

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE *BIDENTS ODORATA*

Villanueva Solís Luis Enrique (1), Zapata Morales Juan Ramón (2), Alonso Castro Angel Josabad (3)

1 Químico Farmacéutico Biólogo, Universidad de Guanajuato | Dirección de correo electrónico: levs_z2@hotmail.com

2 Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato | Dirección de correo electrónico: mzrl@hotmail.com

3 Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato | Dirección de correo electrónico: angeljosabad@hotmail.com

Resumen

Introducción: *Bidents odorata* es una planta medicinal originaria de México y Guatemala comúnmente conocida como "Aceitilla", es usada para el tratamiento de diarrea y diurético. Sin embargo, aún no se han estudiado los efectos antiinflamatorios y antinociceptivos de *Bidents odorata*. **Metodología:** Se utilizaron ratones de la cepa BALB/c. El efecto antiinflamatorio se evaluó en el modelo de edema auricular inducido por una aplicación de 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA); se usó Indometacina como control positivo. El efecto antinociceptivo del extracto etanólico de *Bidents odorata* se evaluó con los modelos de ácido acético y formalina (50, 100 y 200 mg/kg); se utilizó Naproxeno como control positivo. Para determinar las diferencias entre los resultados se utilizó un ANOVA seguido de una prueba Dunnett. **Resultados:** El extracto etanólico de *Bidents odorata* redujo la inflamación en el modelo de edema auricular inducido por una aplicación de TPA al 30 %. El extracto etanólico de *Bidents odorata* mostró tener efecto antinociceptivo en el modelo de ácido acético y en el modelo de la formalina, con un efecto antinociceptivo del 30 al 60 % en los 2 modelos utilizados. **Conclusiones:** El extracto etanólico de *Bidents odorata* presentó efecto antiinflamatorio y antinociceptivo en los modelos evaluados.

Abstract

Introduction: *Bidents odorata*, a native medicinal plant from Mexico and Guatemala, commonly known as "Aceitilla", is used to treat diarrhea and used as diuretic. However, the anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Bidents odorata* remain to be studied. **Methods:** BALB/c mice were used. The anti-inflammatory effect of ethanolic extract of *Bidents odorata* was evaluated in the model of auricular edema induced by application of 13-acetate of 12-O-tetradecanoilforbol (TPA); Indometacin was used as a positive control. The antinociceptive effect of ethanolic extract of *Bidents odorata* was evaluated in the models of acetic acid and formalin (50, 100 and 200 mg/kg); Naproxen was used as positive control. The differences between the results were analyzed by using ANOVA test followed by Tukey test. **Results:** The ethanolic extract of *Bidents odorata* reduced the inflammation by 30% in the model of auricular edema induced by application of TPA. The ethanolic extract of *Bidents odorata* showed antinociceptive effects by 30 to 60% in the models of acetic acid and formalin. **Conclusions:** The ethanolic extract of *Bidents odorata* exerted anti-inflammatory and antinociceptive effects.

Palabras Clave

Actividad antinociceptiva; Actividad antiinflamatoria; *Bidents odorata*; formalina; ácido acético.

INTRODUCCIÓN

Dolor, inflamación y su tratamiento

El dolor es una percepción y como tal, es una de las salidas del sistema nociceptivo, el que por sí mismo es un componente general de regulación de la homeostasia. El dolor es uno de los síntomas más frecuentes y con mayor desafío terapéutico, se origina con un estímulo nocivo y causa una reacción inmediata de alarma, en algunos casos pueda dar como resultado un proceso inflamatorio o neuropático. [1]

Para el tratamiento del dolor se utilizan los fármacos denominados analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y opioides. Los AINEs actúan inhibiendo las enzimas ciclooxigenasa 1 y 2 (COX1 y 2), enzimas responsables de la conversión de ácido araquidónico a prostaglandinas. Por otro lado, los analgésicos opioides constituyen un grupo de fármacos que se caracterizan por poseer afinidad selectiva por los receptores opioides y como consecuencia de la activación de estos receptores causan analgesia de elevada intensidad, producida principalmente sobre el Sistema Nervioso Central. Sin embargo, ambos tratamientos se ven acompañados por efectos colaterales como úlceras y daño renal para los AINEs y farmacodependencia para los opioides. [2,3]

Bidents odorata y su papel en medicina tradicional

En México, el efecto de productos naturales a base de plantas se ha estudiado desde hace años y se han evaluado efectos como hipoglucemiantes, antihipertensivos, analgésicos y antiinflamatorios, debido a que los fármacos que se utilizan actualmente para el tratamiento del dolor como AINEs y opioides, presentan efectos colaterales, es importante continuar buscando nuevas moléculas que pudieran tener efecto analgésico igual o mejor que los fármacos que se utilizan actualmente, pero con menores efectos colaterales fuente importante de compuestos con actividad antinociceptiva y antiinflamatoria son las plantas. [4]

En la región centro de México existe una gran variedad de plantas a las cuales se les ha asociado con algunas propiedades farmacológicas, sin embargo, no todas sus propiedades y efectos farmacológicos han sido evaluados, el caso de *Bidents odorata*, planta medicinal originaria de México y Guatemala comúnmente conocida como “Mozoquelite” o “Aceitilla,”. En nuestro país es una de las especias más comunes y su distribución es principalmente en campos de cultivo, a las orillas del camino, áreas perturbadas como en los estados de Nuevo León. En Guanajuato, es de las principales malezas en el cultivo de frijol, en los municipios de Ocampo y San Felipe, es usada para el tratamiento de diarrea y como diurético. Sin embargo, aún no se han estudiado los efectos antinociceptivos y antiinflamatorios de esta planta. [5]

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

Extracto etanólico de *Bidents odorata*.

Animales de experimentación

Se utilizaron ratones de la cepa BALB/c con un peso de 30 gramos, suministrados por el Bioterio de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato. Los animales se mantuvieron bajo las condiciones establecidas en la norma NOM 062-ZOO-1999 y de acuerdo con las recomendaciones de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor, los animales se mantuvieron con agua y alimento siempre a su disposición. [6]

Actividad antinociceptiva

La actividad antinociceptiva del extracto etanólico de *B. odorata* se evaluó en los modelos del ácido acético y formalina.

Prueba del Ácido acético (“Writhing Test”)

En esta prueba se realizó la administración intraperitoneal de Ácido acético, que irrita las membranas serosas, lo que provoca un comportamiento estereotipado en el ratón, que se

caracteriza por contracciones abdominales involuntarias, torsión de los músculos dorso-abdominal, y una reducción en la actividad motora. [1]

En cada grupo experimental se usaron 6 ratones. Los tratamientos corresponderán en: a) extracto etanólico de *Bidents odorata* probado a 50, 100 y 200 mg/kg o.p., b) el control positivo (Naproxeno 150 mg/kg) y c) el vehículo (solución salina). Los ratones recibieron una inyección i.p. de una solución de ácido acético al 1%. Posteriormente, se contaron durante 30 minutos el número de contorsiones en todos los grupos. El efecto antinociceptivo se midió con la disminución del número de contorsiones de los tratamientos con respecto al control (ácido acético).

Prueba de la Formalina

Los ratones fueron colocados en cilindros transparentes de acrílico, con espejos ubicados en la parte posterior, durante 60 minutos para su ambientación por 3 días previos al experimento. En cada grupo experimental se usaron 6 ratones. Los tratamientos consistieron en: a) el extracto etanólico de *Bidents odorata* probado a 50, 100 y 200 mg/kg o.p., b) el control positivo (Naproxeno 150 mg/kg) y c) el vehículo (solución salina). Se administraron intraplantarmente 30 µl de formalina al 3% en la pata trasera derecha de los ratones. Después, los ratones se colocaron en los cilindros. Se cuantificó el tiempo de lamida en segundos durante los 45 minutos posteriores a la administración de la formalina. [7]

El efecto antinociceptivo se midió con la disminución del tiempo de lamida de los tratamientos con respecto al control (formalina).

Actividad Antiinflamatoria

Se evaluó la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Bidents odorata* en el modelo del edema auricular inducido por TPA.

Prueba del TPA

Para la prueba de edema auricular inducido por una aplicación de 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA), se utilizaron grupos de 6 ratones, se colocaron cajas separadas que correspondieron al control (TPA), referencia

(indometacina) y el extracto. Las aplicaciones se hicieron tópicamente en las superficies interna y externa de la oreja derecha, grupo Control 2.5 µg de TPA disueltos en 20 µL de acetona; grupo de referencia con 1.0 mg de indometacina disuelta en 20 µL de acetona, seguido de la misma dosis de TPA aplicada al grupo control. El extracto disuelto en 20 µL de acetona a dosis de 2.0 mg por oreja, seguido de la aplicación de la misma dosis de TPA descrita para el Control. Seis horas después del tratamiento, los animales se sacrificaron por dislocación cervical.

El edema fue medido como la diferencia de peso entre la oreja tratada y la correspondiente no tratada. Los porcentajes de inflamación y de inhibición fueron calculados con las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ Inflamación} = \frac{W_t - W_o}{W_o} \times 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{I_c - I_t}{I_c} \times 100$$

Análisis de datos

Los datos fueron presentados como la media ± el error estándar de la media (EEM). Para el análisis estadístico de los datos se realizará un ANOVA y una prueba pos hoc de Dunnett. Se consideraron estadísticamente significativos valores de P < 0.05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba del Ácido acético ("Writhing Test")

El efecto antinociceptivo del extracto etanólico de *Bidents odorata* en el modelo del ácido acético se muestra en la figura 1, en ella se puede observar como a las dosis de 50, 100 y 200 mg/kg disminuye el número de contracciones abdominales en un 30 al 60%, dicho efecto es dependiente de la dosis del extracto, el efecto de disminución de las contorsiones de un 30% se puede observar también con Naproxeno.

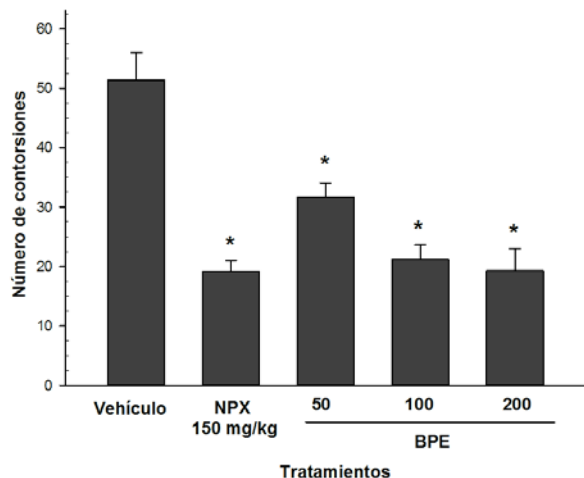


FIGURA 1. Evaluación del efecto antinociceptivo del extracto etanólico de *Bidens odorata* en el modelo del ácido acético. Cada grupo representa la media \pm EEM (n=8). *p<0.05 comparado con el control (Prueba de Dunnett).

Prueba de la Formalina

El efecto antinociceptivo del extracto etanólico de *Bidens odorata* en el modelo de la formalina se muestra en la figura 2, en ella se puede observar como a las dosis de 50, 100 y 200 mg/kg no tuvo ningún efecto en la disminución del tiempo de lamida en la fase 1, mientras que en la fase 2 se puede observar una disminución en el tiempo de lamida de un 30 a 60% cuando se administra el extracto etanólico de *Bidens odorata*, el efecto encontrado del extracto es similar al encontrado con naproxeno.

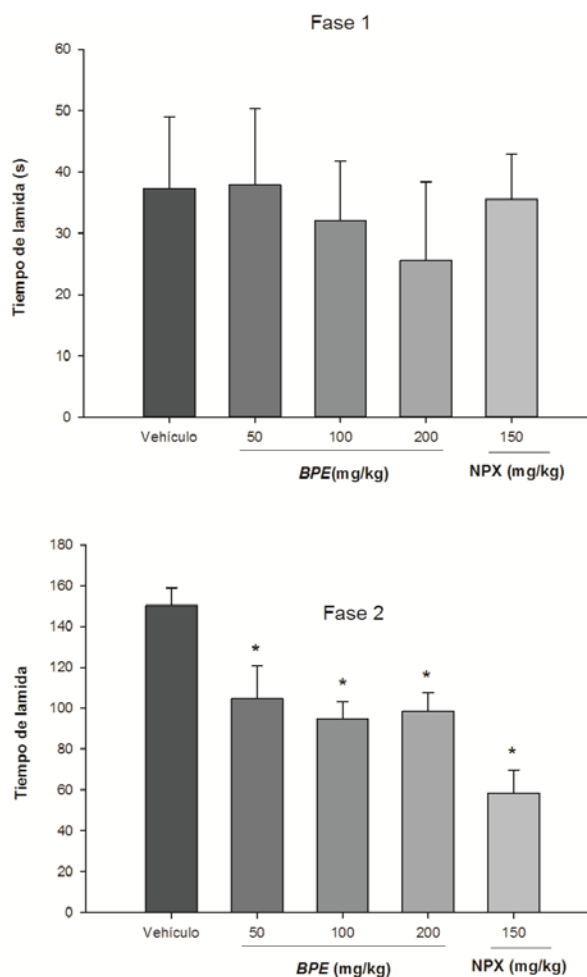


FIGURA 2. Evaluación del efecto antinociceptivo del extracto etanólico de *Bidens odorata* en el modelo de la formalina. Cada grupo representa la media \pm EEM (n=8). *p<0.05 comparado con el control (Prueba de Dunnett).

Edema auricular inducido por TPA

El efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de *Bidens odorata* se muestra en la figura 3, en ella se puede observar como a una dosis de 2 mg por oreja disminuye la inflamación producida por TPA (30%), mientras que Indometacina disminuye alrededor de un 65% la inflamación producida por TPA.

Los resultados encontrados en este proyecto dan a conocer nuevas propiedades farmacológicas del extracto de *Bidens odorata*, como perspectiva de este trabajo se tendrá que evaluar si el extracto etanólico de *Bidens odorata* muestra efecto antinociceptivo en otras pruebas como el modelo

de tail flick y hot plate, además se tratara de elucidar el posible mecanismo del extracto etanólico de *Bidens odorata* en la vía de las ciclooxigenasas.

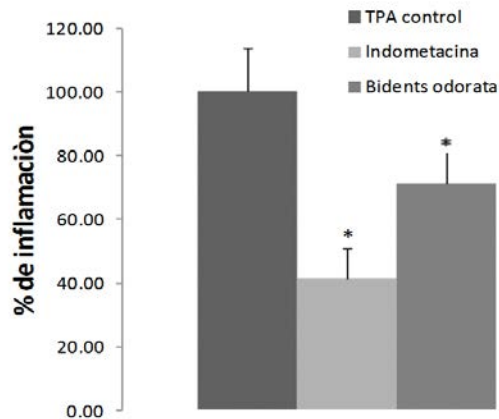


FIGURA 3. Evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de *Bidens odorata* en el modelo de edema auricular inducido por una aplicación de 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA). Cada grupo representa la media \pm EEM (n=8). * $p < 0.05$ comparado con el control (Prueba de Dunnett).

CONCLUSIONES

El extracto etanólico de *Bidens odorata* presentó efecto antiinflamatorio (30%) y antinociceptivo (30-60%) en los modelos evaluados.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo brindado a CONACYT por el proyecto 257872 (Investigación Científica Básica 2015) y el apoyo a la incorporación de Nuevos PTC UGTO-PTC-507, DSA/103.5/15/10902 por el Programa para el Desarrollo Profesional Docente (PRODEP).

Al señor Juan Pedro Galván por su apoyo técnico en la realización de este proyecto.

REFERENCIAS

- [1] Le Bars D., Gozariu M. & Cadden S.W. (2001). Animal models of nociception. *Pharmacological reviews*, 53 (4), 597-652.
- [2] Boursinos L.A., Karachalios T., Poultsides L. & Malizos K.N. (2009). Do steroids, conventional non-steroidal anti-inflammatory drugs and selective Cox-2 inhibitors adversely affect fracture healing? *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 9 (1), 44-52.
- [3] Pathan H. & Williams J. (2012). Basic opioid pharmacology: An update, *British Journal of Pain*, 6 (1), 11–16. Doi: 10.1177/2049463712438493
- [4] Juárez Vázquez M. C., Carranza Álvarez C., Alonso Castro A.J., González Alcaraz V.F., Bravo Acevedo E., Chamarro Tinajero F.J. & Solano E. (2013). Ethnobotany of medicinal plants used in Xalpatlahuac, Guerrero, México, *Journal of Ethnopharmacology*, 148, 521-527.
- [5] Meléndez Camargo M.E., Berdeja B. & Miranda G. (2004). Diuretic effect of the aqueous extract of *Bidens odorata* in the rat, *Journal of Ethnopharmacology* 95, 363–366.
- [6] Zimmerman M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16: 109–10. 1983
- [7] Hunskar S. & Hole K. (1987). The formaline test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain, *Pain*, 30(1), 103-114.