

Evaluación antinociceptiva de un extracto etanólico de *Leucaena leucocephala*

Aguilar Lobato Paola Angelina¹, Arriaga Silva Alejandra de Jesús², Ramírez Buzo Obdulia Emily³, Rosales Velázquez Catherine Paulina⁴, Virrueta Alatorre Jaime Mauricio⁵, Aguilar Morales Miriam Abigail⁶, Zapata Morales Juan Ramón⁷, Aragon-Martinez Othoniel Hugo⁸.

^{1,2,3,4}Lic. Químico Farmacéutico Biólogo, Universidad de Guanajuato

⁵Lic. Biología Experimental, Universidad de Guanajuato

⁶Departamento de Enfermería y Obstetricia de la División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato

⁷Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato

pa.aguilarlobato@ugto.mx¹

adj.arriagasilva@ugto.mx²

oe.ramirezbuza@ugto.mx³

cp.rosalesvelazquez@ugto.mx⁴

jm.virruetaalatorre@ugto.mx⁵

miriamaguilarm3@gmail.com⁶

juan.zapata@ugto.mx⁷

Resumen

El dolor es un síntoma frecuente, se origina con un estímulo nocivo y causa una reacción inmediata de alarma, en algunos casos da como resultado un proceso inflamatorio. Para su tratamiento se utilizan antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y opioides, sin embargo, estos compuestos presentan efectos colaterales. Por tal motivo es importante continuar buscando moléculas que pudieran tener efecto analgésico y/o antiinflamatorio igual o mejor que los fármacos que se utilizan actualmente, pero con menores efectos colaterales. Las plantas medicinales, frutos y moléculas extraídos de plantas o frutas presentan propiedades antiinflamatorias y analgésicas. Con este planteamiento, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto antinociceptivo de un extracto etanólico de *Leucaena leucocephala*. Para ello se empleó el test de formalina como modelo de inducción de nocicepción. Se seleccionaron grupos de ratones, que fueron tratados previamente con diferentes dosis del extracto de *Leucaena leucocephala* para obtener la dosis efectiva 50 (DE₅₀) de manera individual. Posteriormente fueron analizados en base al % de antinocicepción. Los resultados muestran una DE₅₀ de 20.58 mg/kg en la fase 2 del metabolismo del extracto de *Leucaena leucocephala*.

Palabras clave: dolor, AINEs, opioides, *Leucaena leucocephala*, efecto antinociceptivo, DE₅₀

Abstract

Pain is a frequent symptom, it originates with a harmful stimulus and causes an immediate alarm reaction, in some cases it results in an inflammatory process. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and opioids are used for their treatment; however, these compounds have side effects. For this reason, it is important to continue looking for molecules that could have an analgesic and / or anti-inflammatory effect equal to or better than the drugs currently used, but with fewer side effects. Medicinal plants, fruits and molecules extracted from plants or fruits have anti-inflammatory and analgesic properties. With this approach, the objective of the present study was to evaluate the antinociceptive effect of an ethanolic extract of *Leucaena leucocephala*, through a statistical and pharmacological analysis. For this, the formalin test was used as a model of nociception induction. Groups of mice were selected, which were previously treated with different doses of *Leucaena leucocephala* extract to obtain the effective dose 50 (DE₅₀) individually. They were then analyzed based on % antinociception. The results show a DE₅₀ of 20.58 mg/kg in phase 2 of the metabolism of *Leucaena leucocephala* extract.

Introducción

El dolor es definido, según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor como una experiencia sensitiva y emocional desagradable, asociada a una lesión tisular real o potencial [1]. El conocimiento de la etiología y la identificación del mecanismo de producción del dolor son necesarios para planificar el tratamiento. El tipo de dolor agudo más frecuente es el nociceptivo. Cuando este es leve o moderado, los AINE solos o asociados a opioides menores son eficaces para aliviar el dolor [2].

Los AINEs son sustancias heterogéneas que se caracterizan por compartir en diversos grados, propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas. Son muy utilizados en diferentes situaciones clínicas, de tal forma que, en dosis únicas y pautas cortas, son analgésicos efectivos en el tratamiento del dolor leve a moderado de origen somático (musculoesquelético), posoperatorio, visceral y óseo metastásico [3].

En la actualidad se sigue investigando nuevas alternativas para el dolor que tengan mejor efecto analgésico y menores efectos adversos a los medicamentos ya conocidos como los AINEs, dentro de la búsqueda se trabaja con plantas, el género *Leucaena*, originario de México, está compuesto por 24 especies de árboles y arbustos, distribuidos desde Texas, Estados Unidos hasta Perú. Muchas de las especies han sido utilizadas como alimentación, para la construcción de viviendas y en el área terapéutica de diversas etnias del territorio mexicano. *Leucaena leucocephala* (Fabaceae) es una de las especies conocidas en México como “guajes”, se usan como recursos alimenticio y medicinal para aliviar enfermedades infecciosas [4].

Se ha reportado que las hojas de *Leucaena leucocephala* contienen flavonoides activos que pueden reducir el dolor. Y las semillas en la medicina tradicional tienen propiedades antihelmínticas, insomnio, hinchazón, inflamación renal y diabetes [5], además, autores han confirmado que las hojas de *Leucaena leucocephala* contienen metabolitos secundarios en forma de alcaloides, saponinas, flavonoides y taninos (Thomas, 1992). Dentro de los compuestos reportados, se ha descrito que los flavonoides actúan como analgésicos cuyo mecanismo de acción es inhibir la acción de la enzima ciclooxigenasa (Suryanto, 2012). Por lo tanto, reducirá la producción de prostaglandinas por el ácido araquidónico, reduciendo así el dolor (Gunawan, 2008) [6].

Recientemente se reportó que el extracto de etanol de las hojas del guaje blanco contiene saponinas, taninos, flavonoides y esteroides/triterpenoides, además se encontró que el extracto etanólico obtenido de los tallos indicó alcaloides, taninos, saponinas y esteroides/triterpenoides. Mientras tanto, el extracto de etanol de las semillas contiene saponinas, taninos y esteroides/triterpenoides [5].

Materiales y métodos

Reactivos

Extracto etanólico de *Leucaena leucocephala* y formalina adquirida de Sigma Aldrich.

Animales

Se utilizaron ratones de la cepa balb-c, de 4 a 6 semanas de edad de un peso de entre 25 a 30 g del bioterio de la Universidad de Guanajuato, los ratones se mantuvieron en un ambiente con temperatura controlada con ciclos de luz / oscuridad de 12 h con acceso a agua y alimento. Los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con lo establecido en la NOM 062-ZOO1999 (Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio) y de acuerdo con las recomendaciones de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (Zimmerman, 1983).

Evaluación de la actividad antinociceptiva

La actividad antinociceptiva fue evaluada utilizando la prueba de la formalina. La respuesta dolorosa a la formalina se debe en parte a la liberación de aminoácidos excitatorios en la médula espinal capaces de sensibilizar a las neuronas nociceptoras del asta dorsal de la sustancia gris medular [7].

La inyección de formalina produce una respuesta dolorosa bifásica, con una primera fase de corta duración (primeros 5 minutos) produciendo una activación de las fibras C, debida a la activación de los nociceptores de la pata, y una segunda fase debida a una respuesta inflamatoria con sensibilización de las neuronas nociceptoras de la médula espinal [8].

Una hora después de la administración oral del extracto, se inyectó formalina al 3% (μ l) en la superficie plantar de la pata izquierda. De inmediato se introdujo al ratón en un cilindro transparente para observar su

comportamiento. El efecto antinociceptivo se determinó midiendo el número de lamidas cada 5 minutos durante las dos fases: 0-15 minutos (fase I) y 15-60 minutos (fase II).

Los ratones fueron divididos en grupos de 4. Previo tratamiento, los animales fueron ambientados en cilindros de acrílico, durante una hora al menos por 3 días previos y el día del experimento. Las dosis fueron administradas (vía oral) a los grupos de animales de acuerdo con el siguiente orden: (I) extracto de *Leucaena Leucocephala* 10 mg/kg; (II) extracto de *Leucaena Leucocephala* 25 mg/Kg; (III) extracto de *Leucaena Leucocephala* 50 mg/Kg; (IV) extracto de *Leucaena Leucocephala* 100 mg/Kg.

Análisis de datos

Empleando regresión lineal se determinó la Dosis Efectiva 50 (DE₅₀). Los datos son presentados como la media ± el error estándar de la media (EEM). Para el análisis estadístico de los datos se realizó un ANOVA y una prueba de Dunnett. Se consideró estadísticamente valores significativos de p<0.05.

El porcentaje de antinocicepción fue calculado de acuerdo a la siguiente fórmula: % Antinocicepción=((Tiempo de lamida de vehículo-Tiempo de lamida de tratamiento)/(Tiempo de lamida de vehículo))*100.

Resultados y discusión

El efecto antinociceptivo de *Leucaena Leucocephala* se evaluó en el modelo de la formalina, en la figura 1 se puede observar el perfil típico del modelo donde comienza con un aumento nociceptivo a partir del minuto 5, para posteriormente disminuir, los resultados muestran una disminución del efecto nociceptivo en las 4 dosis utilizadas del extracto etanólico de *Leucaena Leucocephala*. Posteriormente se calculó el efecto antinociceptivo en la fase 1 y fase 2, en la fase 1 (Figura 2) se puede observar cómo las 4 dosis utilizadas del extracto de *Leucaena Leucocephala* presentaron efecto antinociceptivo, en lo que respecta a la fase de intereses de este modelo que es la fase de dolor inflamatorio y que corresponde con la fase 2 (Figura 3), en esta figura se puede observar cómo las 4 dosis utilizadas del extracto etanólico muestra efecto antinociceptivo, siendo el efecto máximo alcanzado de 82.8 % a la dosis de 100 mg/kg.

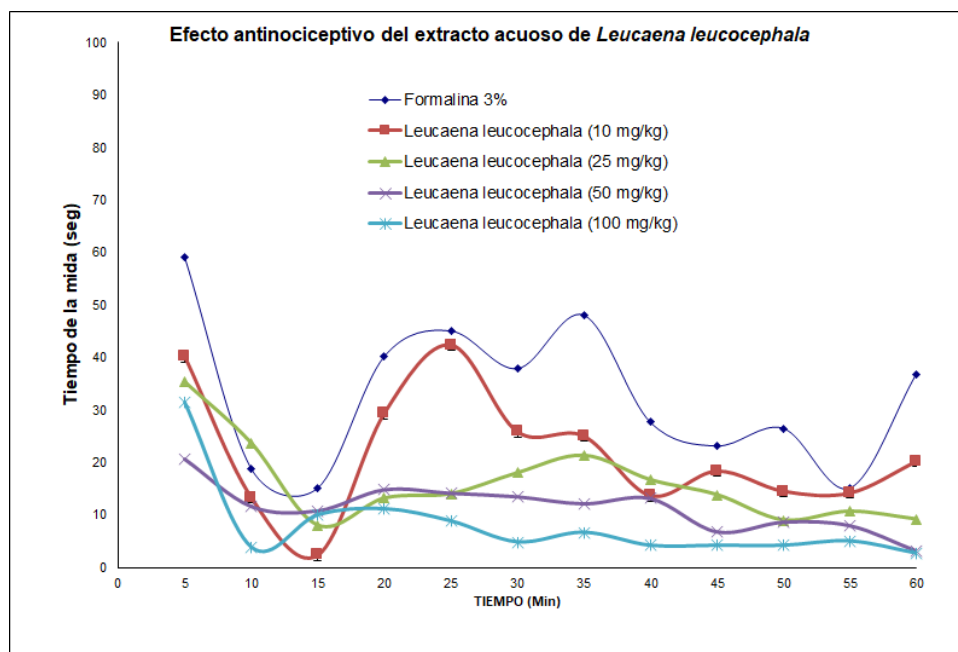


Figura 1. Evaluación antinociceptiva en el modelo de la formalina del extracto etanólico de *Leucaena leucocephala*.

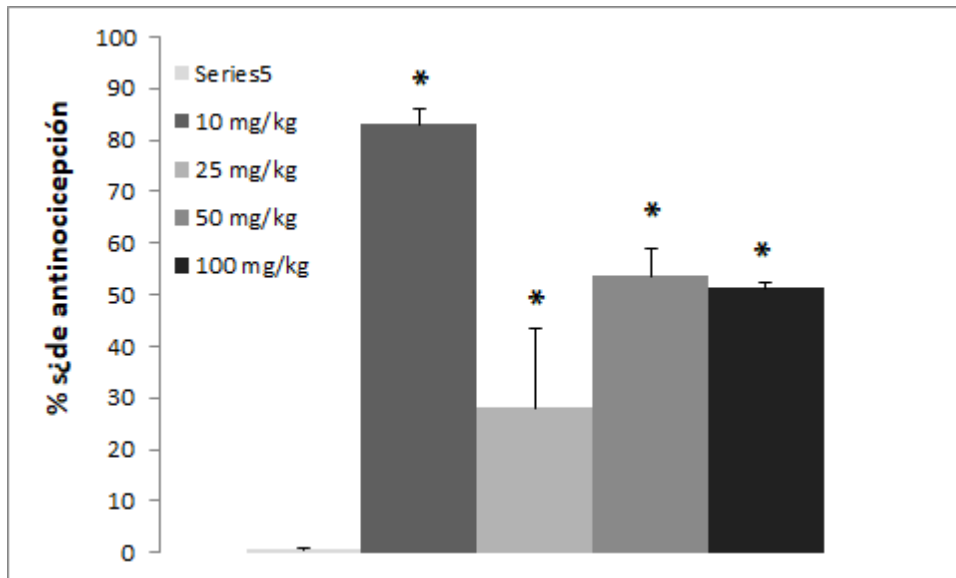


Figura 2. Porcentaje de efecto antinociceptivo en la fase 1 del modelo de formalina del extracto etanólico de *Leucaena leucocephala*. Las barras verticales representan el promedio \pm EEM (* $p < 0.05$ vs vehículo; Prueba de Dunnet).

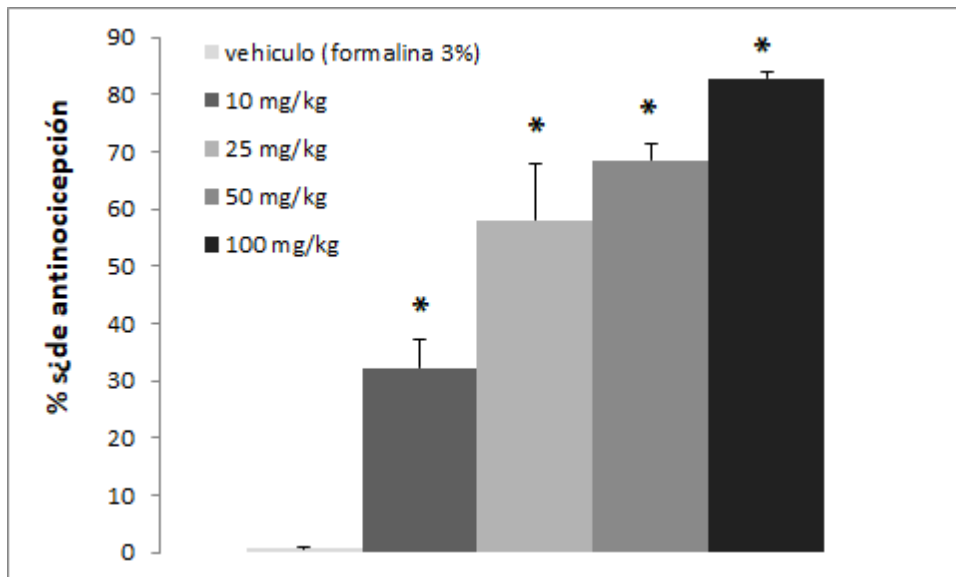


Figura 3. Porcentaje de efecto antinociceptivo en la fase 2 del modelo de formalina del extracto etanólico de *Leucaena leucocephala*. Las barras verticales representan el promedio \pm EEM (* $p < 0.05$ vs vehículo; Prueba de Dunnet).

Una vez que se calculó el efecto antinociceptivo del extracto de *Leucaena leucocephala* en la Fase 1 y Fase 2, se procedió a calcular la dosis efectiva 50 (DE₅₀) en la fase 2, la cual fue de 20.58 mg/kg en el modelo de formalina en ratones (Figura 4).

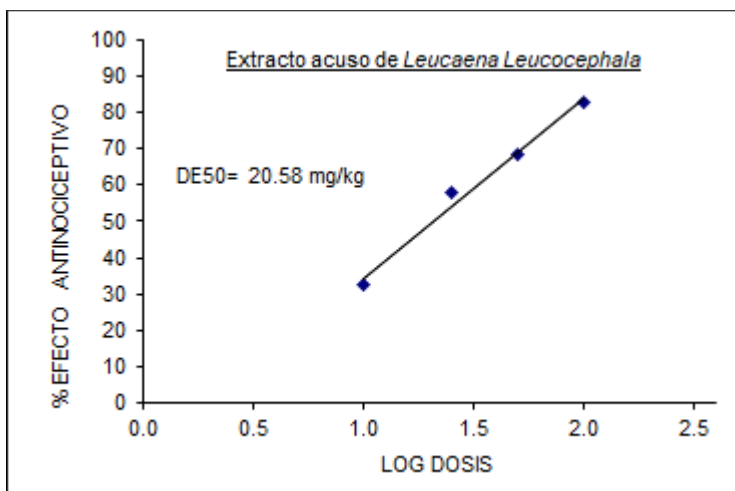


Figura 4. Curva dosis - respuesta del efecto antinociceptivo en la Fase 2 del extracto etanólico de *Leucaena leucocephala* en el modelo de formalina en ratones.

Conclusiones

El extracto etanólico de *Leucaena leucocephala* mostro tener efecto antinociceptivo en las 4 dosis utilizadas en el modelo de la formalina, con una dosis efectiva 50 de 20.58 mg/kg.

Referencias

- [1] Del Arco, J. (2015). Curso básico sobre dolor. Tema 1. Fisiopatología, clasificación y tratamiento farmacológico. *Farmacia profesional*, 29(1), 36-43.
- [2] Blanco-Tarrío, E. (2010). Tratamiento del dolor agudo. *Semergen-medicina de familia*, 36(7), 392-398.
- [3] Aristil, Chéry, Pierre Mitchel. Manual de farmacología básica y clínica (6a. ed.), McGraw-Hill Interamericana, 2013. Capítulo 22. ProQuest Ebook Central, <https://ebookcentral-proquest-com.e-revistas.ugto.mx/lib/ugtomhe/detail.action?docID=3214421>.
- [4] Mora-Villa, A., Serrano-Parrales, R., Lira-Saade, R., Jiménez-Estrada, M., & Hernández-Delgado, T. (2021). Evaluación de la actividad antimicrobiana de semillas de *Leucaena esculenta* y *Leucaena leucocephala* recolectadas en Tlayacapan, Morelos, México. *Polibotánica*, 0(52). <https://doi.org/10.18387/polibotanica.52.12>
- [5] Septina, E., Yetti, R. D., & Rivai, H. (2020). Overview of Traditional Use, Phytochemical, and Pharmacological Activities of Chinese Petai (*Leucaena leucocephala*). *Int. J. Pharm. Sci. Med*, 5(12), 1-10.
- [6] Ishak, M. (2017). Uji EFEK ANALGETIK EKSTRAK ETANOL DAUN LAMTORO (*Leucaena Leucocephala* (LAM) de Wit) PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus*). *PHARMACON*, 6(4).
- [7] Coderre TJ, Melzack R. The contribution of excitatory amino acids to central sensitization and persistent nociception after formalin-induced tissue injury. *J Neurosci*. 1992;12:3665-70.
- [8] Gonzales-Darder JM. Animal pain models and ethical issues regarding animal experimentation. *Rev Soc Esp Dolor* 2000; 7: 313-318.