria y como analgésicos periféricos en el modelo de irritación peritoneal. Si se toma en cuenta la ausencia de paralelismo entre estos 2 efectos, los resultados indican que ambos no se encuentran relacionados molecularmente y que obedecen a principios activos diferentes.

A pesar de que estudios anteriores reflejan un perfil de acción hipnoanalgésica,¹ estos resultados muestran que la acción analgésica de la planta es independiente de los efectos centrales inhibitorios de la conducta. Si se considera que el efecto sedante pudiera estar asociado a la actividad antiepiléptica² descrita para esta planta, el sinergismo de esta propiedad farmacológica con la acción analgésica periférica podría resultar beneficiosa en los desórdenes neurológicos con dolor neural crónico. En conclusión, los extractos acuoso y etanólico de *C. nocturnum* ponen en evidencia la presencia en la planta de algún principio activo analgésico de tipo periférico y otro con acción sedante.

Summary

Effect of aqueous and ethanol extracts of *Cestrum nocturnum* L. on the animal's exploring behaviour and on analgesia tests

The neuropharmacological effect of aqueous and ethanol fractions from *Cestrum nocturnum* L. dry leaves through acute administration on animal's exploring behaviour and analgesia test models was studied. The objective of this study was to begin searching for the active principles existing in these fractions, which are responsible for analgesic and sedative effects. The aqueous fraction caused hypoactivity animal's exploring behaviour and reduced dose-dependent response to pain in acetic acid-induced contortions as well as increase in reaction time in the hot-plate method. The ethanol fraction caused a reduction in animal's exploring behavior and in the length of stay in the 10-cm diameter central circle as well as a decrease in acetic acid-induced contortions depending on the dose, and in reaction time in the hot-plate method. The lack of parallelism between the dose-effect curves of both models suggested molecular independence in both pharmacological effects, which seem to be due to different active principles.

Key words: *Cestrum nocturnum* L., exploring behavior, analgesia.

Referencias bibliográficas

1. Buznego MT, León N, Acevedo ME, LLanio M, Fernández MD, Pérez-Saad H. Perfil neurofarmacológico del *Cestrum nocturnum* L. (galán de noche). Rev Cubana Plant Med.

- 1997;2:30-4.
2. Buznego MT, Pérez-Saad H. Efectos agudos del extracto del *Cestrum nocturnum* L. (galán de noche) sobre diferentes modelos de epilepsia experimental. *Rev Cubana Plant Med.* 2002;7:73-6.
3. Roig JT. Galán de noche. En: *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba*. La Habana: Editorial Científico-Técnica;1988.p.443-4.
4. Cáceres A, Girón LM, Alvarado SR, Torres MF. Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal. *J Ethnopharmacol.* 1987;20:223-37.
5. Martínez MA. Medicinal plants used in a Totonac community of the Sierra Norte de Puebla: Tuzamapan de Galeana, Puebla, México. *J Ethnopharmacol.* 1984;1:203-21.
6. Zamora-Martínez MC, Pola MCP. Medicinal plants used in some rural population of Oaxaca, Puebla and Veracruz, Mexico. *J Ethnopharmacol.* 1992;35:229-57.
7. Cáceres A, Lopez BR, Girón MA, Logemann H. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 1. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. *J Ethnopharmacol.* 1991;31:263-76.
8. Diiawan BN, Patnaik GK, Alvarado SR, Torres MF. Screening of Indian plant for biological activity. VI. *Indian J Exp Biol.* 1977;15:208-19.
9. Rizuj SIH, Muker D, Mathur SN. A new report of possible source of natural herbicide. *Indian J Exp Biol.* 1980;18:777-81.
10. Roychoudhury R. Effect of extracts of certain Solanaceous plants on plants virus infection. *Acta Bot Indica.* 1980;8:91-4.
11. Bouchbaver G, Jirovetz L, Koul VK. Volatiles of the absolute of *Cestrum nocturnum* L. *J Essential Oil Res.* 1995;7:5-9.
12. Ahmad VU, Baqai FT, Fatima I, Ahmad R. A spirostanol glycoside from *Cestrum Nocturnum* L. *Phytochemistry.* 1991;30:3057-61.
13. Woolf CJ. The pathophysiology of peripheral neuropathic pain-abnormal peripheral input and abnormal central processing. *Acta Neurochir Suppl.* 1993;58:125-30.
14. MacDonald RL, Kelly KM. Mechanisms of action of currently prescribed and newly developed antiepileptic drugs. *Epilepsia.* 1994;35(suppl 4):S41-50.
- 15.

- Nicholson B. Gabapentin use in neuropathic pain syndromes. *Acta Neurol Scand.* 2000;101(6):359-71.
16. Covino BG. Local anesthetics. In: Ferrante FM, VadeBoncourer TR, editors. *Postoperative Pain Management.* New York: Churchill Livingstone; 1993.p.211-53.
17. Backonja M, Beydoun A, Edwards KR. Gabapentin for the symptomatic treatment of painful neuropathy in patients with diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *JAMA.* 1998;280(21):1831-6.
18. Taylor J, Brower S, Spire ML. Long term treatment of trigeminal neuralgia with carbamazepine. *Rev Postgrad Med J.* 1981;57:16-8.
19. Carter GT, Galer BS. Advances in the management of neuropathic pain. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2001;12(2):447-59.
20. Masdeu JC. Medical treatment and clinical pharmacological. In: Rovit RL, Muroli RL, Janette PJ, editors. *Trigeminal neuralgia.* Baltimore: Williams and Walkins; 1990. p. 79-93.
21. Merren MD. Gabapentin for treatment of pain and tremor: a large case series. *South Med J.* 1998;91(8):739-44.
22. Woolf CJ, Wiesenfeld-Hallis Z. The systemic administration of local anesthetic produces a selective depression of C-afferent evoked activity in the spinal cord. *Pain.* 1985;23:361-74.
23. Covington EC. Anticonvulsants for neuropathic pain and detoxification. *Cleve Clin J Med.* 1998;65(suppl 1):SI-21-SI-29.
24. Hostettmann K, Hostettmann M, Marston A. Sample preparation and purification. In: *Preparative chromatographic techniques: applications in natural products isolation and purification.* Berlin:Springer-Verlag; 1986.
25. Voghel HG, Voghel WH, editors. *Drugs discovery and evaluation: pharmacological assays.* Berlin: Springer; 1997. p. 204-315.
26. Turner RA, editor. *Screening methods in pharmacology.* New York: Academic Press; 1965.p.100-17.

Recibido: 8 de noviembre de 2004. Aprobado: 22 de julio de 2005.

Lic. *María Teresa Buznego Rodríguez.* Instituto de Neurología y Neurocirugía. Avenida 29 y calle D, Habana 10400, Plaza de La Revolución. La Habana, Cuba. Teléfono: 553034 e-mail: cebimar@infomed.sld.cu

¹ **Licenciada en Ciencias Biológicas. Investigadora Auxiliar.**

² **Técnico en Investigación Científica.**

³ **Máster en Informática en Salud. Licenciada en Matemática. Profesora Auxiliar.**

⁴ **Doctor en Ciencias Químicas. Máster en Ciencias. Profesor Titular.**

⁵ **Doctor en Ciencias Médicas. Investigador Titular.**