

ACTIVIDAD ANTICONVULSIVANTE DEL EXTRACTO DE *Apium graveolens* L. EN RATONES

Mario F. Guerrero P. *, Carmen Lilia Gracia de García* y Blanca Meneses de Góngora*

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

RESUMEN

La actividad anticonvulsivante del extracto de *Apium graveolens* se evaluó en tres modelos de convulsión inducidos en ratones: electroshock, pentilentetrazol y ácido kaínico. Se efectuó el análisis Fitoquímico preliminar de la planta y su toxicidad aguda. El extracto etanólico de semilla por vía oral mostró actividad anticonvulsivante en el modelo de electroshock.

Palabras o Frases Claves: Anticonvulsivante - *Apium graveolens* - Electroshock - Modelos Experimentales de Epilepsia.

SUMMARY

ANTICONVULSANT ACTIVITY OF *Apium graveolens* IN MICE

The anticonvulsant activity of the extract of *Apium graveolens* was evaluated in three convulsant models in mice: electroshock, pentilentetrazole and kainic acid seizures. The preliminar phytochemical analysis and the acute toxicity of the plant were determined. The ethanolic extract of the seeds showed anticonvulsant activity, p.o., in the maximal electroshock seizure model.

Key Word or Phrases: Anticonvulsants - *Apium graveolens* - Maximal electroshock seizure - Experimental Models of Epilepsy.

INTRODUCCION

La epilepsia es un problema importante de salud pública en el país. Su prevalencia en nuestro medio es superior al 2% de la población (1), seis a siete veces más alta que la registrada en países industrializados. Actualmente hay una clara necesidad de nuevos agentes farmacológicos efectivos para el tratamiento de los trastornos epilépticos; si se tiene en cuenta que los disponibles en

el momento permiten controlar satisfactoriamente sólo un 50% de los pacientes, y apenas parcialmente un 25%. El 25% restante persiste resistente a la medicación (2), la cual por lo demás, no está exenta de efectos adversos potencialmente serios.

Las plantas medicinales constituyen una fuente muy rica de sustancias con actividad farmacológica; y hay un buen número que según la tradición popular tienen actividad anticonvulsivante, entre ellas el *Apium graveolens* (3, 4); el cual fue evaluado en este trabajo.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

10 Kilos de *Apium graveolens* L. variedad dulce (Umbelliferae) se adquirieron en un supermercado de cadena. Las semillas secas (variedad alto de Utah) se importaron. El material se clasificó por comparación en el Herbario Nacional Colombiano.

Preparación de extractos

Se estudiaron los extractos etanólicos, tanto de la semilla como de la parte aérea de la planta (tallo y hojas) y el extracto acuoso en la forma de zumo liofilizado del material vegetal. Se extrajeron 10 lb. de semilla previamente molida por maceración en etanol, agitación y concentración en un evaporador rotatorio a 40°C. (12 g. extracto). El extracto de la parte aérea del material vegetal previamente seco y molido (1000 g) se obtuvo por percolación en etanol y concentración (15 g. extracto). El zumo se obtuvo por presión de 4 Kilos de material vegetal fresco en un extractor, filtración al vacío y concentración en evaporador rotatorio (20g). El residuo obtenido de los tres extractos se suspendió en agua destilada, se liofilizó y se mantuvo a 4°C. En el momento de administrarlo se preparó en agua destilada.

Los extractos se administraron a las dosis de 500 mg/Kg, vo, (según ensayos preliminares) una hora antes del estímulo convulsivante. El volumen de administración fue de 0.01 ml/g. Con 50 g. de material pulverizado de

Recibido para su publicación: 30 de julio de 1997

Aprobada su publicación: 15 de agosto de 1997

hojas, tallo y semilla respectivamente se efectuó el análisis fitoquímico preliminar (5).

Biomodelos

Se utilizaron ratones albinos, colonia Suizos de 6-8 semanas, con un peso de 25-35 g. criados en el bioterio del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional.

Modelos Experimentales

Los parámetros fijados para los modelos experimentales utilizados en este trabajo aparecen en la Tabla 1. En las pruebas de convulsión en ratones, los criterios de protección de un tratamiento asumidos en cada uno de los modelos fueron los siguientes: en la convulsión máxima inducida eléctricamente, la ausencia de extensión tónica de las extremidades inferiores (6,7,8); en la convulsión inducida con pentilentetrazol la ausencia de movimientos clónicos en cabeza o extremidades (7,8); y en la convulsión inducida con ácido kaínico, la ausencia de movimientos de bamboleo en la cabeza y sacudidas o estereotipias en extremidades (9,10).

Tabla 1. Modelos Experimentales y Patrones

MODELO	PATRON (mg/Kg. V.O)	PROTOTIPO
Estímulo eléctrico 50 mA; 60Hz, 20ms	Fenitoina sódica 20	"Gran Mal"(6,7,8)
Pentilentetrazol 85 mg/kg. sc	Clonazepam 0,5	"Pequeño Mal"(7)
Acido kaínico 10 mg/kg. Sc.	Diazepam 10	Crisis parcial compleja (9,10)

Dosis efectiva-50

Con el extracto de semilla, se efectuó esta prueba con base en el método de Litchfield y Wilcoxon, para lo cual se tomó un total de 50 animales (11).

Pruebas de neurotoxicidad

La neurotoxicidad aguda en ratones se evaluó a través de la prueba del eje rodante (7,8). Además se efectuó la prueba de Irwing (12).

Diseño experimental y análisis estadístico

Se siguió un diseño de distribución de tratamientos completamente al azar para cada una de las pruebas de convulsión. Los tratamientos correspondientes fueron los tres extractos, (semilla, parte aérea y zumo), sustancia patrón, y agua destilada como tratamiento control. Cada animal se clasificó en una de dos categorías: protegido o no protegido, según la presencia o ausencia de convulsión. Para el ensayo de convulsión por electroshock se tomó un total de 186 ratones divididos en los tratamientos anotados. Para el de convulsión por pentilentetrazol, 186; y para el de convulsión por ácido kaínico 100 ratones. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la prueba de Chi². El nivel de significancia escogido fue de 0.05 (13,14).

RESULTADOS Y DISCUSION

Analisis fitoquímico preliminar

Los metabolitos presentes en los extractos de tallo, hoja y semilla de *Apium graveolens* L. se reportan en la tabla 2. Se resalta la presencia de derivados terpénicos en el extracto etanólico de semilla; puesto que la actividad biológica: antioxidante, antitumoral (15,16) y anti-convulsivante (3,4) de *Apium graveolens*, se atribuye a la presencia de derivados terpénicos tales como butilfitalato y sedanólido.

Tabla 2. Análisis Fitoquímico preliminar de *Apium graveolens* L.

METABOLITO	HOJA	TALLO	SEMILLA
Alcaloides	+	+	+
Flavonoides	+	+	-
Tanino	+	+	-
Naftaquinonas/	-	-	-
saponinas	-	-	+
Esteroides y	+	+	+
Lactonas terpenicas	+	-	+
Cumarinas	+	+	-
Cardiotónicos	-	-	-

Ensayos de convulsión y dosis efectiva -50-

Los resultados del ensayo de convulsión máxima inducida eléctricamente (electroshock) aparecen en la figura 1. Se observa que el extracto de semilla mostró actividad protectora similar a la presentada por la fenitoína sódica. Por lo tanto el extracto de semilla de *Apium graveolens* tendría un potencial promisorio para el tratamiento de las crisis tónico-clónica generalizadas en el humano (5,7). El extracto de la parte aérea también demostró alguna actividad, lo cual se correlaciona con la menor cantidad de los compuestos volátiles (17,18).

En el ensayo de convulsión inducida con pentilentetrazol, únicamente se observó respuesta protectora con clonazepam. En el ensayo de convulsión inducida con ácido kaínico no se observó protección con ningún tratamiento.

La determinación de la dosis efectiva -50- del extracto de semilla según el método de Litchfield y Wilcoxon (11) fue de 380 mg/kg (límites de confianza: 267-542 mg/kg). En el ensayo del eje rodante no se evidenció neurotoxicidad aguda del extracto de semilla, incluso a la dosis de 2 g/kg. La prueba de Irwing mostró una discreta depresión en la conducta espontánea de los ratones, a partir de la dosis de 500 mg/kg, entre los treinta minutos y las cuatro horas posteriores a la administración del extracto.

En conclusión, este estudio muestra una franca actividad anticonvulsivante del extracto de semilla de *Apium graveolens* en el método de convulsión máxima inducida eléctricamente en ratones, modelo de las crisis tónico-clónica generalizadas en el humano. Al respecto es importante anotar que en China, país de una rica tradición en medicina natural, se trabaja actualmente con derivados del ftalato de butilo, uno de los principales constituyentes aromáticos del apio, en la búsqueda de nuevas sustancias para el tratamiento de la epilepsia (4). Aquí se confirma la actividad anticonvulsivante de esta planta, particularmente de la semilla.

Agradecimientos

Los autores agradecen: al Programa de Investigación: "Búsqueda de Principios Bioactivos en Plantas Medicinales Colombianas" (copatrocinado por COLCIENCIAS), dirigido por el Profesor Roberto Pinzón; al Programa de Posgrado en Farmacología; a los profesores: Luz Estela O. de Nigrinis, y Fernando Ospina del Departamento de Farmacia; y al profesor Henry García del Centro de Estudios Interfacultades.

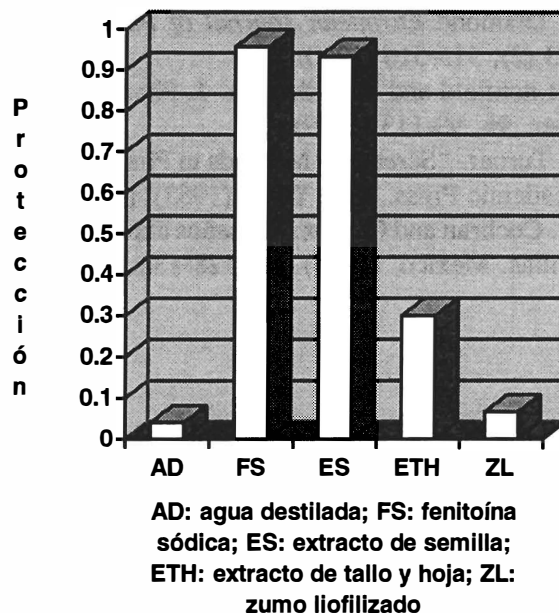


Figura 1. Efecto de los tratamientos en la convulsión inducida por electroshock. χ^2 : 130.1; p.0.05; 4 gl.

BIBLIOGRAFIA

1. C. Medina. Epidemiología. en "Epinotas Bogotá: Liga Colombiana Contra la Epilepsia". Bogotá. (1994) 1. p. 2.
2. W. Rall and L. Schleifer, en: "The Pharmacological Bases of Therapeutic" 8a. edición. Pergamon Press. New York. (1990). pp. 436-439.
3. A. Portilla, "Divulgación de conocimientos científicos sobre las plantas más útiles y conocidas en Colombia". Pasto: Luz. (1951). p. 31.
4. X-M Li and J-T.Zhang., ABP, a new type of antiepileptic agent. *European Journal of Pharmacology*. **183** (2), 609 (1990).
5. A. Sanabria. "Análisis Fitoquímico Preliminar". Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Farmacia. (1983).
6. E. Swinyard. En "Experimental Models of Epilepsy". Raven Press. New York (1972). pp. 435-457.
7. E. Swinyard. and J. Woodhead, "Experimental detection, quantification and evaluation of anticonvulsants". Woodbury ed. Raven Press. New York. (1972). pp. 435-451.
8. R. Krall *Epilepsia*. **19**, 409-428. (1978).

9. J. Olney. *Advances in Neurology*. **44**, 857-876. (1986).
10. B. Diamond *European Journal of Pharmacology*. **183** (2), 515-516 (1990).
11. J. Litchfield and F. Wilcoxon. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **96**, 99-113 (1949).
12. R. Turner. "Screening Methods in Pharmacology". Academic Press. New York. (1965). pp. 22-41.
13. W. Cochran and G. Cox. "Diseños experimentales" Trillas. México. (1974). pp. 128-132.
14. S. Siegel. "Estadística no paramétrica". Trillas. México. 3 ed. (1991). p. 120-210.
15. C. Zheng. *ACS Symp. Ser.* **546**, 230-238. (1994).
16. C. Zheng *Nutr. Cancer*. **19** (1), 77-86.(1993).
17. G. Macleod and J. Ames. *Phytochemistry*. **28** (7), 1817-24. (1989).
18. A. Macleod; G. Macleod and G. Subrananian. *Phytochemistry*. **27** (2), 373-5.(1988).