

Actividad antinociceptiva, antimicrobiana y antitumoral de *Cucumis anguria*

Ahmed M. Salama*¹

Pedro Pablo Solano Camelo*

Resumen

El presente trabajo muestra, mediante el método de contorsiones inducidos por ácido acético en ratones que el extracto etanólico de los frutos maduros de *C. anguria* posee una muy buena actividad antinociceptiva; el efecto más alto fue 85.7% en una dosis de 100 mg/kg, siendo el ideal sin evidencia de efectos secundarios es del 68.4% en una dosis de 60.3 mg/Kg, en comparación con el mismo efecto de 68.4% en una dosis de 200 mg/kg del patrón ácido acético salicílico. El extracto etanólico de la planta no presenta actividad antimicrobiana, antimicótica ni antitumoral frente a los diferentes microorganismos y hongos ensayadas en las concentraciones evaluadas del extracto.

Palabras clave: Cucurbitaceae - *Cucumis anguria* - Actividad antinociceptiva.

Summary

Antinociceptive, antimicrobial and antitumor activity of *Cucumis anguria*

In the present work, it was found by writhing method induce by acetic acid in mice that the ethanolic extract of the matured fruit of *C. anguria* has a high antinociceptive effect of 85.7% in a dose of 100 mg/kg, but the ideal effect without evidence of secondary effects was of 68.4% in a dose of 60.3 mg/kg in comparisom with the same effect of 68.4% for a dose of 200mg/kg of the standard acetylsalicylic acid. The extract did not show antimicrobial, antimicotic neither antitumor activities in the

Recibido para evaluación: Agosto de 2001
Aprobado para publicación: Noviembre de 2001

* Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia, A.A. 14490, Bogotá, D. C., Colombia.

1 E-mail: ahmedsa@ciencias.ciencias.unal.edu.co

presence of the employed representative microorganisms and fungi in the evaluated concentrations of the extract.

Key words: Cucurbitaceae - *Cucumis anguria* - Antinociceptive activity.

Introducción

Los estudios realizados han demostrado que varias especies del Género *Cucumis* presentan actividad antimicrobiana (1), antiinflamatoria (2-4), antitumoral (5) y antihelmíntica (6). Además los estudios químicos demostraron la presencia de esteroides (3,7), triterpenos tetracíclicos y pentacíclicos (2-5), flavonoides (3,9) aminoácidos y proteínas (10), ácidos grasos (11), compuestos fenólicos (12), vitaminas y minerales (13-16). Por lo anterior se consideró importante evaluar la actividad antimicrobiana, antitumoral y antinociceptiva del extracto etanólico de los frutos de *C. anguria*.

Parte experimental

Material Vegetal

El material se recolectó en la finca "Mi Bohío", carretera que conduce al municipio de Arbeláez, Departamento de Cundinamarca, Colombia, a 700 metros sobre el nivel del mar. La planta fue clasificada por el doctor Thomas W. Whitaker; un ejemplar esta archivado en el Herbario Nacional Colombiano bajo el número COL 264847.

Estudio biofarmacológico

Extracción del material vegetal

300g de los frutos maduros de *C. anguria* se extrajeron con etanol al 96% mediante maceraciones sucesivas por 24 horas hasta agotamiento, el extracto se filtró al vacío y se concentró en rotavapor a una temperatura de 40°C obteniéndose

64.2g de un residuo semisólido de color caramelo y olor característico.

Preparación del extracto para los ensayos biológicos

Para la evaluación de las actividades antimicrobiana, antimicótica y antitumoral el extracto se solubilizó en DMSO y agua con el objeto de obtener buena difusión en el medio de cultivo; entre tanto para la determinación de la actividad antinociceptiva se empleó Tween 80 al 0.1% en agua como solvente con el propósito de facilitar la absorción gástrica del extracto en los ratones.

Evaluación de la actividad antimicrobiana y antimicótica

Para la determinación de estas actividades se empleó el método de difusión en gel, técnica de perforación, en donde se emplearon los siguientes microorganismos Gram(+), Gram(-), hongos y levadura: *Staphylococcus aureus* ATCC 25973 (American type culture collection), *Staphylococcus epidermidis* FUN (Farmacia Cepario Universidad Nacional), *Streptococcus agalactiae* FUN, *Escherichia coli* ATCC 922, *Salmonella sp.* FUN, *Shigella sonnei* FUN, *Aspergillus niger* FUN, *Penicillium sp.* FUN y *Candida albicans* FUN.

Como medio de cultivo se empleó agar Müeller Hinton para las bacterias y agar Sabouraud para los hongos.

Se emplearon patrones de penicilina G benzatínica para los microorganismos Gram(+) en una concentración de 10µg/mL, estreptomycin sulfato para los microorganismos Gram(-) en

dosis de $4\mu\text{g/mL}$ y ketoconazol sulfato para los hongos en concentración de $10\mu\text{g/mL}$.

El extracto de los frutos de *C. anguria* se evaluó por duplicado en concentraciones de 200.0, 100.0, 50.0, 25.0, 12.5, 6.2, 3.1 y $1.6\mu\text{g/mL}$ empleando una suspensión del inóculo al 1%, midiendo los halos de inhibición producidos por las sustancias y descontando el diámetro correspondiente a la perforación, con el fin de calcular la concentración mínima inhibitoria (CMI), la cual se obtiene después de graficar el logaritmo natural de la concentración en función de un valor X^2 , donde: $X^2 = (\text{diámetro del halo en cm} - \text{diámetro de la perforación en cm})^2$. La recta se ajustó por mínimos cuadrados, obteniéndose la CMI (17) a partir de la intersección con la abscisa.

Evaluación de la actividad antitumoral

Para determinar esta actividad se evaluó previamente la capacidad antimicrobiana del extracto de *C. anguria* frente al microorganismo Gram (-) *Agrobacterium tumefaciens* cepa B-6 FUN, lo cual es un inductor de tumores, con el objetivo de establecer la viabilidad del ensayo ya que si se presenta la actividad antimicrobiana entonces daría una falsa actividad antitumoral. Empleando la técnica del disco de zanahoria (18), el extracto se evaluó en las concentraciones de 1000.0, 500.0, 250.0, 125.0, 62.5, 31.2, 15.6, 7.8 y $3.9\mu\text{g/mL}$, las cuales además contienen el inóculo al 1% de 48 horas de crecimiento. Las lecturas de formación de tumores se efectuaron a las 10, 25 y 30 días y se compararon con los resultados del control.

Evaluación de la actividad antinociceptiva

Previamente al desarrollo de la actividad antinociceptiva fue necesario evaluar el mayor número de actividades biológicas mediante la

prueba de Irwin, en el cual se emplearon 8 ratones hembra cepa OF1 de peso entre 25-30g, los cuales recibieron el vehículo y el extracto en las dosis de 1000, 100 y 10 mg/Kg por las vías de administración oral e intraperitoneal con el objeto de determinar las dosis a emplear en la evaluación de la actividad antinociceptiva. Los animales se dejaron en ayuno por un periodo de 15 horas y luego recibieron el vehículo y las diferentes dosis del extracto por vía oral e intraperitoneal en una relación de 0.2 mL/10g y de 0.1 mL/10g de peso del animal para las mismas dosis respectivamente.

Los animales se observaron teniendo en cuenta parámetros sobre el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso autónomo (SNA) a los 5, 10, 30, 60 minutos y 24 horas.

La actividad antinociceptiva se determinó mediante el método de contorsiones inducidas con ácido acético al 1% por vía intraperitoneal. Se emplearon 7 grupos de 10 ratones cada uno, los cuales recibieron el control (vehículo), el blanco (agua), el patrón (ácido acético salicílico (ASA), en 200mg/Kg y el extracto de *C. anguria* en las dosis de 12.5, 25, 50 y 100 mg/Kg, por vía oral. 30 minutos después se administró 0.25 mL del ácido acético 1% y se contabilizó el número de contorsiones presentes en cada uno de los animales durante 20 minutos, a los cuales se les determinó el porcentaje de inhibición de contorsiones dado por la expresión (17,19).

$\% \text{ de inhibición del dolor} = \frac{X \text{ control} - X \text{ problema} \times 100}{X \text{ control}}$

donde: X control = Promedio de contorsiones del control, X problema = Promedio de contorsiones del problema

Los datos de la actividad antinociceptiva fueron analizados empleando el análisis de variancia (ANOVA) y se consideraron significativos estadísticamente cuando existen respuestas diferentes relacionadas directamente con la dosis.

Resultados y discusión

Actividad antimicrobiana y antimicótica

El extracto etanólico de los frutos maduros de *C. anguria* en sus diferentes concentraciones comparadas con patrones antimicrobianos y antimicótica específicos para bacteria Gram (+) y Gram (-) y hongos, dieron como resultado que el extracto no presenta actividad, puesto que no se evidenció la presencia de halo de inhibición o disminución del crecimiento en sus tiempos de incubación respectivamente. Para confrontar los resultados se tuvo en cuenta la actividad de los patrones en sus dosis efectivas, las cuales dieron los correspondiente halos de inhibición lo cual demuestra que la concentración de microorganismos, cantidad de medio de cultivo, consistencia del gel y el grado de difusión son los apropiados y no interfieren de forma adversa la acción del extracto evaluado. Esta muestra que el crecimiento es constante y consistente y por lo tanto no afectaron la sensibilidad, reproducibilidad y confiabilidad de los resultados.

Actividad antitumoral

El extracto alcohólico de los frutos maduros de *C. anguria* no presentó actividad antimicrobiana ni antitumoral en las condiciones de este ensayo puesto que no inhibe el crecimiento de *A. tumefasciens* (inductor de tumores), ni afectó la formación de los tumores en discos de zanahoria tanto en las diferentes concentraciones empleadas como en los tiempos de observación de las mismas. Lo anterior fue comprobado mediante la comparación de los tumores frente a un control positivo de crecimiento consistente en la inoculación del agente inductor de los tumores (*A. tumefasciens*) únicamente en el disco y verificando la

igualdad de crecimiento con respecto al extracto evaluado confirmando que no hay actividad.

Actividad antinociceptiva

Los resultados de la prueba de Irwin revelaron una acción depresora sobre el SNC, actividad sobre el SNA al igual que un efecto antinociceptivo alto para el extracto etanólico de los frutos de *C. anguria*, además se observó que la vía oral de administración del extracto es la más apropiada ya que se presentan los mismos efectos producidos por la vía intraperitoneal pero de una manera menos marcada, menos prolongada y menos dramática. El extracto redujo el número de las contorsiones en los animales significativamente, lo cual se manifiesta en el porcentaje de inhibición del dolor de 37.8, 47.2, 64.1 y 85.7% en las dosis evaluadas de 12.5, 25.0, 50.0 y 100 mg/Kg respectivamente, en comparación con el patrón ácido acetil salicílico (20,21), que dio un porcentaje de inhibición del dolor de 68.4% en la dosis de 200 mg/Kg, lo cual muestra un efecto antinociceptivo alto para el extracto. La mejor actividad antinociceptiva del extracto se mostró en las dosis entre 10 y 100 mg/Kg, sin presentar efectos adversos como ocurre en las dosis superiores.

Comparando los valores tanto para el patrón ácido acetil salicílico como para el extracto de los frutos de *C. anguria* se evidenció que éste último es 3.3 veces más potente que el patrón, indicando que presenta una mayor afinidad por los receptores y por lo tanto actúa con una menor concentración.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia

por las instalaciones del Laboratorio de Fitoquímica, del Laboratorio de Microbiología, del Bioterio y los animales de la experimentación.

Bibliografía

1. J. Klosa, Mechanism of effectiveness of vegetables press juices of fruits, *Seifen-Ole-Fette-Wachse*, **79**, 629-30, (1953). *Via C. A.*, **48**, 6079g, (1954).
2. A. M. Salama, L. Duque, F. Díaz, Actividad antiinflamatoria, dosis letal ₅₀ y estudio fitoquímico preliminar de *Cucumis anguria*, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **22**, 42 (1995).
3. A. M. Salama, A. Polo, M. Martín, A. Martínez, Análisis fitoquímico preliminar y determinación de la actividad antiinflamatoria de *Melothria guadalupensis*, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **15**, 59 (1986).
4. A. M. Salama, A. Polo, R. Contreras, L. Maldonado, Análisis fitoquímico preliminar y determinación de la actividad antiinflamatoria y cardiaca de los frutos de *Sechium edule*, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **15**, 79 (1986).
5. A. UR-Rahman, V.U. Ahmed, M. A. Khan, F. Zehra, Antitumor activity of cucurbitacins. Isolation and structure of cucurbitacin Q1, *Phytochemistry*, **12**, 2741 (1973).
6. T. V. Zinchenko, M. Z. Mindlin, N. N. Prokopovich, Antihelmintic properties of melon seeds, *J. Farmakol. Toksikol.*, **18** (5), 41, (1955). *Via C.A.*, **50**, 10281f, (1956).
7. N. E. Mashchenko, Steroids from the seeds of *Cucumis sativus*, *Tezisy Dokl. Soobshch-konf. Malodykh. Mold.*, **9**, 102 (1975).
8. A. Linnard, R. R. Paris, The flavonoids from the leaves of two Cucurbitaceae: *Cucurbita maxima* Dach. And *Cucumis sativus* L., *Planta Med. Phytother.*, **11**(4), 270 (1977).
9. M. D. Sayed, S. I. Balbaa, M. S. Afifi, *Planta Medica*, **24**, 260 (1973).
10. S. Chelliah, C. N. Sambondam, Distribution of aminoacids in *Cucumis callosus* and *Cucumis melo*, in relation to their resistance and susceptibilty to *Deacus cucurbitae*, *Labder, part B*, **11B**(3-4), 41 (1973). *Vía CA*, **84**, 28156p, (1976).
11. I. S. Bathia, B. K. Gupta, Y. Paul, P. S. Sukhija, Lipid composition of some cucurbit seeds, *Plant Biochem.J.*, **4** (2), 47 (1977). *Vía CA*, **88**, 133295p, (1978).
12. M. M. Rao, D. Layie, *Tetrahedron*, **30**, 3309 (1974).
13. A. Fujita, T. Ebihara, The distribution of vitamin C in animal and animal tissues, *Biochem. Z.*, **290**, 201 (1976).
14. J. Lucena, Research of some factors of the B complex in the fruits of the brazilian "Maxixe" - *Cucumis anguria*, *J. Neurobiol.*, **2**, 89 (1942). *Vía B.A.* **17**, 18505, 1943.
15. A. I. Shtenberg, Natural arsenic content of some vegetables and fruits, *Vaprosy pitaniya*, **10** (5-6), 29 (1941). *Vía C.A.*, **40**, 410, (1946).
16. E. Pechnik, I. R. Guimaraes, The zinc content in brazilian foods, *Ara. Brasil Natr.*, **21**(1), 17 (1965). *Vía C.A.*, **67**, 81256w, (1967).
17. Manual de técnicas de investigación, Programa iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo Cyted. 1995, p. 81-101.
18. A. M. Salama, C. Fonseca, L. Rengifo, Actividad antitumoral y toxicidad de (+) - curcufenol y curcudiol aislados de la esponja marina *Didescus oxeata*, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **29**, 50, (2000).
19. S. Barnad, R. C. Starr, P.M.O Neill, B. K. Park, The effect of flourine substitution on

- the physicochemical properties and the analgesic activity of paracetamol, *J. Pharmacy and pharmacol.*, **45**(8), 736 (1993)
20. J. Nodine, P. Siegler, Animal and clinical pharmacologic techniques in drug evaluation, *Year book medical publishers Inc., USA*, 1964, p.292-396, 492-501.
21. M. P. Del Valle Díaz, E. A. Vargas Fernández, Determinación de la actividad analgésica y antiinflamatoria del (+) curcufenol y la variabilina aisladas de esponjas marinas, Tesis de Grado, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1997.