

Instituto de Neurología y Neurocirugía

## Efecto de los extractos de cloroformo y tolueno de *Cestrum nocturnum* L. sobre la conducta exploratoria y pruebas de analgesia

Lic. María Teresa Buznego Rodríguez,<sup>1</sup> Téc. Alfredo Cuba Peña,<sup>2</sup> MSc. Eneida Garriga Sarría,<sup>3</sup> Dr. Armando Cuéllar Cuéllar<sup>4</sup> y Dr. Héctor Pérez-Saad<sup>5</sup>

### Resumen

Se analizó el efecto de la administración aguda de los extractos de cloroformo y tolueno obtenidos a partir de las hojas secas de *Cestrum nocturnum* L. sobre modelos de conducta exploratoria y pruebas de analgesia. El propósito del trabajo fue iniciar la búsqueda de los principios activos relacionados con los efectos sedante y analgésico de la planta. La fracción de cloroformo produjo hipoactividad y redujo la respuesta en la prueba de las contorsiones inducidas por ácido acético de manera dependiente de la dosis sin provocar cambios en el tiempo de reacción en el plato caliente. La fracción de tolueno provocó una disminución de la conducta exploratoria con similar efecto en el tiempo total de permanencia en el círculo central y una disminución de la respuesta al dolor en forma dependiente de las dosis en el modelo de ácido acético. En el plato caliente esta fracción resultó inefectiva. Los resultados sugieren la presencia en ambos extractos de un principio activo con efecto analgésico periférico y otro con acción sedante.

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

En estudios anteriores se demostró que las hojas secas de *Cestrum nocturnum* poseen efectos sedante, analgésico<sup>1</sup> y antiepiléptico.<sup>2</sup> Estos efectos confirman lo informado por *Juan T. Roig* en su libro “Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba”.<sup>3</sup>

Se ha comprobado, sobre la base de la literatura etnomédica que la planta posee una acción curativa sobre enfermedades de la piel, con actividades cardiotónica, hipotensora, 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.<sup>4-10</sup> Trabajos fitoquímicos indican que la planta contiene diferentes compuestos como alcaloides, saponinas, ácidos grasos, aceites esenciales, fenoles y otros.<sup>11,12</sup>

Es indudable que en el perfil neurotrópico de la planta se combinan efectos conductuales como el sedante y neurológicos como el antiepiléptico y el analgésico. A la vez es de interés, dentro de la neurología, estudiar los principios neuroactivos de esta planta para su potencial utilidad en el tratamiento farmacológico de varios síndromes neurológicos, en los que uno de los síntomas más importantes es el dolor, como en las neuropatías periféricas, cefaleas migrañosas, neuralgia del trigémino, entre otras.<sup>13-18</sup> El dolor crónico conlleva sufrimiento y el individuo puede desarrollar miedo, ansiedad y depresión.<sup>19</sup>

Debido a los efectos encontrados en esta planta, resultados de estudios anteriores, sería de interés farmacológico hallar un principio activo que fuera responsable de varias acciones farmacológicas.

El propósito del presente trabajo fue iniciar la búsqueda de los principios activos relacionados con los efectos sedante y analgésico de la planta mediante la evaluación de los extractos de cloroformo y tolueno, en 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 los cuales se les administraron 3 dosis (8, 40 y 200 mg/kg) de una fracción y al grupo control, solución salina (NaCl 0,9 %). Los extractos se diluyeron con polivinilpirrolidona al 1% y después de secado al baño de maría se disolvieron en solución salina.

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 que se colocaron en un dedal de un equipo soxhlet de extracción continua (80 g de planta y 750 mL) con los siguientes disolventes: tolueno y cloroformo.<sup>20</sup> Las extracciones se realizaron durante 8 a 16 h, de forma sucesiva sobre el mismo material vegetal. 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 fue observada 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.<sup>21</sup> La observación comenzó con la colocación del animal en el círculo central y a partir de ese momento se midieron los indicadores siguientes: latencia (tiempo inicial transcurrido en el círculo central), número de empinamientos, número de veces que el animal atraviesa el círculo central- conducta diagonal y 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.<sup>22</sup>

**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.<sup>22</sup> Los ratones 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  $54 \pm 1^\circ \text{C}$ . 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 de cloroformo provocó una disminución significativa del número de cruces más empinamientos con la administración de las dosis de 8 y 40 mg/kg (tabla 1). Este extracto no modificó la latencia, ni el tiempo de permanencia total en el círculo central.

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

	Solución salina	Dosis (mg/kg)		
		20	100	500
Latencia (s)	1,1	1,2	1,2	1,4
T-círculo (s)	9,2	8,8	6,7	5,1
No. cruces + empinamientos	50,4	38,8	25,0*	25,7*

n = 10. Los datos representan las medias.

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

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

El extracto clorofórmico provocó una disminución significativa en los números de contorsiones y estiramientos, mientras que no modificó el tiempo de reacción en el plato caliente (tabla 2).

Tabla 2. Efecto de diferentes dosis de la fracción clorofórmica 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 salto (s)	Número de estiramientos y contorsiones
Solución salina	8,2	35,9
8	19,2	3,6 **
40	8,7	10,1 **
200	8,5	5,0 **

n = 10. Los datos representan las medias.

\*\* ( $p < 0,01$ ) 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 pruebas de analgesia.

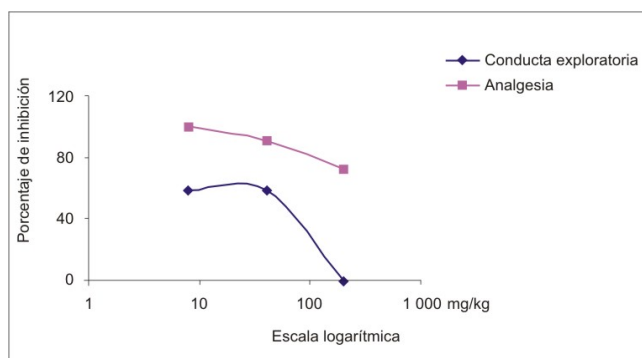


Fig. 1. Curva dosis-efecto del extracto clorofórmico en la conducta exploratoria y en la prueba de analgesia inducida por ácido acético (n=10).

La administración aguda de la fracción de tolueno produjo una disminución significativa de los cruces más empujados y del tiempo de permanencia total transcurrido en el círculo central en todas las dosis (tabla 3), sin modificar la latencia.

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

	Solución salina	Dosis (mg/kg)		
		8	40	200
Latencia (s)	2,2	2,7	2,8	3,8
T-círculo (s)	26,2	8,3*	1,3**	4,3**

No. cruces + empinamientos	44,7	20,2*	7,3**	10,7**
----------------------------	------	-------	-------	--------

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 de tolueno disminuyó significativamente los números de contorsiones y estiramientos inducidos por ácido acético, de manera dosis dependiente. El tiempo de reacción en el plato caliente no fue modificado por ninguna de las dosis del extracto (tabla 4).

Tabla 4. Efecto de diferentes dosis de la fracción de tolueno 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	5,9	38,6
8	11,5	5,4 **
40	11,5	3,1 **
200	10,2	0,4 **

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.

La figura 2 muestra 2 curvas dosis-efecto de la conducta exploratoria y de la prueba de analgesia plantar que son paralelas.

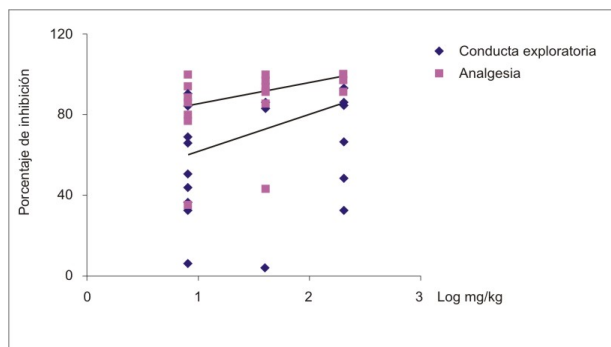


Fig. 2. Curva dosis-efecto del extracto toluénico en la conducta exploratoria y en la prueba de analgesia por irritación peritoneal por ácido acético. No se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) al comparar las pendientes de las rectas según la prueba de regresión. n=10

## Discusión

Los resultados demostraron que tanto el extracto de cloroformo como el extracto de tolueno tuvieron una acción analgésica en la prueba inducida por ácido acético. En la tabla 2 y 4 se muestra como las dosis empleadas de ambos extractos produjeron efectos cercanos al máximo, lo que explica en parte la escasa relación dosis-efecto.

En el caso del extracto clorofórmico, en la conducta exploratoria, existió una relación dosis-efecto para las 2 primeras dosis, pero el efecto de la dosis mayor fue en sentido contrario. El efecto encontrado pudiera tratarse de un fenómeno de autoinhibición o de la presencia de sustancias antagonistas que entran en juego con la elevación de la dosis. De igual forma, la dosis mayor (200 mg/kg) del extracto de tolueno produjo un efecto similar al de la dosis de 40, lo que sugiere que se alcanzó un efecto máximo.

Dado que el efecto analgésico de los extractos sólo tiene una expresión clara en el modelo de contorsiones inducidas por ácido acético, alude a que el mecanismo de acción es un fenómeno local (periférico). La acción analgésica y sedante parecen deberse a principios activos diferentes. En conclusión los resultados indican que tanto el o los principios activos con propiedades analgésicas están presentes de igual forma en ambos extractos.

## Summary

### **Effect of chloroform and toluene extracts of *Cestrum nocturnum* L. on the animal's exploring behavior and analgesia tests**

The effect of acute administration of chloroform and toluene extracts from *Cestrum nocturnum* L. dry leaves on the animal's exploring behavior and analgesia test models. The objective was to begin looking for the active principles related to sedative and analgesic effects of the plant. The chloroform fraction caused hypoactivity and reduced dose-dependent response in acetic acid-induced contortion test without changes in reaction time in the hot-plate method. The toluene fraction caused a decrease of the animal's exploring behavior with similar effect in total length of stay in the 10-cm diameter central circle and a reduction of dose-dependent response to pain in the acetic acid model. In the hot-plate method, this fraction was not effective. The results suggest that an active principle with peripheral analgesic effect and another one with sedative effect are present in both extracts.

**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.

3. 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.
4. Roig JT. Galán de noche. En: *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba*. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1988.p.443-4.
5. 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.
6. 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.
7. Zamora-Martínez MC, Pola MCP. Medicinal plants used in some rural population of Oaxaca, Puebla and Veracruz, Mexico. *J Ethnopharmacol.* 1992;35:229-57.
8. 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.
9. Diiawan BN, Patnaik GK, Alvarado SR, Torres MF. Screening of Indian plant for biological activity. VI. *Indian J Exp Biol.* 1977;15:208-19.
10. Rizuj SIH, Muker D, Mathur SN. A new report of possible source of natural herbicide. *Indian J Exp Biol.* 1980;18:777-81.
11. Roychoudhury R. Effect of extracts of certain Solanaceous plants on plants virus infection. *Acta Bot Indica.* 1980;8:91-4.
12. Bouchbaver G, Jirovetz L, Koul VK. Volatiles of the absolute of *Cestrum Nocturnum* L. *J Essential Oil Res.* 1995;7:5-9.
13. Ahmad VU, Baqai FT, Fatima I, Ahmad R. A spirostanol glycoside from *Cestrum Nocturnum* L. *Phytochemistry.* 1991;30:3057-61.
14. Taylor J, Brower S, Spir ML. Long term treatment of trigeminal neuralgia with carbamazepine. *Rev Postgrad Med J.* 1981;57:16-8.
15. 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.
16. González-Espinosa LE, Gómez-Viera N, Olivera-Leal I, Reyes-Lorente R. Tratamiento del ataque agudo de cefalea migrañosa con sumatriptán. *Rev Neurol.* 1997;25:1672-5.

17. Swerdlow M. Anticonvulsant drugs and chronic pain. *Clin Neuropharmacol.* 1984;7:51-82.
18. Maciewicz R, Bouckmans A, Martin JB. Drug therapy of neuropathic drugs. *Clin J Pain.* 1985;1:22-7.
19. Merskey H, Bugduk N. Classification of Chronic Pain. Descriptions of Chronic Pain Syndromes and Definitions of Pain Terms. 2nd ed. Seattle, WA: IASP Press; 1994.
20. Becker N, Bondegaard Thomsen A, Olsen AK. Pain epidemiology and health related quality of life in chronic non-malignant pain patients referred to a Danish multidisciplinary pain center. *Pain.* 1997;73:393-400.
21. 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.
22. Voghel HG, Voghel WH, editors. Drugs discovery and evaluation: pharmacological assays. Berlin: Springer;1997. p. 204-315.
23. Turner RA, editor. Screening methods in pharmacology. New York: Academic Press; 1965. p. 100-17.

Recibido: 26 de abril 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](mailto:cebimar@infomed.sld.cu)

<sup>1</sup> **Licenciada en Ciencias Biológicas. Investigadora Auxiliar.**

<sup>2</sup> **Técnico en Investigación Científica.**

<sup>3</sup> **Máster en Informática en Salud. Licenciada en Matemática. Profesora Auxiliar.**

<sup>4</sup> **Doctor en Ciencias Químicas. Máster en Ciencias. Profesor Titular.**

<sup>5</sup> **Doctor en Ciencias Médicas. Investigador Titular.**