

EFECTOS NEUROFARMACOLOGICOS DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE HOJAS DE SYNSEPALUM DULCIFICUM EN RATONES

Por: *Dr. Pablo J. Cambar, Dr. Eduardo Tabora, Br. Carlos Fiallos, Br. Carlos Alvarado, Br. Elizabeth Casco de Fúnez, Br. Víctor Raudales, Br. Elizabeth Vinelli, Br. Vida del Carmen López.*

INTRODUCCIÓN

Estudios realizados previamente en nuestro Departamento revelaron que los extractos acuosos de hojas de *Synsepalum dulcificum* produjeron sobre presión arterial de ratas anestesiadas fenómenos de supersensibilidad a la Noradrenalina y adrenalina más inversión o subsensibilidad a la amina de acción indirecta tiramina (efectos "cocaínicos"); como la drenalina contrajo el vaso deferente en ratas, efecto que pudo antagonizarse con bloqueadores alfa adrenérgicos (Tolazolina). Inicialmente disminuyó y seguidamente aumentó la presión arterial y frecuencia cardíaca. En conejos disminuyó la motilidad intestinal y aumentó la resistencia vascular femoral. En corazón aislado aumentó la contractibilidad miocárdica.

Los procedimientos destinados a disminuir las catecolaminas como 6 OH-dopamina * adrenalectomía bilateral o rauwolfia disminuyeron la respuesta presora producida por *Synsepalum dulcificum* y aquellos que elevan las catecolaminas como la iproniazida aumentaron la presión arterial. Estos hallazgos nos indujeron a pensar que una fracción activa de los extractos se incorpora en las terminaciones adrenérgicas periféricas donde libera catecolaminas e impide su recaptación (1). Dada la naturaleza de los cambios arriba señalados que se produjeron en respuesta a las inyecciones de los

extractos acuosos de *Synsepalum dulcificum* resultó necesario determinar si produce algún efecto neurofarmacológico con vistas a una utilización práctica de esta planta.

Dosis Letal 50 (DL50). Se usaron 40 ratones machos de * 20 gms. de peso corporal. El lote se subdividió en cuatro grupos de 10 animales cada uno. Se ensayaron las dosis de 50, 100, 200 y 400 mgs/kg del extracto, por vía intravenosa. Se computaron los resultados por el método Miller y Tainter (2).

Ensayo Multidimensional de Irwin. El extracto de hojas de *Synsepalum dulcificum* se administró por vía subcutánea a grupos de 5 ratones a las dosis de 30, 100, 300 y 1000 mgs/kg S. C. y los controles recibieron solución salina isotónica S. C. Los ratones fueron observados antes y después de las inyecciones a los 15, 30 y 60 minutos. El examen neurofarmacológico fue anotado en fichas de Irwin, midiéndose 38 parámetros que correspondieron a las grandes divisiones: conciencia, humor, actividad motora, excitación del Sistema Nervioso Central, posición, incoordinación motora, tono muscular, reflejos, sistema nervioso autónomo y misceláneas.

El efecto del extracto se anotó por medio de una escala de grados entre 0 y 8. El puntaje básico para los signos normales es 4; por debajo de este valor la respuesta es subnormal y por encima supernormal o exagerada; la anotación básica para los signos anormales es 0 y la máxima 8 (3). Los datos se evaluaron usando análisis de varianza. Para estandarizar

(*) Los autores son profesores y estudiantes de las Facultades de Ciencias Médicas y Química y Farmacia de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras.

zar la técnica se usaron varias drogas: valium, hexametonio, anfetamina, etc.

Respuesta Abdominal Constrictora. Para dilucidar si los extractos acuosos de *Synsepalum dulcificum* contrarrestan las acciones nocicépticas de la fenil p. benzoquinona inyectada intraperitonealmente, se usaron 90 ratones; 50 hembras y 40 machos de alrededor de 22 grs. divididos según sexo en los subgrupos siguientes: control (solución salina al 0.9o/o) S. C. y tratados con 3, 10, 30 y 100 mgs/kg S. C. del extracto de la planta Tanto los ratones controles como los tratados recibieron después de 20 minutos de espera otra inyección, en este caso del irritante fenilbenzoquinona a la dosis de 4 mgs/kg intraperitonealmente con el objeto de producir las respuestas abdominales constrictoras(4). Cada contorsión se consideró como respuesta positiva y se determinó su número midiéndolas cada 10 minutos por 2 horas. (Ver Tabla IV).

Cálculos. El o/o de protección en cada nivel de dosis fue calculado por la siguiente fórmula:

$$\text{o/o de protección} = \frac{100 - (\text{Contorsiones del grupo tratado} / \text{Contorsiones del grupo control}) \times 100}{100}$$

Extracto de *Synsepalum dulcificum*. se preparó de la siguiente manera:

- Extracción acuosa de las hojas frescas de *Synsepalum dulcificum*.
- Concentración a 60°C y presión subatmosférica usando un evaporador rotatorio.
- Precipitación etanólica
- Evaporación a sequedad del sobrenadante.
- Disolución en agua destilada.

Los extractos fueron congelados y protegidos de la luz hasta el momento de su uso.

RESULTADOS

DL50 I. V. Los ratones que murieron inmediatamente des
DL50 I. V. Los ratones que murieron inmediata-

mente después de la inyección del extracto de la planta presentaron cianosis, dificultad respiratoria, exoftalmia, temblores, convulsiones tónico-clónicas los sobrevivientes rascado, disminución de la reactividad espontánea, ataxia, ptosis palpebral bilateral, disminución de la fuerza de agarre, hipotonía muscular, etc. La DL50 I. V. calculada por el método de MiHer y Tainter fue de 145×10.1 mgs/kg.

Ensayo Neurofarmacológico. Los análisis globales de análisis de varianza no revelaron diferencias estadísticamente significativas entre los controles y tratados, a los 15, 30 y 60 minutos de observación. Relación F de 0.340, 0.0859 y 0.0609 respectivamente; no obstante presentamos la lista de los cambios promedios máximos observados en relación al promedio de los controles, para conocer mejor la dirección de los mismo».

Efectos de los Extractos Acuoso de *Synsepalum dulcificum* Sobre:

Conciencia. (Cambio máximo/control)

Estado de Alerta: Disminución a la dosis de 1000 mgs/kg a los 30' (3.2/4).

Localización Visual: Disminución a la dosis de 300 mgs/kg a los 15' y 30' (3.2/4) y a la dosis de 1000 mgs a los 30'(3.2/4).

Pasividad: Se observó a la dosis de 1000 mgs/kg a los 15, 30 y 60 minutos.

Estereotipia: ninguna.

HUMOR.

Vocalización: Se notó en unos 12 ratones, más en el grupo de 300 mgs/kg a los 15' (2.2/0).

Inquietud: Respuesta máxima en los grupos de 300 mgs/kg a los 15' (2.2/0.2); 30' y 60' (2.2/0.5).

Irritabilidad: Respuesta máxima en el grupo de 300 mgs/kg a los 30' y 60' (1.4/0.2).

Timidez: Respuesta máxima en el grupo de 300 mgs/kg a los 30' y 60' (1/0.2).

ACTIVIDAD MOTORA.

Reactividad ambiental: Respuesta máxima en el grupo de 300 mgs/kg a los 15' (4.4/3.9). Disminución en el grupo de 1000 mgs/kg a los 60' (3.4/3.9)

Actividad Espontánea: Aumentó inicialmente y luego disminuyó sobre todo en el grupo de 1000 mgs/kg a los 15' (2.6/4).

Respuesta al Dolor: Disminuyó en el grupo de 300 mgs/kg a los 30' (2.8/4.1).

EXCITACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Respuesta a Sustos: Ligeramente aumentados en los grupos de 300 y 1000 mgs/kg a los 15' (1/0).

Reacción de Straub: No

Contorsiones: No

Convulsiones: No

Temblores: Se observaron en los grupos de 30 y 300 mgs/kg a los 15' y luego desapareció; los puntajes fueron respectivamente de 0.4 y 1.4/0.

POSICIÓN

Extremidades: Tendencia a estirar las patas posteriores y la cola en los ratones del grupo de 1000 mgs/kg a los 60'.

INCOORDINACIÓN MOTORA.

Paso Tambaleante: Pocas alteraciones a los 100 y 1000 mgs/kg.

Marcha Anormal: Observada en 3 ratones a la dosis de 1000 mgs/kg a los 30: y 60' (0.8/0).

Reflejo de Enderezamiento: Alterado ligeramente en 9 ratones predominando en el grupo de 1000 mgs/kg (1.4/0.1).

TONO MUSCULAR.

Extremidades: Aumentó en un total de 9 ratones, máximo puntaje obtenido con la dosis de 300 mgs/

kg a los 15' (5/4.1), disminución en 5 ratones sobre todo en el grupo de 1000 mgs/kg (3/4.2).

Fuerza de Agarre: Aumentó en 15 ratones y luego disminuyó sobre todo a la dosis de 1000 mgs/kg a los 60' (3.4/4.1).

Combar el Cuerpo: No.

Tono Corporal: Aparentemente normal.

Tono Abdominal: Aumentó a los 15' y 30' en el grupo de 300 mgs/kg. (4.6/4.1).

REFLEJOS

Auricular: "Variable; aumentó a la dosis de 100 y 1000 mgs/kg a los 15' (5/4) y disminuyó en el grupo de 1000 mgs/kg a los 30' y 60' (3/4).

Corneal: Se incrementó en 11 ratones tratados, más en el grupo de 300 mgs/kg a los 15, 30 y 60' (4-6- 5.2- 5.2/4).

Flexor Ipsilateral: Se incrementó en 16 ratones tratados siendo la respuesta mayor en el grupo de 300 mgs/kg a los 30' (5.2/4.2).

SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO.

Retorcimiento: Ninguno.

Diámetro Pupilar: Normal (3), difícil de evaluar.

Apertura Palpebral: En 9 ratones de los tratados se notó tendencia a la disminución siendo mayor el efecto a los 30' a la dosis de 300 mgs/kg (2.6/4). *

Exoftalmía: Leve exoftalmia en 2 ratones del grupo de 300 mgs/kg a los 30: (0.2/0).

Micción: Apareció en 5 ratones de varios grupos tratados siendo mayor en el de 100 mgs/kg a los 30' (0.8/0).

Salivación: Ninguna.

Piloerección: Se observó en 9 ratones de los grupos tratados siendo mayor en el de 300 mgs/kg a los 15' (1.8/0).

Color de la Piel: Normal.

Lagrimeo: Solo en 1 ratón a la dosis de 1000 mgs/kg (0.2/0). Para mayor detalle ver tablas I, II y III.

Respuesta Abdominal Constrictora: La inyección subcutánea del extracto de *Synsepalum dulcificum* a las dosis de 3, 10, 30 y 100 mgs/kg ejerció cierto grado de protección en los ratones de ambos sexos. La dosis efectiva media fue de 11 mgs/kg para los machos y de 49 mgs/kg para las hembras. La diferencia entre los ratones controles y tratados se notó desde que se inyectó el irritante; el efecto protector comenzó a declinar a los 120 minutos de observación. (Ver Tabla IV).

DISCUSIÓN

Los estudios cardiovasculares preliminares de los extractos acuosos de hojas de *Synsepalum dulcificum* revelaron un aumento de los efectos vasopresores de la adrenalina o noradrenalina y una disminución de la respuesta hipertensora de la tiramina. Los extractos aumentaron la frecuencia y contractibilidad del corazón aislado de conejo e incrementaron la resistencia vascular periférica y disminuyeron la motilidad intestinal en la misma especie. Las contracciones del vaso deferente de rata producidas por ambas adrenalina o extractos de la planta, pueden ser bloqueados por tolazolina. Los procedimientos destinados a disminuir las catecolaminas (60H dopamina * adrenalectomía bilateral y reserpina) o a incrementarlos (Iproniazid) disminuyen y aumentan respectivamente la fase presora producida por el extracto de *Synsepalum dulcificum*. Con los antecedentes referidos consideramos necesario los efectos neurofarmacológicos producidos por los mismos. Por trabajos previos conocíamos que la inyección intrayugular del extracto en pollitos no produjo bloqueo neuromuscular en cambio, con la succinilcolina si se observó. Se notó un aumento de la frecuencia de picoteo en el primer caso ignorando su razón.

En ratas anestesiadas solamente a dosis elevadas del extracto se logró disminuir la contractibilidad del músculo tibial anterior, observándose irregularidades en la caída debido a la frecuente aparición de "picos" o contracciones musculares, en cambio el descenso observado con succinilcolina fue regular.

Los hallazgos neurofarmacológicos practicados en ratones aunque no fueron significativos mostraron estimulación sobre todo en una fase inicial y depresión al final con las dosis altas. Entre los cambios estimuladores se pueden citar: aumento de la actividad refleja, de la reactividad ambiental, a los sustos, aumento de la frecuencia de micción, vocalización, temblores, inquietud, irritabilidad; aumento del tono de las extremidades, del abdomen, de la fuerza de agarre y piloerección. Los cambios depresores consistieron en una disminución del estado normal de conciencia por descenso del estado de alerta, de la localización visual, aparición de pasividad, timidez, decremento de las reactividades espontánea o ambiental y disminución de la apertura palpebral.

Es de hacer notar que el extracto disminuyó la respuesta abdominal constrictora producida por la inyección intraperitoneal del irritante fenil-p-benzoquinona. El grado de protección fue mayor en los machos que en las hembras. Este dato está en vías de confirmación. En el examen neurofarmacológico la respuesta al dolor también estuvo disminuida.

La DL50 fue de 145 ± 10.1 mgs/kg por vía intravenosa, observándose en los ratones cianosis, dificultad respiratoria, exoftalmia, rascado intenso, ataxia, hipotonía, disminución de la fuerza muscular, micción temblores y convulsiones tónico-dóricas. La autopsia reveló que el corazón todavía palpita y que la motilidad intestinal estaba disminuida. Los sobrevivientes mostraron en días subsiguientes mal estado general y depresión del sistema nervioso central.

De los resultados obtenidos en el examen neurofarmacológico podemos pensar que la porción activa del extracto acuoso de *Synsepalum dulcificum* tiene pocos efectos centrales o que atraviesa difícilmente la barrera hematoencefálica. Los efectos "cocaínicos" sobre aparato cardiovascular han sido observados entre drogas que disminuyen la captación de catecolaminas en las terminaciones adrenérgicas, aumentando la sensibilidad a la noradrenalina y disminuyendo los efectos de la tiramina por ejemplo: cocaína, clorfenamina, fenoxibenzamina y guanetidina (4). Dado que tanto durante la exploración neurofarmacológica como en el es-

Ratón		mgs / Kg · Dosis					Fecha		Especie		Machos		S.C. Vía		21-30gm		H ₂ O Sol		pH		Vehículo		Solución Salina Isotónica		Misc. otros	
1000	300	100	30	Control	Puntaje normal																					
3.4	3.4	3.8	4.0	3.8	4	Estado de alerta																				
3.5	3.8	4.0	3.8	3.9	4	Localización visual																				
0.6	0.6	0.0	0.2	0.0	0	Reactividad																				
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	Estereotipia																				
2.0	2.0	2.8	2.4	2.4	4	Acicalamiento																				
0.8	1.4	1.0	1.4	1.0	0	Vocalización																				
0.6	2.2	0.8	1.2	0.5	0	Inquietud																				
0.0	1.4	0.4	0.8	0.2	0	Irritabilidad (agresión)																				
0.4	0.4	0.2	0.2	0.1	0	Timidez																				
3.4	3.8	3.8	3.8	3.9	4	Reactividad (ambiental)																				
2.4	3.0	3.8	3.4	3.3	4	Actividad espontánea																				
4.6	4.2	3.6	4.4	4.2	4	Respuesta al tacto																				
3.4	4.0	3.2	4.0	4.2	4	Respuesta al dolor																				
0.4	0.2	0.4	0.4	0.6	0	Respuesta a sustos																				
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	Reacción straub																				
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	Temblores																				
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	Contorsiones																				
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	Convulsiones																				
4.0	4.2	3.8	3.8	4.1	4	Posición del cuerno																				
3.2	4.2	3.6	4.0	4.1	4	Posición de las extremidades																				
0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0	Paso tambaleante																				
0.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0	Marcha anormal																				
0.8	0.2	0.4	0.2	0.3	0	Reflejo de enderezamiento																				
3.4	3.8	3.8	4.2	4.0	4	Tono de las extremidades																				
3.4	4.4	4.0	3.8	4.1	4	Puerta de agarre																				
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	Combar el cuerno																				
4.0	4.0	3.8	4.0	4.1	4	Tono corporal																				
4.2	4.6	4.2	4.4	4.0	4	Tono abdominal																				
3.0	4.2	4.5	4.2	3.6	4	Reflejo Autisular																				
4.2	5.2	4.6	4.4	4.0	4	Corneal																				
4.6	5.0	4.0	4.0	4.2	4	Flexor ipsilateral																				
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	Retorcimiento																				
4.3	3.0	4.0	2.0	4.0	4	Diámetro pupilar																				
3.8	2.8	3.4	3.8	4.0	4	Apertura palpebral																				
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	Exoftalmia																				
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	Nicción																				
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	Salivación																				
1.4	1.6	0.2	0.4	0.2	0	Ulcerección																				
					0	Hipotermia																				
4.2	3.2	4.2	3.2	3.6	4	Color de la piel																				
-	-	-	-	-	4	Frecuencia Cardíaca																				
-	-	-	-	-	4	Frecuencia Respiratoria																				
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	Lagrimeo																				
					0																					
					0	Nº de agudos																				
					0	Nº tardios																				

Los datos representan el promedio de 6 ratones por grupo

TABLA IV

PORCENTAJE DE PROTECCION PRODUCIDA POR EL EXTRACTO DE SYNSEPALUM DULCIFICUM SOBRE LAS RESPUESTAS ABDOMINALES CONSTRICTORAS PRODUCIDAS POR LA FENIL. P-BENZOQUINONA.

Procedimiento Dosis	Porcentajes de Protección *	
	Hembras ^a	Machos ^b
Solución Salina Isotónica S.C.		
<u>Sinsepalum dulcificum</u>		
3 mgs/kg S.C.	5.3	29.0
10 mgs/kg S.C.	15.3	50.0
30 mgs/kg S.C.	36.0	66.2
100 mgs/kg S.C.	46.0	82.0
100 mgs/kg		

* o/l de Protección: $100 - \frac{\text{Contorsiones del grupo tratado}}{\text{Contorsiones del grupo control}} \times 100$

a. 16 ratones por grupo

b. 8 ratones por grupo

tudio de las contracciones abdominales producidos por un irritante se detectó un efecto antinociceptivo necesitamos investigar si existe un efecto antiinflamatorio asociado. Las posibilidades de un uso eventual del extracto como agente antidepresor al menos bajo las condiciones experimentales agudas en que se practicó este trabajo; son difíciles de aceptar.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cambar, P. J., Portillo, P. R., Tabora, J. E. et al.: Efectos Cardiovasculares producidos por extractos de hojas de *Synsepalum dulcificum*. Rev. Médica Hondureña-Vol. 50 No. 3, 1983.
2. Turner, R. A.: Screening Methods in Pharmacology. 1965 1st ed. New York London. Academic Press, Vol. LP61.
3. Irwin, S.: Drug screening and evaluation of new compounds in animals, In: Animal and Clinical Pharmacology Techniques in Drug Evaluation. 1964, 1st ed. Nodine, J. H. Sieglec, P. E. (Eds.) Chicago: Year book Medical Publishers Inc., P. 36-54.
4. Trendelenburg, U.: I. Mechanisms of Supersensitivity and Subsensitivity to Sympathomimetic Amines. Pharmacol. Rev. 1966, The Williams and Wilkins Co. Vol. 18, No. 1P. 634.

A GRADECIMIENTO

A la Srita. Melba Gloria Amador H., por su valiosa colaboración en la reproducción de este trabajo.

Al Sr. Ernesto Martínez, por su ayuda técnica en la preparación de los extractos.