

ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE LOS EFECTOS FARMACOLOGICOS DE CALLIANDRA MOLINAE STANDLEY (Palo de corcho) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.

Dr. Pablo José Cambar, Dra. Hiive Ivette Andonie, Dr. Roberto P. Sosa, Dr. José Casco, Dra. Consuelo Murillo de Casco, Dr. Carlos Alvarado, Br. Herlin Aguilar, Br. Jorge Seaman, Br. Eduardo Retes, Br. Jackeline Alger,

Dr. José Eduardo Tabora, Dra. Lilia Martínez de Bertrand
P.M. Julio César Martínez, A.T.D, Ernesto Martínez.

INTRODUCCIÓN

Una especie nueva de *Calliandra* fue descubierta en el Departamento de El Paraíso a lo largo del río Lizapa en Galeras, por los Doctores Antonio Molina y Paúl Standley en el año de 1945 y fue clasificada internacionalmente como *Calliandra molinae standley* (¹). Es un árbol cuya parte superior es aplanada y dotado de gran belleza durante su período de floración. Su corteza es gruesa parecida al corcho, de allí que popularmente se le llama "Palo de Corcho". En el presente trabajo al inyectar extractos acuosos obtenidos de las hojas de *Calliandra molinae standley* se observaron algunos cambios como pasividad, prolongación significativa del tiempo de dormido producido por el pentobarbital sódico y en aparato cardiovascular hipotensión sistólica y diastólica cuyo mecanismo de acción logramos dilucidar. Se observó cierto parecido a los efectos farmacológicos producidos por los extractos de hojas de *Casimiroa edulis llave et lex* (matasanos) e *Hyptis sinuata* ("la miona"). La mayoría de nuestros estudios farmacológicos de extractos de plantas han tenido como punto de partida información etnofarmacológica sobre sucesos terapéuticos pero el estudio actual constituyó un complemento de estudios botánicos previamente realizados a un nivel nacional.

* Profesores y estudiantes del Departamento de Fisiología de la Facultad de Ciencias Médicas y Farmacia, UNAH.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ensayo Multidimensional de Irwin.

El extracto de hojas de *Calliandra molinae standley* se administró por vía subcutánea a grupos de 5 ratones a las dosis de 10, 20 y 40 mgs/kg; los controles recibieron solución salina isotónica S.C. Los ratones fueron observados antes de la inyección del extracto, a la primera y segunda hora después de administrar el mismo. 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 física para los signos anormales es 0 y la máxima (8). Para estandarizar la técnica se usaron varias drogas: diazepam, anfetamina, etc. en otros ratones.

Tiempo de Anestesia Producido por el Pentobarbital Sódico en Ratones

Se utilizaron 40 ratones subdivididos de tal manera que el grupo control recibió solución salina isotónica (0,9o/o), y a los tres grupos restantes se les ad-

ministraron 10, 20 y 40 mgs/kg del extracto de hojas de *Calliandra molinae standley* por vía subcutánea y 24 horas después todos los ratones fueron inyectados con pentobarbital sódico por vía intraperitoneal. Para determinar el tiempo de anestesia se midió el intervalo transcurrido entre la pérdida y recuperación del reflejo de enderezamiento (6); se midió el tiempo de latencia y adicionalmente el inicio de la locomoción.

Presión Arterial, Frecuencia Cardíaca y Respiratoria

Para establecer la relación dosis-respuesta de los extractos de hojas o corteza de *Calliandra molinae standley* sobre presión arterial, frecuencia cardíaca y respiratoria se usaron ratas wistar. Se anestesiaron con una mezcla de ácido dialilbarbitúrico (60 mgs/kg) y uretano (200mgs/kg) por vía I.P. Para registrar la presión arterial sistólica; diastólica o diferencial se cateterizó la arteria carótida derecha y se conectó a un transductor de presión statham P23 D. C. Se usó heparina en el sistema como agente anticoagulante. Se tomó en cada animal el electrocardiograma en derivación II con electrodos de aguja implantados subcutáneamente. Los movimientos respiratorios fueron medidos por medio de un transductor FT 0.3 Grass y un hilo suturado a la cara anterior del tórax. Las señales de presión arterial, respiración y electrocardiograma fueron amplificadas y registradas en un polígrafo Grass Modelo 7D(7). Se administró el extracto de *Calliandra molinae standley* por vía I.V. a la dosis de 20, 40 y 80 mgs/kg.

Un grupo adicional de ratas recibió histamina 8 mcg/kg antes y después de Difenhidramina 5 mgs/Kg I.V. y también extractos de *Calliandra molinae standley* antes y después del antihistamínico. En otras ratas se trató de bloquear los receptores histaminérgicos H¹ y H² por medio de difenhidramina y cimetidina esta última a la dosis de 18 mgs/kg I.V. y luego se administró el extracto de "Palo de Corcho" para determinar si la hipotensión producida por el mismo es debida o mediada por la histamina.

Para determinar si la hipotensión producida por los extractos de "Palo de Corcho" es debida a un efecto parasimpaticomimético se usó acetilcolina 5 mcg/kg I.V. y extracto de *Calliandra molinae standley* antes y después de atropina a la dosis de 2 mgs/kg I.V.

Íleo de Cobayo

Se obtuvo un segmento de íleo de cobayo que fue suspendido en un baño de 8 ce conteniendo solución de Krebs oxigenado con una mezcla de 95o/o O₂ y 5o/o CO₂, uno de sus extremos fue fijado al fondo del baño y el otro a un transducer statham FT 03(8). Se construyó una curva dosis respuesta usando sulfato de histamina a las dosis de 20, 40 y 80 mcg/ml y también con el extracto acuoso de hojas de *Calliandra Molinae standley* a las dosis de 80, 160, 520, 640 mcg/ml, se usó difenhidramina a la dosis de 0.2 mg/ml para bloquear la respuesta contráctil de íleo de cobayo a la histamina o al extracto de "Palo de Corcho".

RESULTADOS

Ensayo Neurofarmacológico Muí ti dimensional de Irwin en Ratones

Cuando se administró el extracto acuoso de las hojas de la planta solo se detectó cierto grado de timidez y aumento de la respuesta al tacto y dolor o vocalización en relación al control, pero globalmente no se observaron diferencias significativas.

Tiempo de Anestesia Producido por el Pentobarbital Sódico en Ratones

Se observó prolongación de los tiempos de anestesia e inicio de la locomoción producido por el pentobarbital sódico cuando con antelamiento de 24 horas se habían administrado 20 o 40 mgs/kg S. C. del extracto de hojas de *Calliandra molinae standley* siendo los cambios altamente significativos $P < 0.001$. Con la dosis de 10 mgs/kg S. C. únicamente se observó una prolongación del inicio de locomoción en relación al control. (Ver Tabla I).

TABLA I

Tiempo de anestesia producido por Pentobarbital sódico en ratones controles y tratados con *Calliandra molinae standley* (24 horas de antelamiento).

Tratamiento (Dosis)	No. de ratones	Promedio y \pm error standard del promedio			Pr (d)
		Tiempo de latencia (min.)	Tiempo de anestesia (min.)	Inicio de locomoción (min.)	
Controles	8	9.75			C
Controles salina 0.9o/o	8	9.75 \pm 2.8	19.9 \pm 3.21	22.1 \pm 3.0	C (sol)
<i>Calliandra molinae</i>					C
20 mg/kg SC)	8	11.9 \pm 1.8	27.7 \pm 2.4	38. \pm 3.7 *	(1)
40 mg/kg SC)	10	6.8 \pm 1.0	35.2 \pm 3.5 *	42.5 \pm 1.9 *	(2)
80 mg/kg SC)	10	8.3 \pm 1.3	41.9 \pm 3.1 *	44.4 \pm 2.5 *	(4)

* Diferencia estadísticamente significativa (t de student) al comparar controles versus tratados.

La administración de los extractos acuosos de hojas de *Calliandra molinae* prolongó significativamente el tiempo de anestesia y el inicio de locomoción producido por pentobarbital sódico.

Efectos Hipotensores de *Calliandra molinae standley* en Ratas

Los extractos obtenidos de hojas o corteza de *Calliandra molinae Standley* produjeron hipotensión arterial cuando fueron administrados por vía I.V. a ratas anestesiadas con dial-uretano. Con ambos extractos se observó una rápida caída de la presión arterial, apareciendo el efecto máximo entre 25 segundos y 2 minutos, prolongándose la duración de la respuesta en 11, 16 y 30 minutos cuando usamos las dosis de los extractos de 20, 40 y 80 mgs/kg respectivamente.

No existió una diferencia estadísticamente significativa entre los dos extractos (de hojas o corteza). En algunos casos la respuesta duró más de una hora observándose entonces una restauración de la presión arterial a los valores controles previamente registrados o sea que los animales se recuperan. La hipotensión se acompaña de ligera taquicardia y taquipnea más evidentes al usar extractos de corteza pero no significativos desde el punto de vista estadístico. {Ver Tabla H yin).

TABLA II

Efectos de la Administración del extracto de corteza de *Calliandra molinae standley* sobre el aparato cardiovascular y respiración de ratas anestesiadas con Dial-Uretano.

Dosis mgs/kg Número de ratas Número de (Inyecciones)	Presión Arterial* (mm Hg)				Electrocardiograma* (Frecuencia Cardíaca)		Respiración (Ciclos por Minuto)	
	Sistólica		Diastólica		Control ^a	Δ o/o	Control ^a	Δ o/o
	Control ^a	Δ o/o	Control ^a	Δ o/o	Control ^a	Δ o/o	Control ^a	Δ o/o
<i>Calliandra molinae standley</i>								
20 mgs/kg 6 (16)	\pm 108 4.8	\bar{x} 20.0** 4.8	\pm 95 4.9	\bar{x} 23** 5.6	\pm 392 8.4	\pm 1.4 1.7	\bar{x} 96 11.7	\pm 19.2 9.1
40 mgs/kg 6 (16)	\pm 111 5.3	\bar{x} 31.9** 5.2	\pm 98 5	\bar{x} 38** 7	\pm 394 10.3	\pm 0.5 1.3	\bar{x} 93.4 9.1	\pm 20 6.3
80 mgs/kg 6 (16)	\pm 114 5.0	\bar{x} 46.5** 3.6	\pm 103 5.3	\bar{x} 54.3** 3.5	\pm 390 11.4	\pm 0.4 3.2	\bar{x} 93.5 9.0	\pm 27 13.0

* Los valores representan el promedio y \pm error típico del promedio.

** Diferencia estadísticamente significativa (t de Student).

a Valores control antes de la inyección de extracto.

La administración intravenosa del extracto acuoso de corteza de *Calliandra molinae standley* produjo hipotensión sistólica y diastólica y aumento de la frecuencia respiratoria.

TABLA III

Efectos del Extracto de hojas de *Calliandra molinae standley* sobre el Aparato Cardiovascular y Respiración de Ratas anestesiadas con Dial-Uretano.

Dosis mgs/kg Número de ratas Número de (Inyecciones)	Presión Arterial* (mm Hg)		Electrocardiograma* (Frecuencia Cardíaca)		Respiración (Ciclos por Minuto)	
	Control ^a	Δ o/o	Control ^a	Δ o/o	Control ^a	Δ o/o
<i>Calliandra molinae standley</i>						
20 mgs/kg 7 (14)	109.3 \pm 9.6	12.2** \pm 5.9	389.6 \pm 13.9	7.8 \pm 3.9	106.3 \pm 8.0	7.11 \pm 4.6
40 mgs/kg 7 (13)	108.5 \pm 9.6	33.4** \pm 4.9	385.4 \pm 12.9	7.15 \pm 2.58	103.4 \pm 9.1	12.4 \pm 5.2
80 mgs/kg 7 (19)	108 \pm 6.71	42.8** \pm 6.8	384 \pm 14.5	6.5 \pm 2.4	110.3 \pm 8.4	11.6 \pm 5.2

* Los datos representan el promedio y \pm error típico del promedio.

** Hipotensión estadísticamente significativa.

a Valores basales antes de administrar el extracto.

La administración I. V. del extracto de hojas de la planta produjo hipotensión.

Calliandra molinae Antes y Después de Difenhidramina y Cimetidina

La administración de 8 mcg/kg I.V. de histamina redujo ambas presiones sistólica y diastólica; cambió poco la frecuencia cardíaca e incrementó ligeramente la frecuencia respiratoria. La inyección intravenosa de *Calliandra molinae standley*

produjo cambios cardiorespiratorios parecidos. La inyección I.V. de difenhidramina 5 mgs/kg más cimetidina 18 mgs/kg redujo significativamente la hipotensión producida por la repetición de histamina pero solo bloqueó parcialmente la debida a los extractos de hojas de *Calliandra molinae standley* (Ver Tabla IV).

TABLA IV

Efectos Cardiovasculares y respiratorios de *Calliandra molinae standley* administrada antes y después de histamina, difenhidramina y cimetidina.

Procedimiento (Dosis)	Presión Arterial (mm Hg)*				Frecuencia Cardíaca (Por minuto)		Frecuencia Respiratoria* (Por minuto)	
	Sistólica Control	Δ o/o	Diastólica Control	Δ o/o	Control	Δ o/o	Control	Δ o/o
Histamina (8 mcg/kg IV.)	\pm 154.7 10.5	\pm 22.4 2.5	\pm 131 9.7	\pm 29.7 5.9	\pm 448 26.9	\pm 2.3 0.4	\pm 96.7 11.	\pm 15.0 6.2
<i>Calliandra molinae standley</i> (20 mgs/kg I.V.)	\pm 156.2 8.3	\pm 33.3 10.2	\pm 140 4.6	\pm 41.4 10.6	\pm 439.5 27.6	\pm 4.4 2.6	\pm 107.2 15.5	\pm 21.1 6.3
Difenhidramina 5 mgs/kg/I.V. + Cimetidina 18 mgs/kg I.V.								
Histamina (8 mcg/kg I.V.)	\pm 123.7 7.5	\pm 5.2 2.0	\pm 95 5.2	\pm 10.8 2.1	\pm 402 32.8	\pm 1.0 1.3	\pm 120 17.5	\pm 11.7 4.3
<i>Calliandra molinae standley</i> (20 mgs/kg I.V.)	\pm 131.2 11.2	\pm 21.2 10.9	\pm 106.2 10.9	\pm 32.3 7.8	\pm 414 35.1	\pm 3.2 5.0	\pm 107.2 17.1	\pm 20.5 6.7

Los datos representan el promedio y \pm error standard del promedio.

Calliandra molinae standley Antes y Después de Atropina

La administración de 5 mcg/kg de acetücolina por vía I.V. redujo la presión arterial con pocos cambios en frecuencia cardíaca y respiración. La inyección de *Calliandra molinae standley* produjo hipotensión importante y bradicardia y taquipnea muy leves. Al repetir dosis similares de acetücolina y *Calliandra molinae standley* después de sulfato

de atropina 2 mgs/kg I.V. la inyección de acetücolina aumentó ligeramente la presión arterial, modificó poco la frecuencia cardíaca y respiratoria; cuando se inyectó nuevamente el extracto de hojas de *Calliandra molinae standley* en lugar de bajar la presión arterial se elevó significativamente y luego descendió un poco pero no tanto como antes de dar la atropina, también se produjo bradípnea en lugar de taquipnea. (Ver Tabla V).

TABLA V

Efectos cardiovasculares producidos por acetilcolina y *Calliandra molinae* después de atropina.

Procedimiento (Dosis)	Presión Arterial* (mm Hg)		Frecuencia Cardíaca* (Por minuto)		Frecuencia Respiratoria* (Por minuto)	
	Control	Δ o/o	Control	Δ o/o	Control	Δ o/o
Acetilcolina (5 mcg/kg)	± 139 8.8	± 33.2 5.5	± 416.8 9.6	± 2 1.6	± 84.4 13.6	± 11.9 8.2
<i>Calliandra molinae</i> (40 mgs/kg)	± 139.4 6.4	± 24.7 2.97	± 412.8 6.94	± 4.1 6.8	± 94.2 14.	± 21.9 27.4
----- Atropina 2 mgs/kg I.V. -----						
Acetilcolina (5 mcg/kg)	± 128 9.6	± 8.7 5.97	± 396 12.7	± 0.6 1.3	± 69 9.6	± 10.5 10.1
<i>Calliandra molinae</i> (40 mgs/kg)	± 121.4 2.6	± 37 10.4	± 398. 13.9	± 4.3 1.6	± 114. 27	± 14.2 18.9

* Los datos se presentan como promedio y ± error standard del promedio.

La administración de atropina bloqueó los efectos hipotensores de acetilcolina y *Calliandra molinae standley*.fleco de Cobayo

Tanto la inyección de sulfato de histamina a la dosis de 20, 40 y 80 mcg/ml como la adición al baño de 80, 160, 520 y 640 mcg/ml del extracto de hojas de *Calliandra molinete standlye* produjeron contracciones del fleco de cobayo, mismas que fueron bloqueadas por difenhidramina a la dosis de 0.2 mgs/ml.

DISCUSIÓN

Durante los años de 1946 a 1949 se llevó a cabo una exploración botánica intensa de tres países centroamericanos: El Salvador, Honduras y Nicaragua; por los doctores Louis O. Williams y Antonio Molina R- de la Escuela Agrícola Panamericana, sitio que les sirvió de base de operaciones y que se encuentra localizado en el Valle del Río Yesguare al Sudeste de Tegucigalpa. Dicho trabajo dio como fruto el descubrimiento de plantas nuevas incluyendo al menos dos géneros y más de cien especies. La

Calliandra molinae standley especie nueva, fue descubierta en el Departamento de El Paraíso a lo largo del Río Lizapa en Galeras el 27 de Junio de 1945. Las *Calliandras* se reconocen por su corteza, gruesa parecida al corcho, que cubre las ramas nuevas y viejas, de allí que popularmente se le llama "Palo de Corcho".

Los árboles cuando grandes son distinguidos desde lejos por la forma aplanada de su parte superior y en su período de floración este árbol posee una gran belleza.

Los estudios neurofarmacológicos practicados en la Unidad de Farmacología usando extractos acuosos de "Palo de Corcho" revelaron pasividad, respuesta al tacto y dolor incrementadas; vocalización y otros cambios que no fueron relevantes. Cuando se administraron dichos extractos con 24 horas de antelamiento se observó un aumento significativo del tiempo de dormido producido por el pentobarbital sódico por lo que pudiese tener efectos inhi-

bidores del sistema microsomal hepático disminuyendo la biotransformación del barbitúrico en sus metabolitos inactivos, sin embargo es necesario descartar si produce hepatotoxicidad. La administración de difenhidramina bloquea la contracción producida por el extracto de *Calliandra molinae standley* en el íleo de cobayo (in vitro). En aparato cardiovascular produjo hipotensión sistólica y diastólica, efecto que es disminuido por el uso de difenhidramina y cimetidina y completamente bloqueada por atropina, en cuyo caso en lugar de observarse hipotensión apareció hipertensión arterial y también bloqueó la taquipnea que produjo el extracto antes de administrar dicho antimuscarínico. La fase hipertensora podría depender de una liberación de catecolaminas por la médula adrenal inducida por el extracto durante el bloqueo señalado. Con estos antecedentes resulta aceptable pensar que el mecanismo de acción hipotensor de los extractos acuosos de hojas de *Calliandra molinae standley* sea debido a efectos parasimpáticomiméticos e histaminérgicos, esta situación no es excepcional puesto que en otros laboratorios y en nuestra Unidad de Farmacología los extractos acuosos de hojas de *Casimiroa edulis llave et lex* produjeron efectos cardiovasculares parecidos cuyo mecanismo de acción involucra substancias como metilhistamina o acetil colina, asimismo con los extractos acuosos de hojas del popular "matasanos" detectamos pasividad y además prolongación significativa del tiempo de dormido producido por el pentobarbital sódico; aunque, de menor intensidad, igual tipo de cambios produce *Hiptis Sinuata*, "La Miona", otra de las plantas medicinales de Honduras perteneciente a la familia de las labiadas, pero el mecanismo de sus efectos cardiovasculares (hipotensión) está todavía en fase de estudio.

A GRADECIMIENTO

1. Al Dr. Concepción Ferrufino, Director Científico de la UNAH por su valioso apoyo a estas investigaciones.
2. Al Dr. Antonio Molina, por su valiosa colaboración en los aspectos botánicos.
3. A la P.M. y Sria. Melba Gloria Amador H., por su valiosa ayuda en la reproducción de este trabajo.
4. A las Autoridades de la nueva Universidad, por su apoyo a la investigación científica.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Standley, P. C: New Plante from Honduras. Ceiba 1950 vol. I No. 1, pág. 38.
- 2.- Andonie, H- L: Estudio Neurofarmacológico Preliminar de Algunas Plantas Nacionales. Tesis de Grado, 1982 Facultad de Química y Farmacia UNAH, pág. 25.
- 3.- Cambar, P. J., Fortín de Pineda, M. G., Tabora, J. E. et al Estudio Preliminar sobre los Efectos Cardiovasculares del Extracto de Casimiroa edulis llave et lex. Revista Médica Hondurena 1980 48: 79, 81.
- 4.- Lozoya, X. Lozoya, M. CochítzapoÜ. Casimiroa edulis en Flora Medicinal de México. Primera parte 1982, Ed. Instituto Mexicano de Seguridad Social, Pág-130-147.
5. Turner, R. A.: Screening Methods in Pharmacology. Ist ed. New York London; Academic Press. Vol. I, 1965. Pág. 26-34.
6. Barastegui, A. C: Esquema y Prácticas de Farmacología 1977 Ed. Espax, España Pág. 69.
7. Me Leod, L. J.,'Staff: Univ. Edimburg Dep Pharmacol.: Pharmacological Experimenta on intact Preparations, 1970 15 ed. Edimbur-London: E. S. S. Livingsstone Ltd. Pág. 58.
- 8.- Kosterlitz, H. W., Lydon, R. J., Watt, A. J. The Effects of Adrenaline, Noradrenaline and Isoprenaline on Inhibitory Alfa and Beta-adrenoceptors in the longitudinal muscle of the guineapig ileum. Br. J. Pharmac. 39, 398-413, 1970,