

Actividad farmacológica del extracto acuoso de la madera de *Quassia amara* (Simarubaceae) en ratas y ratones albinos

Mildred García González, Sara M^a González Camacho y Liliana Pazos Sanou
Laboratorio de Ensayos Biológicos, Universidad de Costa Rica. San José 2060, Costa Rica.

(Rec. 21-XI-1995. Rev. 1-III-1996. Acep. 21-VI-1996)

Abstract: All the assays were done with an aqueous preparation of dry wood from *Quassia amara* (Simarubaceae). For the hippocratic assay, 12 female SDN rats were used, with an average weight of 144 g and separated in three groups of four individuals each. The dose used were 500 mg/kg and 1 000 mg/kg and the control group received 0.5 ml of distilled water. The extract administration and the observation of the animals were done daily during nine days. Acute toxicity of the preparation was studied with 25 male NGP mice with an average weight of 20.13 g, in groups of five individuals per dose. The oral administration was carry out with the following doses: 250, 500, 750 and 1 000 mg/kg, the control group received 0.5 ml of distilled water. No sign of acute toxicity was observed at any dose. For the toxicity analysis via intraperitoneal injection 15 male NGP mice were assigned to five groups (5 animals each) with doses of 500 and 1 000 mg/kg and a control group with 0.5 ml of distilled water. The group with the dose of 500 mg/kg, presented acute toxicity signs with a 24 hr recovery, and the 1 000 mg/kg dose was letal to a 100% within 24 hr. The measuring of the peristaltic activity (movement of the intestinal content) were performed on 30 NGP male mice with an average weight of 22 g assigned to three groups of ten individuals each. One dose of 500 mg/kg and 1 000 mg/kg were orally administrated to each experimental group and 0.5 ml of distilled water to the control group. The marker used was activated carbon, orally supplied to every mice 30 min after the administration of the aqueous extract. The animals are decapitated and the measurement of the carbon motion in the small intestine was done after 30 min. Both dose increased the intestinal movement compared to the control group, but only the 1 000 mg/kg dose showed a statistically significant difference ($p \leq 0.05$).

Key words: *Quassia amara*, traditional medicine, herbal medicine, acut toxicity, hippocratic screening, intestinal motility.

Entre las plantas utilizadas en la medicina popular en Costa Rica está *Quassia amara*, conocida como "hombre grande", aunque los indígenas la denominan "quini". Su uso como planta medicinal se encuentra bastante difundido, tanto entre la población indígena como entre los afrocaribeños de la costa y los agricultores ladinos de otros sectores de la provincia de Limón (Ling 1995). Pertenece a la familia Simarubaceae; es un árbol típico de la costa Atlántica de Costa Rica, su madera no es atacada por los insectos (Ocampo 1987).

La corteza del tallo contiene principios amargos de los cuasinoides (Glasby 1991), indólicos derivados de β -carbolina (Barbetti *et al.*

1987), 2-metoxicantina-6-ona, (Njar *et al.* 1993), esteroles, picranina, isocuasina, alcaloides totales (0.25%) (Duke 1984) y aceite volátil, extracto gomoso, pectina, fibra y sales minerales (Grieve 1988).

Entre los usos medicinales atribuidos a *Q. amara* destacan: anti-pirético (García 1994), aperitivo (Pittier 1978), diurético y estimulante del sistema gastrointestinal (Ocampo 1987). Algunos estudios científicos demuestran que tiene efecto anti-leucémico (Kupchan 1976), anti-inflamatorio (Hall 1983), anti-viral, anti-malárico, actividad amebicida y propiedades insecticidas (Polonsky 1986).

En el presente trabajo se informa y discuten los efectos obtenidos, a través de ensayos que determinan la seguridad del uso del extracto acuoso de la madera de *Q. amara*, en ratas y ratones albinos y su efecto sobre la velocidad del tránsito intestinal en ratones. Estos ensayos se realizaron con materia prima domesticada de la región de Talamanca. En la literatura revisada, no hay informes farmacológicos realizados con extractos de madera cultivada bajo el régimen de domesticación en Costa Rica, ni bioensayos realizados directamente sobre la motilidad del tránsito intestinal. Con base en la ciencia fitoquímica, se considero importante realizar el presente estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección del material botánico: En la reserva indígena de Keköldi, región de Talamanca localizada al sur-este de Costa Rica, durante el mes de febrero de 1994, se recolectaron 4 kg de tallos frescos de *Q. amara* procedentes de arbustos adultos.

Preparación del extracto: En el Centro de Investigación en Productos Naturales (CIPRONA), de la Universidad de Costa Rica, se procesó el material de la siguiente forma: el material recolectado se cortó en astillas (24 hr después de su recolección) y se puso a secar en un horno con temperatura de 40 - 50 °C por espacio de 72 hr. Luego 2 kg de madera seca fueron molidos y colocados dentro de un recipiente conteniendo 1 l de agua destilada a 80°C y se dejó reposar durante 20 min, el preparado se filtró empleando gasa y papel filtro Wattman # 1. El filtrado se llevó a un rotavapor hasta obtener un volumen de 300 ml, se pasó este volumen del extracto a un liofilizador, obteniéndose un total de 21.7 g. El material liofilizado se disolvió en 100 ml de agua destilada obteniéndose una concentración de la solución madre de 217 mg/ml.

Preparación de los animales

Prueba hipocrática - Tamizado farmacológico: Se utilizó la prueba hipocrática (Anónimo 1995), en 12 ratas hembras de la cepa Wistar, con un peso promedio de 144 g. Se distribuyeron en tres grupos de cuatro ratas cada

uno, mantenidas con alimento y agua *ad libitum*, dos de los grupos recibieron extracto y el tercer grupo se utilizó como control.

La administración del extracto y el período de observación se realizó durante nueve días consecutivos.

El extracto, preparado a partir de la solución madre en dosis de 500 y 1 000 mg/kg se administró vía oral a través de una cánula de metal intragástrica, y el grupo control recibió 0.5 ml de agua destilada.

Se realizaron observaciones diarias de cada animal, anotando los efectos sobre la actividad del sistema nervioso central, (Anónimo 1995).

Prueba de toxicidad aguda por vía oral:

Se utilizaron 25 ratones albinos NGP-UCR, machos, con peso promedio de 20.13 g. Los animales fueron distribuidos en cinco grupos de cinco ratones cada uno, con los siguientes tratamientos: 250, 500, 750 y 1 000 mg/kg de peso. El grupo control recibió 0.5 ml de agua destilada. Todos los tratamientos se administraron en dosis única.

Prueba de toxicidad aguda por vía intraperitoneal:

Se utilizaron 30 ratones albinos NGP-UCR, machos, con peso promedio de 22.13 g. Los animales fueron distribuidos en tres grupos de diez ratones cada uno. A un grupo se le administró 500 mg/kg, otro grupo recibió la dosis de 1 000 mg/kg y el grupo control recibió 0.5 ml de agua destilada. Todos los tratamientos se administraron en dosis única.

La prueba de toxicidad aguda por vía oral e intraperitoneal se realizó siguiendo el esquema de observación polidimensional de Irwin (Anónimo 1995).

Prueba de tránsito intestinal: Se utilizó la prueba descrita por el CYTED (Anónimo 1995) en 30 ratones machos NGP-UCR con peso promedio de 22 g clasificados en tres grupos de diez ratones cada uno. Después de 6 hr de ayuno se le administró a cada grupo uno de los siguientes tratamientos: 0.5 ml de agua destilada por vía oral como grupo control, y el extracto en dosis de 500 y 1 000 mg/kg peso del animal.

Los datos fueron registrados y expresados como el valor medio \pm el error estándar. Tratamientos y testigos fueron comparados con la distribución "t de Student" en modalidad pareada.

RESULTADOS

Prueba hipocrática-Tamizado farmacológico: La administración oral del extracto acuoso de *Q. amara*, no presentó signos ni síntomas anormales en ninguno de los animales tratados, que indicara alteración sobre la actividad del sistema nervioso central.

Prueba de toxicidad aguda por vía oral: No se presentó mortalidad, ni signos de toxicidad evidente al cabo de las 48 hr de observación.

Prueba de toxicidad aguda vía intraperitoneal: Con la dosis de 500 mg/kg, transcurridas cuatro horas desde la administración del extracto, se observaron los siguientes signos de toxicidad: piloerección, disminución de la actividad motora y pérdida parcial del reflejo de enderezamiento. Todos los animales se recuperaron 24 hr después de la administración del extracto.

El 100 % de los animales que en esta prueba recibieron la dosis de 1 000 mg/kg, transcurridas cuatro horas de la administración del extracto, mostraron los siguientes signos de toxicidad: piloerección, pérdida del reflejo prenil posterior, disminución de la actividad motora. Todos los animales murieron antes de las 24 hr después de la administración del extracto.

Prueba del tránsito intestinal: Con la dosis de 500 mg/kg, el porcentaje promedio del recorrido intestinal fue de $63.86\% \pm 7.15$ y no constituyó un valor diferente estadísticamente significativo al compararlo con el grupo control, que recibió agua destilada y cuyo porcentaje del recorrido fue de 58.19 ± 8.82 . Con la dosis de 1 000 mg/kg el porcentaje promedio del recorrido intestinal fue de $71.96\% \pm 4.96$, aumentando de forma estadísticamente significativa ($p < .05$) la velocidad del tránsito intestinal.

DISCUSIÓN

El ensayo hipocrático o tamizaje farmacológico, es una prueba "in vivo", en la que se evalúan de forma cualitativa parámetros fisiológicos, que pueden ser modificados por efecto del extracto administrado (Anónimo 1995).

Los resultados obtenidos con la prueba del ensayo hipocrático, demostraron que la administración oral del extracto acuoso de la madera de *Q. amara*, no presenta efectos directos sobre el sistema nervioso central, ni ningún otro signo que indique la acción de los componentes solubles de esta planta, sobre otros sistemas del organismo.

El extracto administrado en ratones por vía oral, no posee efectos tóxicos farmacológicos agudos. Estos resultados indican que la ingesta del extracto acuoso de *Q. amara*, aún en dosis de 1 000 mg/kg de peso, es tolerado por el organismo sin provocar daños visibles al ser administrado en una sola dosis.

La administración del extracto por vía intraperitoneal, mostró una relación dosis-efecto, la cual es evidente cuando se comparan los resultados de 500 mg/kg que presentaron signos de toxicidad sin causar mortalidad y una mortalidad del 100% con 1 000 mg/kg. La recuperación observada con la dosis menor, posiblemente se pueda atribuir a que la concentración de la sustancia en los tejidos no superó el nivel crítico y por lo general los efectos en estos casos son reversibles (Goodman *et al.* 1990).

Aunque la inyección intraperitoneal sea común en los laboratorios, pero no en clínica, se justifica su utilización al encontrarse en la cavidad peritoneal una amplia superficie de absorción desde la cual las drogas pasan con rapidez a la circulación (Goodman *et al.* 1990).

Las diferencias observadas en toxicidad por vía oral y por vía intraperitoneal, posiblemente se deben a que esta última vía de administración no permite una selección de sustancias a nivel de la barrera gastrointestinal, lo que podría ocasionar que los componentes del extracto, pasen directamente del espacio intraperitoneal al sistema circulatorio y ocasionen el efecto tóxico observado por esta vía.

La administración del extracto también mostró una relación dosis-efecto sobre la velocidad del tránsito intestinal. Estos resultados se pueden atribuir a la presencia de un alcaloide colinomimético natural, que ocasiona el efecto obtenido de tipo parasimpaticomimético sobre el músculo liso intestinal, ya que todos los compuestos agonistas colinérgicos son capaces de producir aumentos del tono, amplitud de las contracciones y actividad peristáltica del estómago e intestino, así como mayor actividad secretoria del tracto gastrointestinal (Goodman *et*

al. 1990). Estos resultados avalan los informes tradicionales de utilizar esta planta como un agente digestivo.

AGRADECIMIENTOS

A Jaime Fornaguera del Depto de Bioquímica de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica por la revisión y las sugerencias realizadas al borrador de este trabajo.

Al proyecto de Conservación para el Desarrollo Sostenible en América Central (OLAFO) del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), por el apoyo a esta investigación y el suministro de la materia prima.

A la red Iberoamericana de validación de plantas medicinales, sub-programa X de química fina farmacéutica (CYTED), por el aporte brindado en las técnicas utilizadas en el presente trabajo.

REFERENCIAS

- Anónimo. 1995. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Sub-programa X Química Fina Farmacéutica. Proyecto X-1 Búsqueda de Principios Bioactivos en plantas de la región. Manual de Técnicas de Investigación. CYTED, Panamá. 11,35, 151 p.
- Barbetti, P., G. Grandolini, G. Hardella & I. Chiappini. 1987. Indole Alkaloides from *Quassia amara*. *Planta Médica* 53: 289-290.
- Duke, J.A. 1984. *Handbook of Medicinal Herbs*. Boca Raton, Florida CRC. 677 p.
- García, S.A. 1994. *Plantas de la Medicina Bribri*. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 58 p.
- Glasby, J.S. 1991. *Dictionary of Plants Containing Secondary Metabolites*. Taylor & Francis, Londres. 488 p.
- Goodman, A., L. Goodman, T. Rall & F. Murad. 1990. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina. 25, 115, 1509 p.
- Grieve, M. 1988. *A Modern Herbal*. Penguin Group. Londres. 912 p.
- Hall, I.M., K.H. Lee, Y. Imakura, M. Okano & A. Johnson. 1983. Anti-inflammatory Agents III: Structure-activity relationships of brusatol and related quassinoids. *J. Pharm. Sci.* 72 (11): 1282-1284.
- Kupchan, S. M. & D.R. Strelman. 1976. Quassimarin, a New Antileukemic Quassinoid from *Quassia amara*. *J. Org. Chem.* 41 (21): 3481-3482.
- Ling, F. 1995. Estudio ecológico de *Quassia amara* en la Reserva Indígena de Kéköldi, p. 56-67. *In* R. Ocampo (ed.)
- Potencial de *Quassia amara* como insecticida natural. *Actas CATIE*, Cartago, Costa Rica.
- Njar, V.C.O., T.O. Alao & J.I. Okogun. 1993. 2-metoxycanthin-one A new Alkaloid from the Sem Wood of *Quassia amara*. *Planta Médica* 59: 259-261.
- Ocampo, R. & A. Maffioli. 1987. *El uso de algunas plantas medicinales en Costa Rica*. LIL, San José, Costa Rica. 48-50 p.
- Pittier, H. 1978. *Plantas usuales de Costa Rica*. Costa Rica, San José, Costa Rica. 170 p.
- Polonsky, J. 1986. Quasinoid bitter principles II. *Fortschritte der chemie organischer. Naturstoffe* 47: 222-264 p.