

# EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ANTINOCICEPTIVOS, ANTIDIARREICO Y ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CELTIS PALLIDA TORR (Cannabaceae)

Rojas Bedolla Edgar Isaac (1) Alonso Castro Angel Josabad (2)

1 [Químico Fármaco Biólogo, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato] [ei.rojasbedolla@ugto.mx]

2 [Departamento de farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] [angeljosabad@hotmail.com]

## Resumen

En el presente trabajo se llevó a cabo la identificación del arbusto de granjeno, de este se estudiaron los efectos antinociceptivos, antidiarreico y antimicrobiano, se utilizaron ratones de la cepa Balb/c con peso entre 28 y 30 gr, realizando varios experimentos como placa caliente, prueba de formalina, prueba de diarrea con aceite de ricino y prueba antimicrobiana, en los cuales se obtuvo que el extracto no presenta antinocicepcion en modelos de dolor provocado por calor, si ejerce efectos de antinocicepción en la fase 2 (dolor inflamatorio), si inhibe la diarrea provocada por aceite de ricino, pero no ejerce efectos antimicrobianos o antifungicos ante algunos patógenos humanos.

## Abstract

In the present work the identification of the shrub was carried out of granjeno, of this one the effects were studied antinociceptivos, antidiarreico and antimicrobial, there were in use mice of the vine-stock Balb/c with weight between 28 and 30 gr, realizing several experiments as warm plate, it tries of formalina, tries diarrhea with oil of castor and antimicrobial test, in which there was obtained that the extract does not present antinocicepcion in models of pain provoked by heat, if he exercises effects of antinocicepción in the phase 2 (inflammatory pain), if it disables the diarrhea provoked by oil of castor, but does not exercise antimicrobial effects or antifungicos before any pathogenic human beings.

## Palabras clave

Inflamatorio; arbusto; granjeno; medicina alternativa.

## INTRODUCCIÓN

De acuerdo con su origen, existen el dolor de tipo neurogénico e inflamatorio. El dolor de tipo neurogénico es aquel que protege al organismo ante estímulos que son dañinos como pinchazos, golpes, quemaduras; inclusive durante cirugías. [1] En este tipo de dolor se liberan múltiples sustancias que sensibilizan o activan a los nociceptores (receptores del dolor). El dolor de tipo inflamatorio es ocasionado por traumas (heridas, fracturas, roturas fibrilares, etc.), presiones intensas (isquemia), quemaduras, frío intenso (vasoconstricción) e infecciones. En el dolor de tipo inflamatorio se liberan las prostaglandinas, los leucotrienos y la Sustancia P que son sustancias sensibilizadoras, mientras que los iones K<sup>+</sup>, la serotonina, la bradiquinina y la histamina son activadores. De acuerdo con su duración, el dolor puede ser de tipo agudo o crónico. Existen diversas enfermedades de tipo inflamatorio crónico como son la artritis reumatoidea, lupus, etc.) [2].

Desde hace mucho tiempo, se considera a la diarrea como uno de los problemas sanitarios más importantes de los países en vías de desarrollo. La diarrea a escala mundial es la causa de la muerte de más de 5-8 millones de niños y bebés menores de 5 años. De acuerdo con los cálculos de la OMS correspondientes al año 1998, hubo alrededor de 7,1 millones de muertes a causa de la diarrea en el mundo. La principal causa de la diarrea reside en las infecciones microbianas. La diarrea secretora está producida por una disminución de la absorción y/o un aumento de la secreción intestinal. En general es una diarrea muy voluminosa, de baja osmolaridad (< 320) y con un contenido aumentado de electrolitos. No suele ceder con el ayuno. [3]

El boldo (*Peumus boldus*) es particularmente empleado en trastornos del aparato digestivo, aunque se usa principalmente en afecciones del hígado. De la misma manera, se recomienda tomar el cocimiento como agua de uso, sin endulzar. Otros usos que se le dan a esta planta son: en problemas de indigestión, tos, diabetes y paño. [4.]

Otro ejemplo es la manzanilla cimarrón o gordolobo (*Gnaphalium oxyphyllum*). Se toma la flor en té para antes y después del parto. Para la tos se puede tomar seguido y si no es fuerte, una o dos veces al día. Para la diarrea, con hinojo del que se siembra en la región del norte del país [5].

*Celtis pallida* es conocida comúnmente como: granjeno, granjeno blanco, granjenillo. Es un arbusto de 1 a 6 m de alto, caducifolio; ramas principales rígidas, extendidas, arqueadas, las secundarias por lo general flexuosas y terminando en una espina. Es una planta de matorrales xerófilos, particularmente de crasiccaule, de los mezquites y ocasionalmente del bosque tropical caducifolio; de le ha registrado también en orillas de terrenos de cultivo, orillas de la carretera, así como en el bosque galería. Alt. 1000-2300 m. Se ha encontrado con flores en diversos meses, especialmente de junio a agosto. Distribuida desde Arizona, Nuevo México, Texas y Baja California hasta Veracruz y Oaxaca; también en las porciones semiáridas de Paraguay y Argentina. E.U.A; B.C., B.C.S., Sonora, Sinaloa, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Durango, Zacatecas, San Luis Potosí, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Jalisco, Michoacán; Sudamérica.

Los usos medicinales de esta planta son para el tratamiento de la diarrea, como desinfectante de heridas, para inflamaciones y dolores musculares. [6]. Se usa como antiseptico [7]. En la región de Durango y zonas aledañas las hojas de granjeno molidas y mezcladas con sebo de res se aplican como cataplasma sobre granos e inflamaciones para que supuren. Se registra que en el noreste del país las hojas molidas se colocan en las sienes para mitigar el dolor de cabeza. [8]. En Argentina se le conoce como "tala pispita" se usa como infusión para el empacho y para el dolor de estómago. [9] Sin embargo, hasta el momento no hay estudios farmacológicos, toxicológicos o químicos realizados con esta especie vegetal. En este trabajo se abordaron tres usos medicinales de la planta *Celtis pallida* Torr: antinociceptivo, antidiarreico y antimicrobiano.

El objetivo del presente trabajo se desarrolla con el fin de evaluar la actividad farmacológica del CPE por medio de modelos de nocicepción (prueba de la placa caliente y prueba de formalina), diarrea (modelo de aceite de ricino) y pruebas antimicrobianas, además de la identificación del taxonómica del arbusto de granjeno.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Identificación del material vegetal*

Identificación del material vegetal. Muestras del arbusto de *Celtis pallida* fueron obtenidas en el municipio de Uriangato con las siguientes coordenadas geográficas latitud 20.1085 y longitud -101.1692., Guanajuato en el mes de diciembre de 2015. Un ejemplar se llevó a identificar al herbario de la facultad de biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (EBUM) y se registró con el número de folio 27042.

### *Preparación del extracto vegetal*

Se obtuvieron ramas y hojas del arbusto de granjeno y estas se cortaron de tamaño pequeño para que puedan ser molidas en una licuadora. Posteriormente, se realizó una maceración en etanol con el material vegetal durante 10 días.

### *Animales de laboratorio*

Se utilizaron ratones de la cepa Balb/c con peso entre 28 y 32 gramos, del bioterio de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato. Se cuenta con la aprobación del comité en ética de ética en investigación Dixpertia (clave del dictamen CEID-008A-2017), para la realización de los experimentos con animales de laboratorio.

### *Placa caliente*

Se utilizaron grupos de 8 ratones. Para el control positivo se administró buprenorfina 1 mg/kg (p.o) a

un grupo de ratones y para otro grupo se administró agua inyectable, como control negativo. Asimismo, se administraron distintas dosis del extracto de *C. pallida* (50-200 mg/kg). Todos los tratamientos se administraron una hora antes de colocar a los ratones en la placa caliente. Después de haber transcurrido este tiempo se colocaron a los ratones en la placa caliente la cual estaba a temperatura constante de 55°C. Se contabilizó el tiempo en segundos en que los animales mostraran signos de dolor tales como lamerse repetidamente las patas o en se defecto brincar, a una hora y dos horas después de administrar los tratamientos.

### *Prueba de Formalina*

Se utilizaron grupos de 8 ratones. Para el control positivo se administró tramadol 30 mg/kg (p.o) a un grupo de ratones y para otro grupo se administró agua inyectable, como control negativo. Asimismo, se administraron distintas dosis del CPE (50-200 mg/kg). Todos los tratamientos se administraron una hora antes de la prueba de la formalina. Al cabo de este tiempo, se procedió a inyectar a los ratones con 0.03 ml de una solución de formalina al 1% para inducir la inflamación de la pata trasera derecha. Posteriormente se contabilizó el tiempo en que los ratones se lamen la pata.

### *Prueba de diarrea con aceite de ricino*

Los ratones se mantuvieron en ayuno de 16 horas antes de realizar las pruebas. Se utilizaron grupos de 8 ratones. Para el control negativo se utilizó solución salina, para el control positivo se administró loperamida (2 mg/kg p.o.). También se administraron distintas dosis de CPE (1-100 mg/kg). Los tratamientos se administraron una hora antes de iniciar el experimento. Posteriormente se administró oralmente a cada grupo de ratones una solución de aceite de ricino y se contabilizó el número de heces diarreicas durante 4 horas. Se realizó el cálculo de la  $DE_{50}$  por medio de una regresión lineal, con los datos obtenidos.

### Prueba antimicrobiana

Para esta prueba se utilizaron 5 distintos microorganismos considerados representativos de cada familia; las bacterias gram negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), las bacterias gram positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC6538) y *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), además de la levadura *Cándida albicans* (ATCC 10231). Para la preparación del inóculo microbiano y de las soluciones de trabajo se siguió la metodología en el documento M100 para preparar un inóculo bacteriano de cultivos de 24 horas en medio líquido. Se ajustó el inóculo en cada bacteria a una densidad óptica de 0.04 (CLSI, 2016). Se prepararon una serie de soluciones stock para el extracto; para que de esta manera se pudieran diluir hasta la curva de concentraciones en la que se evaluó su posible actividad. Se usaron placas de 96 pozos estériles con fondo en U. Cada placa permite realizar una CMI de un antibiótico a ocho cepas diferentes, o una CMI de una cepa contra ocho diferentes antibióticos. Con esa técnica se pueden determinar la CMI, la cual se define como la mínima concentración de antibiótico que inhibe el crecimiento posible de un inóculo bacteriano estandarizado (Woods, 1995). El medio de cultivo empleado es el caldo nutritivo Difco D3. La cepa se preparó en las mismas condiciones de turbidez, pureza y crecimiento de todas las pruebas de sensibilidad. Para preparar las diferentes diluciones del antibiótico (Cefatoxima) se parte de una solución madre que se debe diluir en las condiciones adecuadas para cada antibiótico. Esta solución madre es diferente para cada antibiótico y su escogencia depende del tipo de antibiótico y la cepa a probar.

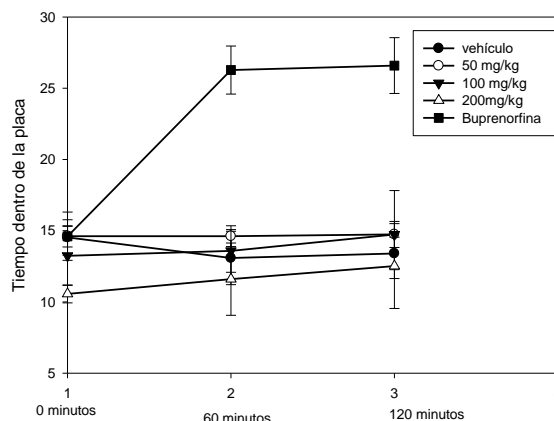
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Prueba de placa caliente

En este experimento ninguna de las dosis utilizadas del CPE inhibe el dolor provocado por calor en

ninguno de los dos tiempos. El control positivo inhibió el dolor en 100% en la primera fase y un 98% en la segunda fase, es decir a los 60 y 120 minutos posteriores a la administración respectivamente. (Gráfico 1). Aquí no se obtuvo  $DE_{50}$ , esto por el pobre efecto que CPE tuvo sobre los animales.

Gráfico 1. Placa caliente



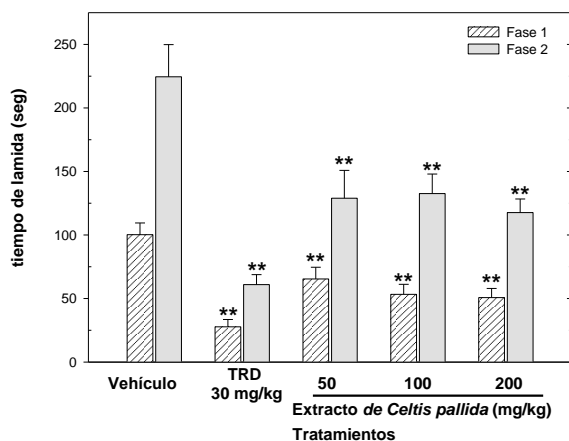
En este experimento el extracto no presentó efectos inhibiendo el dolor causado por calor a ninguna de las dosis utilizadas; con respecto al control positivo se observa que existe mucha diferencia ya que éste inhibe el dolor de manera muy significativa, en donde los ratones soportan más de 25 segundos en la placa, mientras que con CPE apenas alcanzaron los 15 segundos, esto en la primera fase. Cabe mencionar que en la segunda fase ocurrió un efecto muy similar. En este contexto se sugiere realizar más experimentos de dolor, como la prueba de ácido acético, pero utilizando las mismas dosis

### Prueba de la Formalina

En la primera fase se observa que la dosis de 200mg/kg de CPE presentó el mejor efecto antinociceptivo, inhibió el dolor en 49%, el cual tuvo mejor efecto que el control positivo tramadol. En la fase dos, la dosis de 200 mg/kg inhibió el dolor de tipo inflamatorio en 48.73%. El control positivo tramadol inhibió el dolor en 71.2% en la fase 1 y en 72.6% en la fase 2 (Gráfico 2). Con estos resultados

se calculó la DE<sub>50</sub> mediante una regresión lineal, pero solo se realizó para la primera fase que fue de 2.36mg/Kg, mientras que para la segunda fase no se pudo calcular porque no existe una inhibición del dolor de al menos 50%.

Grafico 2. Prueba de la formalina

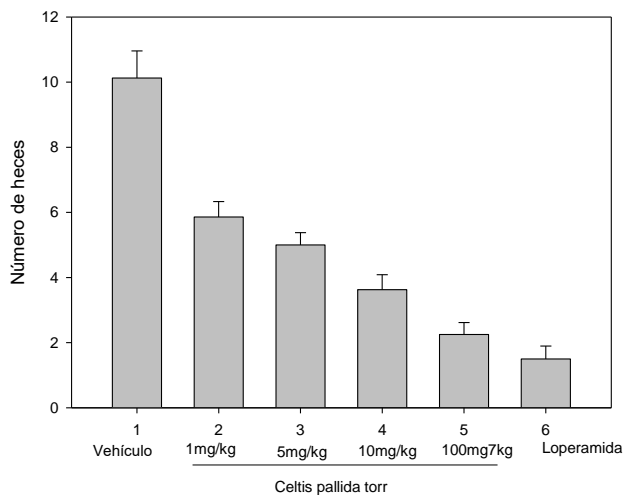


En este experimento se observa que la mejor dosis fue a 200mg/kg, pero infortunadamente el CPE no tiene un efecto tan efectivo como el tramadol, no se sugiere usar más dosis ya que en este trabajo se usaron las dosis más adecuadas.

### Prueba de diarrea con aceite de ricino

En el gráfico 3 se puede observar que el efecto antidiarreico de CPE fue de tipo dependiente de la dosis. Se observó que todas las dosis tuvieron un mejor efecto en comparación con el control negativo. En este experimento de igual manera se calculó la DE<sub>50</sub> mediante una regresión lineal con los datos obtenidos, la cual fue de 1.04mg/kg.

Gráfico 3. Prueba de diarrea



En esta prueba se nota una dosis dependiente, es decir, a mayor dosis mejor efecto al inhibir el dolor siendo la de 100 mg/kg la que presenta mejor antinocicepción. Cabe mencionar que es muy distinta esta diarrea provocada por aceite de ricino a la diarrea provocada por infecciones por microorganismos.

### Prueba Antimicrobiana

El CPE careció de efectos antimicrobianos. La concentración mínima inhibitoria fue arriba de 400ug/ml. Se recomienda utilizar otros microorganismos y otras pruebas antimicrobianas distinta a la utilizada en este trabajo.

## CONCLUSIONES

El extracto de Celtis pallida no funciona en roedores como inhibidor del dolor provocado por calor, probado a diferentes dosis.

El extracto de Celtis pallida ejerce efectos antinociceptivos en la fase 2 (dolor de tipo inflamatorio) en el modelo la formalina

El extracto de Celtis pallida inhibe la diarrea en animales provocada por aceite de ricino, observando que según nuestro estudio es dosis

dependiente y que según nuestros cálculos se obtuvo una dosis efectiva 50 (DE50) de 1.04mg/kg.

El extracto de *Celtis pallida* careció de efectos como antimicrobiano o antifúngico ante algunos microorganismos patógenos en humanos.

## AGRADECIMIENTOS

Esta sección es opcional y se refiere al crédito de personas o instituciones que hicieron posible el trabajo de investigación, ya sea por el financiamiento o colaborando con apoyo logístico o en la obtención y análisis de los datos. (Estilo “Cuerpo de Texto, arial 10 pts. justificado ambos lados, Color: gris oscuro”)

## REFERENCIAS

### Artículo:

[1] Woolf CJ (2004). Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Ann intern Med.* 104:441-451.

[2] Wall P. (1995). Inflammatory and neurogenic pain: new molecules, new mechanisms. *Br J Anaesth*; [pp. 75].

[3] Almeida, C.E., Kamikowski, M.G., Foletto, R., Baldisserotto, B. (1995) Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine. *Revista de Saúde Pública* 29: 428-433.

[4] BIBLIOTECA DIGITAL de la Medicina Tradicional Mexicana. Recuperado de: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Boldo&id=7258>

[5] Biblioteca digital de la Medicina Tradicional Mexicana. Recuperado de: [http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/flora2.php?l=4&t=Manzanilla%20cimarr%C3%B3n,%20gordolobo&po=&id=5345&clave\\_region=6](http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/flora2.php?l=4&t=Manzanilla%20cimarr%C3%B3n,%20gordolobo&po=&id=5345&clave_region=6)

[6] Quiroga Cortez R. (2012). Plantas medicinales para el tratamiento de enfermedades del sistema digestivo en la medicina tradicional de San Pablo de Huacareta (Chuquisaca, Bolivia). *Revista de la Sociedad Boliviana de Botánica* 6(1); 69-79, 2012.

[7] Svetaz L., Zuljan F., Derita M., Petenatti E., Tamayo G., Cáceres A., Cechinel Filho V., Giménez A., Pinzón R., Zacchino A. S., Gupta M. (2010) Value of the ethnomedical information for the Discovery of

plants with antifungal properties. A survey among seven Latin American countries. *Journal of Ethnopharmacology.* 127: 137-158.

[8] Gonzales E. M., López E. I. L., González E. M. S., Tena F. J. A. Plantas medicinales del estado de Durango y zonas aledañas. CIIDIR Durango. Instituto Politécnico Nacional. [pp. 68]

[9] Gaillard de Benítez, C.; M. Pece; M. Juárez de Galíndez; A. Gómez y M. Zárate. (2013). Modelización de funciones para estimar biomasa aérea individual de piquillín (*Condalia microphylla* Cav, Ramnacea) y tala chiquito (*Celtis pallida* Torr, Celtidacea) en la provincia de Santiago del Estero, Argentina. *Quebracho* Vol 21 (1,2): 46-57.