

Efecto analgésico de Romero (*Rosmarinus officinalis*) en el modelo de formalina al 5%

Elda Araceli García Mayorga
Maureen Patricia Castro Lugo,
Lourdes Lizbeth Rocha Aguirre,
Rosalinda Gutiérrez Hernández,
Claudia Araceli Reyes Estrada,
Christian Jesús Jiménez Martínez

Unidad Académica de Enfermería/
Unidad Académica de Medicina
Humana de la UAZ

Correo electrónico:
emayorga3@hotmail.com

Palabras clave: *Rosmarinus offi-*
cialis, dolor, inflamación.

Keywords: *Rosmarinus offi-*
cialis, dolor, inflamación.

Resumen

El uso de plantas medicinales para enfermedades es una alternativa terapéutica, la mayoría de los productos de origen vegetal son de utilidad medicinal. *Rosmarinus officinalis*, comúnmente conocida como "Romero", es de amplio cultivo en México. Algunos de sus usos en la medicina tradicional son para tratar el dolor, la dismenorrea, dolor reumático y es antiespasmódico se administra en infusión oral o tópica. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto analgésico del extracto acuoso utilizando el modelo de dolor inflamatorio de formalina al 5%, se realizó la extracción del extracto acuoso a diferentes concentraciones administrado "ad libitum" a diferentes concentraciones al 10 mg; 20 mg; 35 mg, 70 mg y 100 mg, en grupos de rata macho Wistar independientes. Los resultados fueron analizados estadísticamente. Se concluye que *Rosmarinus officinalis* tiene un marcado efecto analgésico.

Summary

The use of medicinal plants for diseases is a therapeutic alternative, most products of plant origin are of medicinal value. *Rosmarinus officinalis*, commonly known as "Romero", is widely grown in Mexico. Some of its uses in traditional medicine are to treat pain, dysmenorrhea, rheumatic pain and is antispasmodic administered in oral or topical infusion. The aim of the present study was to evaluate the analgesic effect of the aqueous extract using the 5% formalin inflammatory pain model, extracting the aqueous extract at different concentrations administered "ad libitum" at different concentrations at 10 mg; 20 mg; 35 mg, 70 mg and 100 mg, in independent male Wistar rat groups. The results were analyzed statistically. It is concluded that *Rosmarinus officinalis* has a marked analgesic effect.

Introducción

El dolor es una experiencia sensorial y emocional no placentera relacionada con daño potencial o real del tejido, o descrita en términos de tal daño (Millan, 1999), y es uno de los motivos más frecuentes de consulta en la práctica médica hospitalaria y en la consulta externa. Éste es un mecanismo protector del cuerpo (Dray, 1997), ya que permite identificar diferentes trastornos y se presenta siempre que un tejido está dañado, obligando al individuo a reaccionar en forma refleja para suprimir el estímulo doloroso (Guyton, 1977).

El dolor es causado por la estimulación de las terminaciones nerviosas libres y estos impulsos se transmiten a lo largo de los axones hacia el asta dorsal de la médula espinal. Existen tres tipos de estímulos nocivos, con intensidad y características temporales específicas: los térmicos (frío o calor), los mecánicos (presión) y los químicos, que incluyen a las sustancias endógenas liberadas durante la inflamación y a compuestos químicos irritantes exógenos (Millan, 1999). En respuesta a un daño tisular se produce un proceso inflamatorio que involucra una serie de eventos complejos que producen eritema, edema, hipersensibilidad, disfunción y dolor (Weissmann, 1992).

La inflamación es un proceso tisular constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares de finalidad defensiva frente a agresiones físicas, químicas o biológicas. Los aspectos básicos que se destacan en el proceso inflamatorio son en primer lugar, la focalización de la respuesta que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor.

La respuesta inflamatoria es inmediata, de urgencia y por tanto, preponderantemente

inespecífica, aunque puede favorecer el desarrollo posterior de una respuesta específica. El foco inflamatorio atrae a las células inmunes de los tejidos cercanos. Las alteraciones vasculares van a permitir, además, la llegada desde la sangre de moléculas inmunes (Gallin, JI. 1989; Roitt, IM et al; 1992).

Los mecanismos bioquímicos que subyacen la inflamación y también al dolor se inician en la membrana con activación de adenilato-ciclasa y de fosfolipasa A2. La adenilato-ciclasa determina un incremento inicial de la concentración intracitoplasmática de cAMP, mientras que la fosfolipasa ataca a los lípidos de membrana produciendo ácido araquidónico (Martínez Beltrán, M. 1992). El ácido araquidónico formado puede seguir dos vías metabólicas, la de la enzima ciclo-oxigenasa que determina la producción de prostaglandinas (PG) y tromboxanos y la de la lipooxigenasa que conduce a la formación de leucotrienos (Martínez Beltrán, M., 1992). Todas estas sustancias de carácter lipídico, sintetizadas de novo por el mastocito, son un segundo grupo importante de mediadores de la inflamación (Roitt, IM et al; 1992).

Rosmarinus officinalis

El *Rosmarinus officinalis*, es una planta muy aromática que pertenece a la división: *Embriophyta*, clase: *Dicotyledoneae*, orden: *Tubifloreae*, familia: *Labiatae* (Koschier EH y Sedy, KA, 2003), género: *Rosmarinus* y especie: *officinalis* (Brouk, 1975). En nuestro país la conocemos comúnmente como Romero.

El Romero es un arbusto perenne con hojas de unos 3.5 cm de longitud y 2-4 mm de anchura, rígidas, opuestas, sésiles, con los bordes doblados de color verde oscuro por el haz y plateado por el envés y de aspecto lanoso. El Romero es nativo del

Mediterráneo pero puede crecer en cualquier lugar, especialmente en regiones con poca cantidad de agua, soleadas y con terrenos bien drenados.

El Romero es conocido también como rosmano y algunos autores lo denominan "*el Ginseng de España*". Se utilizan las hojas, sobre todo, y a veces las flores.

Del Romero han sido aislados numerosos compuestos, tales como carnosol, rosmanol, isorosmanol, epirosmanol, rosmariquinona, ácido Carnósico, ácido ursólico y miltirona; aceite volátil esencial compuesto por monoterpenos tales como el 1,8-cineol (eucaliptol), borneol, pineno, canfeno, alcanfor, limoneno inalol, isobutilacetato, 3-octanona, terpineol, verbenol, etc. El contenido en aceites esenciales varía entre 1 a 2.5% y las proporciones en que dichos compuestos se encuentran son variables, dependiendo de factores tanto climáticos como de naturaleza edáfica (Boutekedjiret, 2003).

El Romero ha sido empleado como un remedio en muchas partes del mundo por sus propiedades nutritivas y medicinales; y aunque su empleo con fines terapéuticos, su utilización se basa en el conocimiento de la planta. En los últimos años se ha estudiado el efecto en la salud de los posibles compuestos bioactivos presentes en las plantas y es posible asegurar que existe más información sobre sus propiedades funcionales, medicinales y/o toxicológicas (Shahidi et al. 1992). Sus ingredientes activos son flavonoides, ácidos fenólicos y principios amargos, genera una acción tónica y estimulante sobre el sistema nervioso, circulatorio y corazón, además de ser colerético, colagogo, antiespasmódico, diurético, emenagogo y antigodanotrópico (Musa & Chalchat 2008).

La utilidad del Romero en experimentos antibacterianos, como antioxidantes, y antiflogísticos se utiliza aceite esencial que ha mostrado efectos mejoradores en la circulación de las extremidades, anti-reumáticos y alivio de dolores neurálgicos (Waggas & Balawi 2008). Se ha estudiado el efecto de la administración de extracto etanólico de Romero vía oral, sobre el dolor de tipo artritis en ratas. El efecto producido por el extracto se comparó con el de tramadol vía intraperitoneal. Los resultados mostraron que el extracto produjo una disminución de la respuesta dolorosa en un 60%, se redujo a 40 y 20% en el transcurso de 1.5 y 2.5 h. El tramadol, la respuesta dolorosa se redujo en un 80% y disminuyó a 60 y 15% al paso de 2 y 3 h. (González-Trujano et al. 2006).

Justificación

Los aspectos básicos que se destacan en el proceso inflamatorio son la focalización de la respuesta, que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor, la respuesta inflamatoria es inmediata, de urgencia y por tanto, preponderantemente inespecífica, aunque puede favorecer el desarrollo posterior de una respuesta específica. El foco inflamatorio y el estímulo doloroso atraen a las células inmunes de los tejidos cercanos, por lo que lo anterior y las alteraciones vasculares permitirán la llegada desde la sangre de moléculas inmunes, aunado a los mediadores de dolor.

Por tal motivo, en este trabajo se plantea conocer el patrón de respuesta del proceso doloroso e inflamatorio inducido por el modelo de la formalina al 5%, en un modelo de daño experimental en rata inducido por formaldehído al 5 % como estímulo doloroso e inflamatorio.

Después de conocer el patrón, es importante establecer la respuesta terapéutica utilizando una emulsión a diferentes concentraciones de un extracto acuoso de extracto total o a diferentes concentraciones de *Rosmarinus officinalis* y evaluar si la emulsión modula el proceso inflamatorio para obtener con ello la concentración ideal de dicha emulsión, propiciando una mejoría en el proceso inflamatorio y doloroso.

Objetivo general: Evaluar la eficacia de *Rosmarinus officinalis* como analgésico en rata en el modelo de la formalina al 5%.

Objetivos específicos

- Obtener y administrar el extracto acuoso total de Romero y preparar las emulsiones a concentraciones de 10 mg; 20 mg; 35 mg, 70 mg y 100 mg.
- Evaluar en rata Wistar macho el modelo de la formalina al 5% para inducir un proceso de dolor.
- Evaluar la emulsión del extracto acuoso de Romero como analgésico a diferentes concentraciones.

Material y métodos

Preparación del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis*

Inicialmente se realizará la obtención de extracto acuoso del Romero se hicieron emulsiones a diferentes concentraciones. La planta fue adquirida en un mercado local de la ciudad de México, D.F. identificado y clasificado como *Rosmarinus officinalis*. Las hojas se secaron en estufa convencional a temperatura de $37 \pm 0,2^\circ\text{C}$ durante 48 h. obtener las hojas se secarán a la sombra, a temperatura ambiente, y el extracto acuoso de hojas de Romero se

obtuvo sometiendo material vegetal seco a un proceso de extracción con etanol al 95% durante 48 hr. Posteriormente fue concentrado en un rotavapor (Büchi R-124) y por último se liofilizó y almacenó a $4 \pm 0,2^\circ\text{C}$. El aceite esencial de Romero se extrajo de las hojas deshidratadas, por destilación de arrastre con vapor de agua. El aceite obtenido se almacenó en refrigeración a una temperatura de $4 \pm 0,2^\circ\text{C}$ hasta el momento de su uso. Para preparar los extractos acuosos, se tomaron 50 g de hojas verdes de las diferentes plantas adultas, se cortaron en trozos de 0,5 cm y se depositaron en un vaso de precipitado, luego se mezclaron con 200 ml de agua destilada y se dejaron remojar por 24 h. Al transcurrir el lapso, se trituraron en una licuadora durante 30 segundos, la solución se filtró dos veces a través de papel de filtro N° 1. La solución obtenida fue considerada como estándar (100%); partiendo de esta solución y agregando agua destilada en cantidades adecuadas, se prepararon las siguientes concentraciones de 10 mg; 20 mg; 35 mg, 70 mg y 100 mg. Adicionalmente se incluyó un testigo con solución fisiológica al 0.9 % (0%). El extracto puro obtenido fue envasado en un frasco ámbar y colocado en un refrigerador (4°C) para su posterior uso.

La metodología se establecerá sobre la base del estudio del efecto antiinflamatorio, del extracto acuoso de Romero, en un modelo de la formalina inducida con formaldehído al 5%, en donde se evaluará el patrón analgésico en la pata de la rata y se evaluará tanto la fase rápida aguda de dolor y la fase de dolor inflamatoria, para comprender el comportamiento de una planta con propiedades analgésicas y antiinflamatorias.

Se realizará el estudio, de manera comparativa con emulsiones de diferente concentración para evaluar la mejor concentración de extracto a utilizar.

Al investigar esto comparativamente, el resultado nos permitirá elegir, en su caso, el tratamiento con mayor ventaja analgésica antiinflamatoria.

Administración de la emulsión del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* por vía oral

A grupos de rata macho Wistar de 6 semanas de edad con un peso aproximado de 400 g, en grupos de 6 ± 2 animales, cada grupo en una caja independiente, contenido en el Bioterio del Área de Ciencias de la Salud, a temperatura ambiente, con ciclos de luz oscuridad de 12 h por 12 h.

Número	Grupo	Rata macho Wistar	Dosis de extracto acuoso de <i>Rosmarinus Officinalis</i>	Administración oral
•	Control	6± 2 animales	Solución salina al 0.9%	Ad libitum
•	Grupo 2	6± 2 animales	10 mg	Ad libitum
•	Grupo 3	6± 2 animales	20 mg	Ad libitum
•	Grupo 4	6± 2 animales	35 mg	Ad libitum
•	Grupo 5	6± 2 animales	70 mg	Ad libitum
•	Grupo 6	6± 2 animales	100 mg	Ad libitum

Tabla 1. Esquema de administración del *Rosmarinus officinales* en el presente estudio

Modelo de la formalina al 5%

El modelo de la formalina es un modelo de dolor inflamatorio. La rata se coloca en una cámara de observación transparente de acrílico (Plexiglas) de 20 cm de diámetro y 30 cm de altura, durante 30 min para permitirle adaptarse al nuevo ambiente.

Una vez transcurrido este tiempo se

administran 50 μ L de formaldehído al 5% vía subcutánea en la región dorsal de la pata posterior derecha, utilizándose una jeringa de 1 mL. Con aguja calibre 30G. Posteriormente la rata se coloca nuevamente en el interior de la cámara de observación. En la parte trasera del cilindro se colocaron dos espejos de 30 X 30 cm formando un ángulo de 90° entre ellos para facilitar la observación de la pata inyectada. Inmediatamente después de la inyección del formaldehído, la rata mostrará una conducta nociceptiva manifestada como sacudidas de la pata. El número de sacudidas se registra por periodos de 5 minutos durante una hora. La formalina induce una respuesta bifásica, una Fase I aguda (del min 0 al min 10) o neurogénica seguida de un periodo corto de quiescencia (del min 10 al min 15), el cual es seguido de una respuesta inflamatoria tónica prolongada (del min 15 al min 60) o Fase II. La nocicepción se evalúa como el número de sacudidas y como el área bajo la curva (ABC) del curso temporal en cada fase. En este modelo la disminución en el número de sacudidas y en el valor de ABC se interpreta como efecto analgésico (Tjolsen et al., 1992). La aplicación de las diferentes concentraciones de Romero en grupos independientes.

Análisis estadístico

Los resultados serán evaluados estadísticamente por análisis de varianza de una vía. Utilizando pruebas de Tukey-Kramer de comparaciones múltiples y el test de Dunnett para determinar las diferencias entre las medias. Un valor de $p < 0.05$ se considerará estadísticamente significativo. Todos los datos se expresarán como media \pm ESM.

Resultados

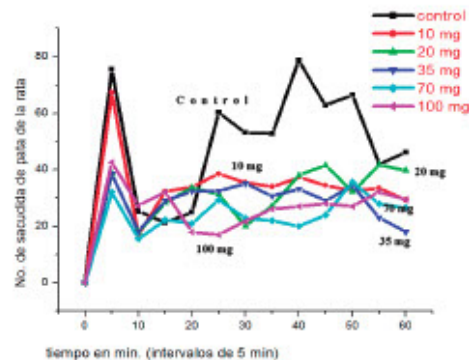
La evaluación de dolor se realizó, al llevar a cabo el método arriba descrito de la prueba de formalina al 5%, y se evalúa por 60 min al contar el número de sacudidas de pata de la rata en cada rata, de cada grupo, previa administración del formaldehído al 5% por vía intraplantar.

Evaluación en el modelo de la formalina

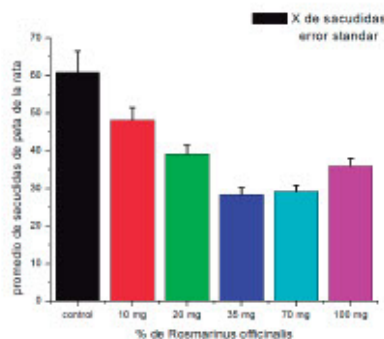
En la gráfica 1 nos muestra el comportamiento bifásico característico del modelo de la Formalina al 5 %, en el eje de la X muestra el tiempo transcurrido de 0 a 60 min con intervalos de 5 min. Tiempo de evaluación, y en el eje de la Y, la conducta dolorosa o nociceptiva evaluada como número de sacudidas de pata de la rata, esto es, cada vez que la rata sacude la pata está mostrando dolor, cada línea representa la media estadística del número de sacudidas de pata de la rata de cada grupo al que se le administró el Romero como analgésico a diferentes concentraciones.

La evaluación con el propósito de identificar la respuesta dolorosa en relación a la concentración del extracto acuoso, se realizó en grupos independientes de rata macho de 6 ± 2 animales. Se evaluó el efecto analgésico del Romero en cada rata macho por 60 min con intervalos de 5 min. Cinco grupos independientes que recibieron Romero a dosis desde 10 hasta 100 mg/kg con incrementos de (10, 20, 35, 70 y 100 mg/kg). El grupo control recibió solución salina al 0.9%. Se observó que el grupo al que se le administró solución salina (grupo control) tiene una respuesta característica bifásica fig. 1 línea negra, con número de sacudidas de pata de la rata muy alto (promedio de número de sacudidas de pata de la rata en 60 min, 50.8 ± 2) comparado con la dosis de 100 mg donde el número de sacudidas de pata de la rata

son menor (27.39 ± 2), línea color negra, con la dosis de 10 mg el promedio de sacudidas de para de la rata fue de 35.51 ± 2 , línea color rojo, para la dosis de 20 mg el promedio de sacudidas de pata de la rata en 60 min fue de 32.57 ± 2 , línea verde, para la dosis de 35 mg el promedio de sacudidas de pata de la rata en 60 min fue de 29.57 ± 2 , línea color azul rey, para la dosis de 70 mg, el promedio de sacudidas de pata de la rata en 60 min fue de 24.96 ± 2 , línea azul cielo. Con la dosis más alta se observó un marcado efecto analgésico, pero en todas las dosis se identifica efecto analgésico bueno y se puede observar en la fig. 1 representado con barras se observa que conforme aumenta la dosis del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* disminuye el número de sacudidas de pata de la rata, por lo que se corrobora el efecto analgésico de la planta en el modelo de la formalina al 5%.

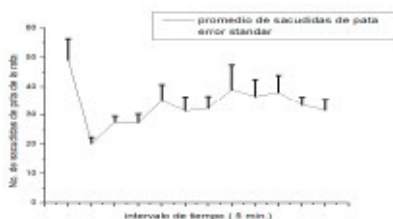


Gráfica 1. Tiempo en eje de las X de 0 a 60 min. Evaluación cada 5 min, efecto nociceptivo y analgésico en el eje de la Y. Número de sacudidas de pata de la rata, se observa la línea azul del grupo de solución salina (Control), media estadística de sacudidas de pata de la rata, con un número de sacudidas muy alto (50.8 ± 2), línea roja dosis de Romero al 10 mg, línea verde dosis de Romero al 20 mg, línea azul rey Romero al 35 mg., línea azul cielo dosis de 70 mg de Romero y línea fucsia dosis de 100 mg de Romero. La dosis de 100 mg el número de sacudidas de pata de la rata son menor (27.39 ± 2), línea fucsia.



Gráfica 2. se observa el promedio de sacudidas de pata de la rata en las diferentes concentraciones administradas de Romero. Se observa que conforme aumenta la dosis del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* disminuye el número de sacudidas de pata de la rata, por lo que se corrobora el efecto analgésico de la planta en el modelo de la formalina al 5%.

En la gráfica 2, Se observó en la barra del grupo de rata control, un número alto de sacudidas de pata de la rata, barra de 10 mg (barra negra), una disminución del número de sacudidas de la pata de la rata en las siguientes barras de las diferentes concentraciones (roja 10 mg, verde, azul rey 35 mg, azul cielo 70 mg y fucsia 100 mg), por lo que se observa, un efecto analgésico del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* en las dosis de 10 y 20mg y muy dramático efecto analgésico a dosis de 35, 70 y 100 mg, conforme aumenta la dosis de Romero el número de sacudidas de pata de la rata va disminuyendo, lo que confirma el efecto analgésico dependiente de la dosis de Romero, con valores estadísticamente significativos.



Gráfica 3. Se representa el promedio del número de sacudidas de pata de la rata, en relación al intervalo de tiempo y se observa el patrón característico bifásico en donde los 15 min. iniciales es una respuesta aguda, después un tiempo de latencia y después la segunda fase lenta del min 20 en adelante.

La gráfica 3, es otra forma de representación del promedio del número de sacudidas de pata de la rata en relación con el tiempo, en donde se comparan las medias de cada grupo, con el error estándar.

Discusión

Emami F. et. al. (2013) Describen que el extracto hidroalcohólico de *Rosmarinus officinalis* y su constituyente carnosol inhiben el dolor inducido por formalina y la inflamación en los ratones. Describen propiedades y anti nociceptivas (analgésicas) de ambos en ratones machos NMRI, en nuestro estudio, se obtienen resultados similares. Utilizan el modelo de la formalina al 2%, se inyectó en la parte plantar de la pata trasera y se estudió el dolor y la inflamación resultante durante 60 min, igual que nosotros solo con la variación del formalina al 2 % ellos y nosotros al 5%. El extracto de la planta, carnosol y otros fármacos se administraron por vía intraperitoneal o por vía subcutánea 30 minutos antes de la inyección de formalina. En un experimento separado Emami F. et. al. (2013), investigaron los efectos del extracto y carnosol en los niveles de corticosterona en plasma y la actividad de las enzimas de la ciclooxigenasa de tipo 1 y 2 (COX1 y COX2). La inyección de diferentes dosis de carnosol redujo el dolor en la fase 2 de la prueba de la formalina, que no fue inhibida por la naloxona y/o memantina. Tanto el extracto y carnosol inhibieron COX1 y COX2 actividad. Se concluye que *Rosmarinus* y carnosol suprimen dolor y la inflamación inducida por la inyección de formalina al 2%, que puede ser debido a la inhibición de COX1 y COX2 enzimas de actividad. Datos similares a nuestro estudio, la diferencia es que nosotros utilizamos el modelo de la formalina al 5% y la inhibición de dolor se observó igual que ellos en la fase 2 de la prueba de la forma-

lina al 5%.

Lucarini R. et. al. (2013). Mencionan que la actividad analgésicas in vivo y anti-inflamatorias de *Rosmarinus officinalis* extracto acuoso, el ácido rosmarínico y su derivado éster acetil, encontraron propiedades analgésicas. El objetivo de este trabajo fue utilizar en modelos "in vivo" para evaluar las actividades analgésicas de los extractos acuosos obtenidos a partir de hojas y tallos de *Rosmarinus officinalis*, así como su compuesto aislado ácido rosmarínico y se evaluó también el éster acetil derivado de éster de la Acido Rosmarínico. La actividad analgésica se evaluó mediante pruebas de constricción y formalina abdominales. Los extractos se utilizan en dosis de 100, 200 y 400 mg kg⁻¹ compuestos se ensayaron a 10, 20 y 40 mg kg⁻¹. Administrado por vía oral extractos de hojas, tallos y ácido rosmarínico no fueron significativamente activa en cualquiera de las dosis ensayadas durante la prueba de constricción abdominal; el derivado de éster de acetilo de ácido rosmarínico muestra actividad analgésica significativa. Los resultados sugieren que los efectos analgésicos del derivado de acetilo de ácido rosmarínico operan a través de un mecanismo mediado periférico. El derivado de éster de acetilo de ácido rosmarínico es potencialmente aplicable como un nuevo compuesto para el tratamiento del dolor.

Takaki I. et. al. (2007). Describen los efectos antinociceptivos del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* en modelos animales experimentales, Las hojas de Romero se han utilizado en la medicina popular para muchas condiciones; tienen antiespasmódico, analgésico, antirreumático, carminativo, colagogo, diurético, expectorante, y los efectos antiepilepticos. El objetivo del estudio de Takaki I. et. al. (2007). Fue evaluar los efectos del aceite

esencial de *Romero* en modelos experimentales de la nocicepción y la inflamación en animales. La antinocicepción se evaluó utilizando la contorsión inducida por ácido acético y las pruebas de la placa caliente en ratones. Takaki I. et. al. (2007). Mencionan que *Rosmarinus officinalis* en la prueba de la placa caliente, la administración *Romero* (125, 250, y 500 mg/kg), mostró efectos analgésicos sobre la latencia de respuesta, mientras que la inyección de control de la meperidina (fármaco analgésico) indujo efectos antinociceptivos significativos, la dosis de 70, 125 y 250 mg/kg tuvo un efecto antinociceptivo significativo en el ensayo de estiramiento abdominal (Wrhiting test) inducida por ácido acético en comparación con los animales de control. Estos datos sugieren que *Rosmarinus officinalis* posee actividad antinociceptiva.

González-Trujano M.E. et. al. (2007). Mencionan en su artículo evaluación del efecto antinociceptivo de *Rosmarinus officinalis* utilizan tres diferentes modelos experimentales en roedores. La razón fundamental de esta investigación fue examinar el efecto antinociceptivo de un extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* partes aéreas, utilizando tres modelos experimentales diferentes:

"Ensayo de retorcimiento y prueba de la formalina en ratones inducida por el ácido acético; y un modelo de dolor artrítico"; "modelo de deterioro funcional inducida por dolor en la rata (modelo PIFIR)". La eficacia antinociceptiva fue evaluada utilizando varias curvas dosis-respuesta y cursos de tiempo. Los efectos antinociceptivos de extracto de *Rosmarinus Officinalis* se compararon con el efecto antinociceptivo de tramadol o ácido acetilsalicílico. *Rosmarinus Officinalis* en dosis de 10-300 mg/kg redujo significativamente ($P < 0,001$), el número de movimiento de contractura abdominal inducido por la administración intraperitoneal de solución

de ácido acético dependiente de la dosis (ED50 = 108.84 mg/kg, mientras que, tramadol mostró una ED50 = 12,38 mg / kg). Además, el extracto de *Rosmarinus Officinalis* (30-300 mg/kg) inhibió de forma significativa ($p < 0,001$) el número de lamidas y sacudidas de pata, comportamientos evaluados tanto en dolor neurogénico, como en dolor inflamatorio en las fases del modelo de la formalina. Estos efectos eran como los producidos por tramadol. En cuanto a los resultados usando el modelo PIFIR, el extracto de *Rosmarinus Officinalis* igual que tramadol o ácido acetil salicílico, produjo una respuesta antinociceptiva significativa ($P < 0,001$) y dependiente de la dosis en ratas (Romero DE50 = 222,78 mg/kg frente a tramadol: ED50 = 11,06 mg/kg y ácido acetil ED50 = 206,13 mg/kg). Estos resultados sugieren fuertemente que los componentes de *Rosmarinus Officinalis* poseen actividad antinociceptiva y anti-inflamatoria, y refuerzan el uso de esta planta en la medicina popular.

Conclusiones

Se puede puntualizar que *Rosmarinus officinalis* (Romero) en extracto acuoso, muestra un buen efecto analgésico administrado por vía oral "ad libitum", de acuerdo al protocolo de administración establecido en este estudio, en un modelo de dolor (formalina al 5%) y que el efecto analgésico es dependiente de la dosis debido a que conforme incrementamos la dosis del extracto acuso de *Rosmarinus*, el efecto analgésico que se muestra es mayor. Los resultados concuerdan con los diferentes autores consultados en este estudio, aun y cuando existen pequeñas variantes metodológicas y de modelos de dolor mostradas por otros autores.

Referencias bibliográficas

- Boutekedjiret C., Bentahar F., Belabbes R and Bessiere J. M., Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation (2003), Article first published online: 2003, DOI: 10.1002/ffj.1226. John Wiley & Sons, Ltd.
- Brouk A.C. (1975). Plants consumed by man. London: Academia Press.
- Dray A., Dickenson A.H., Besson J.M. (1997). Peripheral mediators of pain. In: The pharmacology of pain. Berlin: Springer-Verlag. p.p. 21-41.
- Emami F1, Ali-Beig H1, Farahbakhsh S1, Mojabi N2, Rastegar-Moghadam B1, Arbabian S1, Kazemi M2, Tekieh E2, Golmanesh L2, Ranjbaran M2, Jalili C3, Noroozadeh A4, Sahraei H., (2013). Hydroalcoholic extract of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its constituent carnosol inhibit formalin-induced pain and inflammation in mice. Pak J Biol Sci. 2013, 16(7):309-16.
- Gallin, JI. (1989). Inflammation. En: Paul, WE. (Ed.) Fundamental Immunology. Raven Press, New York, 1989: 721-733.
- González-Trujano ME, Peña EI, Martínez AL, Moreno J, Guevara-Fefer P, Déciga-Campos M, López-Muñoz FJ. (2007). Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. J Ethnopharmacol. 2007; 111(3):476-82.
- Guyton A.C. (1977), Sensaciones somáticas: II. Dolor, dolor visceral, cefalea y temperatura. En tratado de fisiología

médica, 5ª. edición, México, D.F. Ed. Interamericana, 662-677.

Lucarini R, Bernardes WA, Ferreira DS, Tozatti MG, Furtado R, Bastos JK, Pauletti PM, Januário AH, Silva ML, Cunha WR. (2013). In vivo analgesic and anti-inflammatory activities of *Rosmarinus officinalis* aqueous extracts, rosmarinic acid and its acetyl ester derivative. *Pharm Biol.* 2013;51(9):1087-90. doi: 10.3109/13880209.2013.776613.

Martínez Beltrán, M. (1992). Valoración de la lesión medular traumática mediante espectroscopia de RMN de protones (ERMNH1) Estudio experimental. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.

Millan M. J. (1999). The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol* 57, 1-164 [Review providing a global account of of mechanisms involved in the induction of pain with particular attention focused on cellular aspects and on consequences of peripheral nerve injury

Musa, O.M., & J.C. Chalchat. (2008). Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oil from Turkey. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 59 (7):691-698.

Roitt, IM; Brostoff, J; Male, DK: (1992). *Inmunología*. 2ª ed. Barcelona: Salvat, 1992.

Shahidi, F., P.K., Janitha, & P.D. Wanasundara. 1992. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32(1): 67-103.

Takaki I, Bersani-Amado LE, Vendruscolo A, Sartoretto SM, Diniz SP, Bersani-Amado CA, Cuman RK. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Ros*

marinus officinalis L. essential oil in experimental animal models. *J. Med Food.* 2008 Dec;11(4):741-6. doi: 10.1089/jmf.2007.0524

Tjolsen A., Berge O.G., Hunskaar S., Rosland J.H. and Hole K. (1992). The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, 51(1):5-17.

Waggas, A.M. & E.A. Balawi. 2008. Neurophysiological study on possible protective effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves extract in male albino rats treated with acrylamide. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 3(2): 163-171.

Weissmann G. (1992). *Inflammation En: Basic Principles and Clinical correlates*. Gallin J. I., Goldstein I.M. and Snyderman R. (Ed.). Raven Press, Usa. Second edition, 5-9.

