

ESTUDIO FITOQUÍMICO Y FARMACOLÓGICO DE UN ANTIARTRÍTICO DE ORIGEN VEGETAL

* MYRIAM MOYA S.

** JORGE E. OLARTE C.

I — INTRODUCCION

Las informaciones folclóricas acerca del poder antirreumático de la corteza de chuchuuaso nos indujeron a realizar un estudio de sus constituyentes químicos y de la acción farmacológica de los mismos.

Actualmente es muy poco lo que se ha adelantado en materia de farmacoterapia antiartrítica en contraste con el notable avance de la enfermedad. Dado el número de artríticos que circulan en nuestro medio (muchos de los cuales están incapacitados laboralmente) se justifica cualquier intento que se haga en busca de nuevos compuestos para su tratamiento.

También conviene recordar el gran número de efectos colaterales y efectos tóxicos que producen las drogas actualmente usadas en el tratamiento de la artritis.

La investigación se orientó principalmente hacia la comprobación del poder antiinflamatorio, efectos secundarios y toxicidad de los extractos totales y de los compuestos aislados de la corteza. Se ensayaron varias marchas fitoquímicas para la extracción de los principios activos, métodos de separación y purificación de compuestos y técnicas estandarizadas para determinar las diferentes acciones farmacológicas.

* Estudiante de Tesis.

** Profesor Asociado. Director de Tesis.

El trabajo se desarrolló en los Laboratorios de Investigación Fitoquímica y Farmacológica del Departamento de Farmacia y en la Sección de Análisis Orgánico del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional y se llevó a cabo dentro del programa "Estudio Científico de la Actividad Medicamentosa y de los Principios Activos de las Plantas de la Flora Colombiana, usualmente empleados como Medicinales", copatrocinado por Colciencias.

II — REVISION BIBLIOGRAFICA

1. ENFERMEDADES REUMATICAS

1.1. *Reseña histórica.*

Los fósiles que han encontrado los antropólogos nos permiten observar que las enfermedades reumáticas han existido desde épocas remotas, afectando tanto al hombre como a los animales. Existen escritos sobre estas enfermedades, pertenecientes a épocas antiguas, cuyos autores fueron Hipócrates y Celso, quienes denominaban a la gota, podagra.

Según Hollander (1) las afecciones reumáticas son aquellos estados en que predomina el dolor y la anquilosis de una parte del sistema esquelético, incluyendo las lesiones del tejido conjuntivo.

Actualmente no es posible establecer una clasificación rigurosa debido a la inexactitud e imprecisión de los términos: artritis, reumatismo, fibrosis, etc. Existen dos clasificaciones: una pertenece a la Liga Internacional contra el Reumatismo y la otra a la Asociación Americana contra el Reumatismo (2).

2. PROCESO INFLAMATORIO

Comenzaremos por definir qué se entiende por inflamación, cuáles son sus causas, qué reacciones ocurren en el proceso y cuántos tipos de inflamación hay.

Adams y Cobb (3) definen la inflamación como una serie de respuestas del tejido, frente a estímulos externos, los cuales pueden ser:

1º Biológicos (bacterias, hongos, virus).

2º Químicos (aceite de croton, dextrano, formalina).

3º Físicos (rayos X, luz U. V.).

Es probable que un factor endógeno, como es la reacción inmunitaria, puede iniciar una respuesta inflamatoria.

La serie de procesos que tienen lugar en la inflamación ocurren con una secuencia ordenada, aunque no necesariamente dependientes el uno del otro en su desarrollo. Por la anterior razón no existe una droga antiinflamatoria igualmente efectiva en todas las etapas de la inflamación y muchos actúan sólo sobre una fase de la reacción inflamatoria.

El proceso inflamatorio se divide en tres fases. Betriu (4).

1º Dilatación y aumento de la permeabilidad capilar de los vasos sanguíneos pequeños a las proteínas.

2º Emigración de leucocitos desde las venas y capilares hasta el área afectada. Se ha dicho que el factor responsable de la emigración leucocitaria es diferente del que produce aumento de la permeabilidad capilar. Los estudios de Northever (5) muestran que la acumulación inducida de leucocitos se reduce por los corticosteroides, no así por los agentes antiinflamatorios no esteroideos.

3º Desarrollo del exudado celular en los tejidos afectados, lo cual depende de la naturaleza e intensidad del daño producido en el tejido.

2.1. *Mecanismo bioquímico de la inflamación.*

Muchos autores entre ellos Lewis (6) opinan que el aumento en la permeabilidad capilar se debe a la liberación de histamina y serotonina, lo cual es anulado por la administración de inhibidores de la serotonina y antihistamínicos.

Hurley y Spector (7) han señalado como responsable de la infiltración leucocitaria a un factor no dializable y termolábil, presente en el suero y los tejidos y que no interviene en el aumento de la permeabilidad capilar.

Spector y Willoughby (8) atribuyen los cambios vasculares que ocurren en la inflamación aguda, a la destrucción de sustancias vasoconstrictoras locales como la adrenalina. Esto lo fundamentan

en el hecho de que el aumento de la permeabilidad vascular, producido tras el daño térmico, se inhibe por la iproniazida y otros inhibidores de la monoaminasoxidasa.

Estudios recientes demuestran que el salicilato de sodio y la aspirina aumentan el consumo de oxígeno en ratas, ratones y en el hombre. Casi todos los compuestos antiinflamatorios desacoplan la fosforilación oxidativa. Smith y Jeffrey (9) puntualizan que la mayoría de los efectos de los salicilatos en el metabolismo de los carbohidratos, se pueden explicar, justamente, en términos de desacople de la fosforilación oxidativa.

En síntesis se ha investigado mucho pero el mecanismo bioquímico de la inflamación no se ha dilucidado y los métodos para estudio de antiinflamatorios siguen siendo empíricos y no siempre efectivos.

3. METODOS DE ESTUDIO DE ANTIINFLAMATORIOS

La respuesta inflamatoria como ya se dijo es una reacción tisular polifásica, por lo tanto, todo compuesto antiinflamatorio debe estudiarse ante una serie de ensayos para ver en qué fase o fases de la inflamación es eficaz.

Los ensayos que se han utilizado para medir la capacidad antiinflamatoria son innumerables y se pueden dividir en cuatro grupos según que los procesos se basen en:

1º Eritemas.

2º Aumento de la permeabilidad capilar (Edemas).

3º Formación de tejido de granulación (Granulomas, "cotton pellets" etc.).

4º Otros:

a) Métodos de estudio "in vitro".

b) Métodos inmunológicos (artritis secundaria).

c) Actividad analgésica y antipirética.

3.1. *Eritema.*

El efecto de las drogas sobre la hiperemia inflamatoria se ha estudiado por la reacción del eritema ultravioleta en el cobaya.

Básicamente el método de estudio del eritema, es la medida del enrojecimiento de la piel de cobaya producido por radiación ultravioleta, después del tratamiento por vía oral con la droga anti-inflamatoria. Esta técnica tiene los inconvenientes de la inexactitud y subjetividad de la medida de la reacción eritematosa, la variedad de respuestas en los animales y la cantidad de ellas para que la prueba tenga validez estadística.

Una variación de esta técnica es la aplicación de nicotinato de tetrahidrofurfurilo (5%—) como agente causante del eritema. Por los dos métodos se demuestra la actividad de la fenilbutazona, de la indometacina y los salicilatos.

3.2. *Edemas.*

El edema comparado con el eritema representa la fase siguiente de la inflamación. Sobre él se mide el aumento de la permeabilidad vascular.

El método se realiza con ratas a las cuales se les produce la inflamación, mediante la administración de agentes flogísticos (albúmina de huevo, dextrano, carragenina y formol), en la pata posterior.

Winter y col. (10) aseguran que los agentes flogísticos no son influidos específicamente por los compuestos antiinflamatorios y responden a una gran variedad de drogas. Según los estudios de estos autores el edema al dextrano se inhibe por clorpromazina, antihistamínicos y algunos agentes adrenérgicos, pero no es inhibido por la cortisona y menos aún, por dosis altas de fenilbutazona. Encuentran efectiva la fenilbutazona, a dosis terapéuticas, frente al edema producido por el caolín y concluyen que el mejor agente flogístico es la carragenina (un mucopolisacárido derivado de un alga marina del género *Chondrus*). La respuesta a la carragenina es un estímulo local, no antigénico y tiene un grado alto de reproducibilidad.

El volumen del edema, cualquiera que sea el agente flogístico, se mide de la siguiente forma:

- a) Volumétricamente (midiendo el volumen de exudado).
- b) Gravimétricamente (pesando un área estándar del tejido).
- c) Usando el pletismógrafo (volumen de la pata).

El método clásico de medida del edema y el más ampliamente difundido es el de la pata de rata debido a la rapidez y facilidad

de la técnica. Además, ofrece la ventaja, de que el grado del edema y la supresión del mismo se pueden medir cuantitativamente y analizar los resultados estadísticamente.

Niomeggers y col. (11) probaron por este método 14 drogas antirreumáticas (3 esteroidales y 11 no esteroidales) y concluyeron que todas las drogas clínicamente consideradas como antirreumáticas tienen actividad en el edema de la pata de rata y que este ensayo proporciona relaciones dosis-respuesta que permiten análisis cuantitativos. Dichas drogas son efectivas a dosis que no producen efectos secundarios. Betriu, C. (4) obtuvo inhibición del edema al dextrano con antihistamínicos y antirreumáticos.

Spector y Willoughby (8) en su estudio sobre agentes antiinflamatorios encuentran, que en el caso del edema de la pata de rata, la supresión del edema no parece proporcionar una apreciación de las propiedades clínicas de las drogas anti-inflamatorias de uso corriente.

3.3. *Granuloma.*

La acción anti-inflamatoria sobre la formación de tejido de granulación se puede evaluar mediante las técnicas de: la bolsa granulomatosa o la del "cotton pellets". Esta última, original de Mier, Shuler y Desaulles (12), consiste en implantar subcutáneamente un trozo de algodón o celulosa, en el abdomen de una rata y dejarlo allí durante 7 días. Durante este tiempo se forma un tejido de granulación alrededor y en el interior de los "pellets". Pasados los 7 días se sacrifican los animales, se les extraen los "pellets" junto con el tejido de granulación y se secan hasta peso constante. A continuación se calcula el peso del tejido formado.

Se han encontrado drogas no consideradas como anti-inflamatorias, activas en este bioensayo y algunas consideradas como antirreumáticas sólo son activas en dosis elevadas. Betriu, C. (4).

3.4. *Otros métodos.*

3.4. a) Métodos de estudio "in vitro".

Whitehouse (13) resume el efecto (in vitro) de las drogas anti-inflamatorias no esteroidales de la siguiente forma:

1. Unión a proteínas séricas.
2. Inhibición de la lisis eritrocítica hipotónica e hipertónica.

3. Unión de los grupos-NH₂ de la lisina.
4. Aceleración de la unión del ácido 5,5 ditio-bis-nitrobenzoico a grupos S-S de las proteínas del suero.
5. Disminución de la agregación de las plaquetas como respuesta al colágeno y otras sustancias.

Se han descrito métodos basados en las anteriores propiedades, usando como patrones la fenilbutazona y la indometacina a diferentes concentraciones. Glenn y Bowman (14) han utilizado un método, basado en la inhibición que producen los antiinflamatorios sobre la liberación de deshidrogenasa láctica y de fosfatasa ácida por las plaquetas.

Wright y Malowista (15) miden la actividad de drogas antiinflamatorias, sobre la movilización de enzimas granulares dentro de las células y su liberación fuera de la célula. Su técnica consiste en aislar leucocitos de sangre humana por sedimentación con dextrano, incubarlos a 37.5° C. por 30 minutos en un medio bufferizado de suero autólogo con y sin coelechicina, cortisol, salicilato de sodio y aspirina, luego con y sin estafilococos muertos por calentamiento. Después miden las actividades celulares y extracelulares de las enzimas granulares (lisosima, fosfatasa ácida y catepsina). La movilización celular y la liberación extracelular de las enzimas granulares por leucocitos fagocitantes son inhibidas por la coelechicina y la hidrocortisona pero no lo son por los salicilatos.

Mizushima (16) basado en la hipótesis de que el mecanismo de acción de las drogas antirreumáticas, está relacionado a su interacción con las proteínas, estudió el efecto de varias drogas sobre la estabilidad de las proteínas plasmáticas "fracciones IV y V" frente al calor.

3.4. b) Métodos inmunológicos.

Se basan en las reacciones inflamatorias producto de la interacción antígeno-anticuerpo. Se han ensayado reacciones de hipersensibilidad inmediata, artritis anafiláctica, anafilaxis pasiva e hipersensibilidad retardada. Estas reacciones sirven para probar la acción de los compuestos antiflogísticos, sobre la respuesta vascular aguda y la aplicación clínica sería en el tratamiento del reumatismo agudo o de la glomerulonefritis.

3.4. c) Actividad analgésica y antipirética.

En el proceso inflamatorio se presenta normalmente dolor e hiperemia, por lo cual se investigan técnicas para valorar estos parámetros.

Randall (17) induce el dolor en ratas por inyección de un agente flogístico en la pata, presiona el área inflamada y compara la reacción con la producción de dolor en la pata control.

Gordonoff (18) mide el umbral del dolor por estimulación eléctrica de la pulpa dental de conejo; utiliza esta técnica para valorar la fenilbutazona, la sulfinpirazolona, la oxifenilbutazona y la aminopirina.

El método de Gross (19) es muy efectivo para medir el poder analgésico. Consiste en medir el tiempo de reacción del ratón (retirada de la cola) ante una estimulación con luz radiante o calor.

El método de la placa caliente se basa en cronometrar el tiempo de reacción del ratón cuando se le coloca en una campana de vidrio a una temperatura de 56° C. Este método ofrece gran seguridad ya que los resultados son reproducibles y se pueden tratar estadísticamente.

III — MATERIALES Y METODOS

1. MATERIALES

1.1. *Material botánico.*

Se trabajó con corteza del tronco de chuchuuaso recolectada por el señor Isidoro Cabrera en la Intendencia del Amazonas, cerca de Leticia, trocha hacia Tarapacá.

En el Herbario Nacional Colombiano reposa un ejemplar botánico clasificado por el doctor H. García-Barriga y denominado científicamente "Maytenus laevis Reiss" número 141.886.

Las características morfológicas y botánicas de esta familia se encuentran extensamente descritas por H. García-Barriga (20).

1.2. *Material biológico.*

Para los estudios de toxicidad, poder analgésico, comportamiento matriz se usaron ratones. Para la determinación del poder antiinflamatorio se emplearon ratas de una misma camada (igual edad), cuyo peso variaba entre 100 y 200 g. Los animales no se

habían utilizado con fines experimentales. El efecto sobre la presión sanguínea se determinó en perros anestesiados con pentobarbital sódico mediante la técnica convencional en arteria carótida. La acción antihistamínica se valoró sobre ileon de cobaya.

2. METODOS

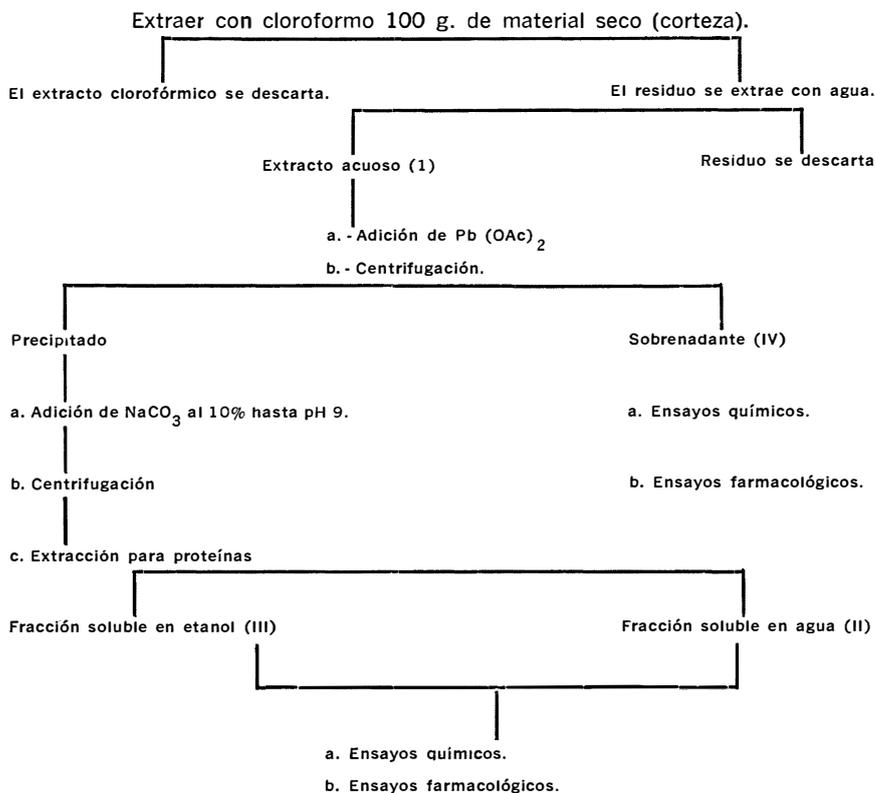
2.1. *Análisis fitoquímico.*

2.1. a) Marcha fitoquímica según Wall y col. (21) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Wall (1954).

La marcha se realizó según Wall y col., con algunas modificaciones. Se efectúan pruebas específicas para los siguientes grupos de sustancias:

1. Saponinas; 2. Heterósidos cardiotónicos; 3. Alcaloides; 4. Taninos; 5. Acidos; 6. Fenoles; 7. Esteroles; 8. Flavonoles.

2.1. b) Marcha para aislar principios antiinflamatorios según Goldberg A. (22).



Esta marcha utilizada por Goldberg A. y colaboradores para el aislamiento de un principio con poder antiinflamatorio, nos llevó a la obtención de principios sin acción farmacológica. Es de anotar que los principios aislados por este autor muestran algunas reacciones o características en común con las que presenta la fracción colorante aislada de chuchuuaso pero difieren fundamentalmente en la solubilidad.

2.1. c) Preparación de los extractos para pruebas farmacológicas.

1. Extracto acuoso.

Sinónimo: principios obtenidos por extracción acuosa.

Se toma una cantidad pesada de polvo de corteza de chuchuuaso, se agrega agua en cantidad suficiente, se coloca a baño de maría y se extrae por media hora. Se deja decantar y se filtra. Esto se realiza por tres veces, los filtrados se reúnen y se concentran al volumen deseado.

2. Extracto alcohólico.

Sinónimos: extracto total, principios obtenidos de la extracción alcohólica.

Se pesa una cantidad de polvo de corteza de chuchuuaso, se extrae a reflujo con etanol 95% por un tiempo de 15 minutos. Se decanta y se filtra. Esto se repite dos veces más, la solución alcohólica resultante se seca al baño de maría y el residuo seco se extrae con agua caliente para luego filtrar y llevar al volumen necesario.

2.1. d) Extracción y purificación de la fracción colorante.

El compuesto que presenta mayor interés es una sustancia de color rojo que interfiere en las pruebas de coloración y precipitación, por lo cual debe aislarse de las demás. Como veremos posteriormente este principio, que originalmente se quería desechar, resultó ser el responsable de la acción antiinflamatoria.

Para separar la fracción colorante se determina su solubilidad (procedente del extracto seco total) en diferentes solventes. Los solventes ensayados son: benceno, etanol, agua, acetona, butanol, alcohol isoamílico, cloroformo, ácido acético, éter etílico, éter de petróleo, ácido clorhídrico, solución de hidróxido de sodio, solución de bicarbonato de sodio y ácido sulfúrico.

De acuerdo a los resultados de solubilidad se sigue el proceso de extracción de esta forma: 300 g. de polvo seco de corteza se someten a reflujo, con alcohol de 95%, hasta extracción total. El extracto se lleva a sequedad, se desengrasa con el fin de ayudar a la precipitación sometiendo a reflujo con éter etílico. A continuación se disuelve el residuo desengrasado en alcohol de 95% y se precipita el colorante con una mezcla de éter etílico-éter de petróleo (70:30). Se deja en maduración durante 24 horas, después de las cuales se filtra y el filtrado se destila para separar el éter de la capa alcohólica, la cual se concentra para efectuar una nueva precipitación. El colorante se seca en estufa a baja temperatura o a baño de maría.

Cromatografía.

Para la purificación por cromatografía en capa delgada se usa como adsorbente sílica gel G, como reveladores cloruro férrico al 5% y ácido fosfomolibdico. Se emplearon 64 mezclas de solventes sin lograrse una buena separación.

El colorante se adhiere al soporte dejando bandas más o menos anchas a lo largo del recorrido. También se ha ensayado la cromatografía en papel con iguales resultados.

2.1. e) Análisis químico de la fracción colorante.

1. Se practica un análisis preliminar, elemental y funcional mediante reacciones químicas. Lógicamente gran número de reacciones específicas no se pudieron realizar debido a que el color del compuesto enmascara otras coloraciones.

2. Determinación del espectro infrarrojo. Este espectro se toma en forma sólida, en espectrofotómetro Perkin - Elmer.

3. Determinación del espectro ultravioleta y del espectro al visible. El espectro se realiza con metanol R. A. y debido a la coloración se hace concentrado para la zona del visible y diluido para el ultravioleta.

2.2. *Experimentación farmacológica.*

2.2. a) Comportamiento motriz.

Técnica. Se coloca en el actógrafo un ratón de peso conocido, se registra en un quimógrafo su actividad motriz normal durante

un tiempo de 10 minutos. Se inyecta, por vía intraperitoneal, el animal con la droga a ensayar y se registra el comportamiento a los 10, 30 y 45 minutos después de la inyección. El ensayo se realiza con 5 ratones por dosis y por droga. Para observar la influencia del pH sobre el comportamiento motriz se hicieron registros con soluciones de pH igual al de los extractos ensayados.

<i>Droga</i>	<i>Dosis ensayadas</i>	
Principios de la extracción alcohólica:	0.1	g/kg.
	0.5	g/kg.
	1.3	g/kg.
	3.0	g/kg.
Principios de la extracción acuosa:	0.10	g/kg.
	0.25	g/kg.
	0.50	g/kg.
	1.50	g/kg.
Fración colorante en solución acuosa:	10	mg/kg.
	100	mg/kg.
	140	mg/kg.

2.2. b) Poder analgésico.

Técnica. Se realiza una variación en el método de la placa caliente, la cual consiste en calentar agua y mantenerla a una temperatura constante de 56° C. con un termostato. Se introduce en el agua la campana de vidrio y se coloca dentro de ella el ratón. Se cronometra el tiempo que tardan los ratones en reaccionar ante el calor (levantan las extremidades anteriores), antes y 15 y 40 minutos después de la administración subcutánea. Se utilizan 10 animales por dosis y por droga.

<i>Droga</i>	<i>Dosis ensayadas</i>	
Fración colorante:	100	mg/kg.
	50	mg/kg.
Dipirona:	100	mg/kg.
Aspirina:	100	mg/kg.
Extracto total:	1.2	g/kg.

Los resultados se tratan estadísticamente.

2.2. c) Poder antiinflamatorio.

Se emplea el método clásico del edema de la pata de rata, con algunas variaciones, en cuanto a la forma de medir el volumen de ella.

Métodos para la Medida del Edema.

Técnica de la jeringa. Se utiliza un aparato que consta de:
a) un depósito de mercurio con un tubo de salida para calibración del nivel cero (0) del mercurio; b) Un tubo de polietileno de longitud conocida; c) Una jeringa para sacar y medir el volumen de mercurio desplazado.

En el tubo se introduce la pata de la rata y el volumen desplazado se mide con la jeringa.

El método presenta como inconvenientes: lo dispendioso del regreso del mercurio al recipiente, las variaciones en el nivel, la facilidad con que se derrama el mercurio, la demora en las lecturas y la dificultad de ser ejecutado por una sola persona.

Técnica del nonio.

Se mide la inflamación tomando las longitudes plantares de la rata con un nonio o calibrador sensible. Las medidas que se toman son: longitud plantar, diámetro de la primera articulación y la distancia comprendida entre la articulación del maléolo y la superficie plantar.

Se presentan las siguientes causas de error: la dificultad de inmovilizar el animal, la imposibilidad de asegurar un ajuste adecuado del nonio y la imprecisión por el cálculo matemático del volumen.

A continuación se describe el método que ofrece mayores ventajas para la determinación de la medida de la inflamación.

Técnica con fisiógrafo.

La droga en suspensión acuosa se administra por vía oral mediante sonda gástrica, en un volumen de 1 mL. por 100 g. de peso corporal. Se adiciona agua por la misma vía hasta completar un volumen de 5 mL para cada rata. Se suministran 5 mL de agua a los animales de control para asegurar una hidratación uniforme. La droga se administra una hora antes de la aplicación del agente flogístico.

Se provoca el edema en la región metatarsiana por la inyección, bajo la cara plantar, de 0.1 mL. de solución de dextrano al 6% en agua para inyección.

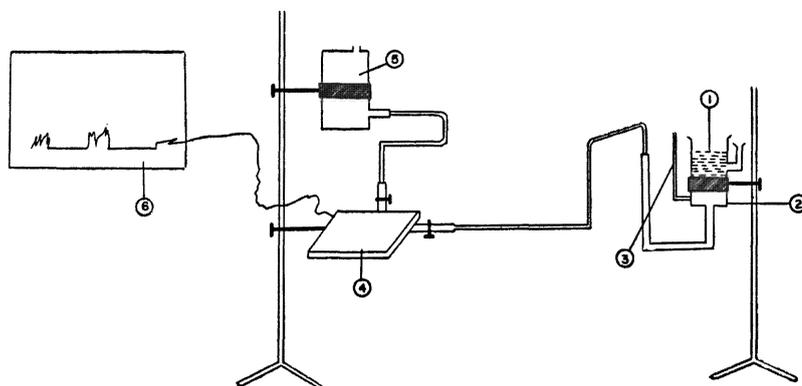
El método para la medida del volumen es una adaptación del empleado por Winter, Risley y Nuss (1966) y consiste en: sobre la piel del maléolo lateral, se hace una marca para limitar la zona que debe introducirse en el líquido. Se sumerge la pata de una rata no anestesiada, en un volumen de mercurio exactamente ajustado a una marca o nivel (0). El mercurio se coloca en un aparato especialmente diseñado para este fin, una de cuyas ramas se conecta al transductor de presión de un fisiógrafo DMP 4A, en el cual se determina indirectamente el volumen desplazado, mediante el registro de las variaciones de presión debidas a la altura de la columna de mercurio.

Se emplean, para cada ensayo, ratas de la misma camada con pesos entre 100 y 150 g. Para cada droga y dosis diferente se hicieron cuatro determinaciones, en cada una de las cuales se emplearon dos animales y a cada uno de ellos se le tomaron tres lecturas de su volumen plantar. Las medidas del volumen se hacen: inmediatamente después de administrar la droga a ensayar (V₀), después de dos horas de la inyección de dextrano (V₂) y tres horas después de la misma inyección (tiempo en el que se alcanza la máxima inflamación y estabilidad de la reacción) (V₃).

Para la valoración rutinaria de la potencia de drogas antiinflamatorias, el incremento de volumen a las tres horas se adopta como medida del efecto.

Descripción del Aparato: Figura número 1.

1. Depósito de mercurio en el cual se sumerge la pata de rata.
2. Tubo en U para equilibrar la presión atmosférica.
3. Rama de precisión: capilar cuyo cero (0) indica el nivel al que se debe mantener el mercurio.
4. Transductor de Presión.
 - 4-A Salida al depósito de mercurio. Esta conexión se hace con un tubo de polietileno y por ella circula solución salina.
 - 4-B Salida al calibrador de presión.
5. Calibrador de presión. Es un frasco de Mariotte con solución salina que alimenta a 4-A y 4-B.
6. Fisiógrafo.



- ① depósito de mercurio
- ② tubo en u
- ③ rama de precisión
- ④ transducer de presión
- ⑤ calibrador de presión
- ⑥ fisiógrafo

<i>Drogas</i>	<i>Dosis ensayadas</i>	
Aspirina:	350	mg/kg.
Indometacina:	4.0	mg/kg.
	6.0	mg/kg.
	8.0	mg/kg.
Fenilbutazona:	60	mg/kg.
	65	mg/kg.
Principios extraídos con alcohol:	1.5	g/kg.
Solución acuosa de la fracción colorante:	60	mg/kg.
	200	mg/kg.
	250	mg/kg.
	300	mg/kg.

Expresión de los resultados.

Para cada animal se calcula el volumen promedio de las tres lecturas, a cada uno de los diferentes tiempos. Este volumen se promedia con el encontrado para el animal que se trata con la misma droga a igual dosis. De esta forma se encuentran los volúmenes promedio iniciales y después de dos y tres horas de la inyección de dextrano.

La inflamación producida en los animales de control, a los cuales se les administra únicamente agua, se toma como máximo, es decir, como el 100% de inflamación. El porcentaje de inhibición de la inflamación según la fórmula 1, se determina: $1 - \% \text{ inhibición} = 100 - \% \text{ inflamación}$.

Es más segura la lectura a las tres horas por los siguientes factores:

- El edema ha alcanzado su punto máximo y su máxima estabilidad.
- La dosis activa de la droga se ha absorbido.

2.2. d) Toxicidad.

Toxicidad crónica.

Técnica. La toxicidad crónica se determina durante un período de 5 semanas, por la administración diaria de una solución de la droga en el agua de bebida a grupos de 5 ratones.

Se emplean como controles dos grupos a los cuales se les da solamente agua. Los animales se mantienen en observación con el fin de encontrar síntomas tóxicos o problemas teratogénicos. Se comparan los cambios de comportamiento entre los grupos de ratones de control y los tratados.

Drogas ensayadas.

1. Principios extraídos con alcohol, disueltos en agua en una concentración del 10%.
2. Solución acuosa de la fracción colorante al 10%.

Diariamente se observan los ratones y se lleva un registro del volumen del líquido ingerido por grupo.

Toxicidad aguda.

Técnica. La droga se aplica por vía intraperitoneal a grupos de 5 ratones para cada dosis y droga. La observación dura 24 horas. Con los datos obtenidos se elabora la curva de letalidad.

Las drogas ensayadas se indican a continuación:

<i>Drogas</i>	<i>Dosis ensayadas</i>	
Principios extraídos con alcohol:	1.1	g/kg.
	2.2	g/kg.
	3.3	g/kg.
	3.8	g/kg.
	4.0	g/kg.
	4.5	g/kg.
	5.0	g/kg.
	5.5	g/kg.
Fracción colorante en solución acuosa:	15	mg/kg.
	50	mg/kg.
	80	mg/kg.
	120	mg/kg.
	160	mg/kg.
	200	mg/kg.
	250	mg/kg.
	300	mg/kg.

2.2. e) Influencia en la velocidad de sedimentación de los glóbulos rojos de la rata.

Técnica. Se toma sangre de una rata recientemente sacrificada, se defibrina, se le agrega solución salina isotónica y se centrifuga. Los glóbulos rojos se suspenden al 2% en solución salina fisiológica. En cada uno de los tubos de ensayo se colocan 4 mL de suspensión de glóbulos rojos y se añade 1 mL de la solución de la droga en agua, a una concentración del 1%. En la primera serie de tubos se usa como agente aglutinante gelatina al 30% y en la otra se utiliza dextrano al 15%.

Las drogas ensayadas fueron:

- Fenilbutazona.
- Indometacina.
- Fracción colorante.
- Fracción no colorante.
- Extracto total.

La sedimentación se observa a intervalos continuos de tiempo aprovechando la graduación de los tubos. La medida es subjetiva y la sedimentación en cada tubo debe compararse con la producida en el tubo que contiene el agente aglutinante y los glóbulos rojos. También se deja para comparar con un tubo que solamente contiene la suspensión de glóbulos rojos.

Este ensayo permite diferenciar los antiinflamatorios esteroideos de los no esteroideos, ya que estas sustancias no esteroideas impiden la aglutinación de los glóbulos rojos.

2.2. f) Acción sobre la presión arterial.

Se estudia la acción de la droga sobre la presión carotídea en perros administrando las dosis por la vena safena externa. El pH de las soluciones de las drogas es controlado previamente y ajustado a 6.5.

<i>Drogas</i>	<i>Dosis ensayadas</i>	
Extracto total:	0.5	g/kg.
	1.0	g/kg.
	3.0	g/kg.
Fracción colorante:	0.5	g/kg.
	1.0	g/kg.

2.2. g) Acción antihistamínica.

Técnica. Se determina en intestino delgado (íleon) aislado de cobaya. Se registran los movimientos del intestino en un baño que contiene solución Tyrode a una temperatura de 36° C. Las drogas empleadas fueron:

- Solución de histamina en concentración de 1 mcg/mL.
- Solución de difenhidramina en concentración de 1 mg/mL.
- Solución de la fracción colorante en concentración de 2 mg/mL.

Estas soluciones se agregan al baño, se observa el efecto producido en el órgano por cada droga durante 30 segundos, se registra e inmediatamente se lava con solución Tyrode y se deja un tiempo suficiente para la recuperación (15 minutos). El orden de aplicación de las drogas es el siguiente:

1. Histamina (H).
2. Fracción colorante-Histamina (FC-H).
3. Fracción colorante (FC).
4. Difenhidramina-Histamina (DF-H).
5. Histamina (H).

IV — RESULTADOS Y DISCUSION

1. *Análisis fitoquímico.*

1.1. *Marcha fitoquímica según Wall y colaboradores.*

<i>Principio activo</i>	<i>Ensayo</i>	<i>Resultado</i>
Saponinas	Prueba de la espuma	+
	Prueba de hemólisis	—
Heterósidos cardiotónicos	Acido 3,5 dinitrobenzoico	—
	Ensayo de Legal	—
	Ensayo de Keler-Killiani	—
Alcaloides	Mayer	
	Bouchardat	—
	Wagner	—
	Valser	—
	Dragendorff	—
	Hager	—
Taninos	Cloruro férrico 5%	+++
	Gelatina-sal	+++
Acidos orgánicos	Yodato-Yoduro	+++
Fenoles	Cloruro férrico	+++
	Acido fosfomolibdico	+
Esteroles insaturados	Liebermann-Buchard	+
	Salkowsky	+
Flavonoles	Acido clorhídrico concentrado y limaduras de magnesio	+

Tabla número I — Sustancias presentes en la corteza de chuchuuaso.

1.2. *Marcha para aislar principios antiinflamatorios de plantas.*

<i>Fracción</i>	<i>Reacción con FeCl₃</i>	<i>Poder antiinflamatorio</i>
I	Positiva	Positivo
II	Negativa	Negativo
III	Negativa	Negativo
IV	Negativa	Negativo

Tabla número II — Resultado de la marcha para antiinflamatorios vegetales.

Como se puede observar al realizar esta extracción no logró aislarse el principio que en nuestro caso es el responsable de la acción antiinflamatoria.

Esta marcha orientó la investigación hacia los compuestos que se eliminan o se precipitan con el subacetato de plomo, y que en este caso son los responsables de la acción farmacológica. De otra parte se descarta la posibilidad de que el principio activo sea una proteína como en el caso encontrado por Goldberg.

1.3. *Extracción y purificación de la fracción colorante.*

<i>Solvente</i>	<i>Solubilidad</i>
Benceno	Insoluble
Etanol	Muy soluble
Acetona	Soluble
Butanol	Poco soluble
Alcohol isoamílico	Escasamente soluble
Cloroformo	Insoluble
Agua	Escasamente soluble
Acido acético	Insoluble
Eter etílico	Insoluble
Eter de petróleo	Insoluble
Acido clorhídrico 10%	Insoluble

Tabla número III — Solubilidad de la fracción colorante.

Con los datos de solubilidad se encontró el método de separación descrito anteriormente y mediante el cual se obtuvo un rendimiento del 10%. El colorante se presenta como un polvo de color carmelito rojizo, el cual se descompone antes de fundir y arder con llama viva y fuliginosa.

La fracción no colorante presenta la particularidad de adherirse fuertemente a la porcelana con brillo asombroso, similar al esmalte y como característica química da reacciones de esteroides insaturados.

Como ya se dijo en páginas anteriores la cromatografía en capa delgada y con los solventes ensayados no proporcionó una purificación de la fracción colorante.

1.4. *Análisis químico de la fracción colorante.*

El análisis químico de la fracción colorante indica que es un compuesto aromático, de carácter ácido, que contiene nitrógeno, además de carbono, hidrógeno y oxígeno.

La fracción colorante presenta algunas reacciones características:

1. Ensayo con cloranil en dioxano: A unos cristales del compuesto se le añaden unas gotas de cloranil en dioxano. El resultado es la aparición de un color azul oscuro.

2. Ensayo con ferricianuro de potasio: A unos cristales del compuesto se le añade unas gotas de ferricianuro de potasio al 2.5% y después unas gotas de cloruro férrico al 2.5%. El resultado es la aparición de un color azul verdoso.

3. Ensayo con cloruro férrico: A una solución del compuesto se añaden unas gotas de cloruro férrico al 5%. El resultado es la aparición de una coloración azul oscura.

4. Ensayo con diazotización: El compuesto se disuelve en agua, se acidifica con ácido clorhídrico concentrado y se añade lentamente nitrito de sodio al 10%. La anterior solución se hace reaccionar con B-naftol (en medio básico). Inmediatamente aparece un color rojo verdoso.

Todo parece indicar que la fracción colorante, aislada de la corteza de chuchuuaso, es un fenol, el cual puede tener nitrógeno incorporado en su molécula. También es posible que el nitrógeno aparezca como una impureza.

A pesar del interés que presenta el estudio químico de la fracción colorante, no se profundiza sobre él porque éste no es el objetivo del presente trabajo.

1.5. *Experimentación farmacológica.*

1.5. a) Efectos sobre el comportamiento motriz.

Principios de la extracción alcohólica.

Dosis : 0.1 a 0.15 g/kg.

Efecto: Convulsiones ligeras.

Dosis : 0.5 a 3.0 g/kg.

Efecto: Depresión, acompañada de somnolencia y convulsiones intermitentes.

Principios de la extracción acuosa.

Dosis : 0.1 a 0.15 g/kg.

Efecto: Respuestas de menor potencia y semejantes a las del extracto anterior.

Fracción colorante.

Dosis : 10 a 200 mg/kg.

Efecto: Depresión y somnolencia.

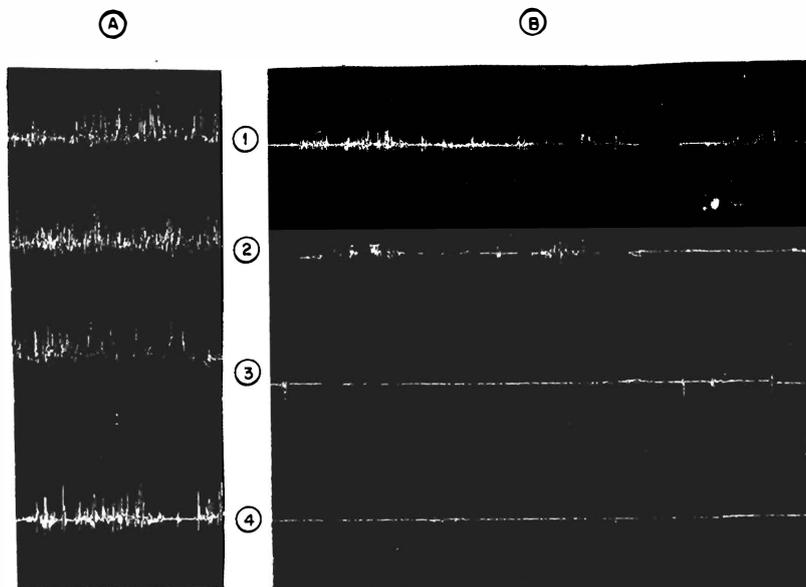


Figura número 2. — Efecto sobre el Comportamiento Motriz en ratón de los principios obtenidos por extracción alcohólica de la corteza de chuchuuaso. Vía I. P.

A = Registro Normal.

1: D = 3 g/kg.

2: D = 1,3 g/kg.

B = Respuestas.

3: D = 100 mg/kg.

4: D = 500 mg/kg.

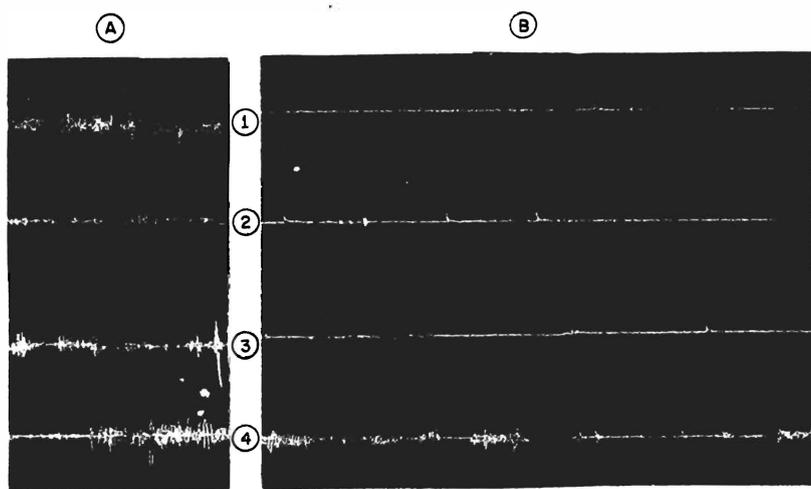


Figura número 3. — Efecto sobre el comportamiento motriz en ratón, del extracto acuoso de chuchuuaso. Vía I. P.

A = Registro Normal.

B = Respuestas.

1: D = 1.5 g/kg.

3: D = 250 mg/kg.

2: D = 500 mg/kg.

4: D = 100 mg/kg.

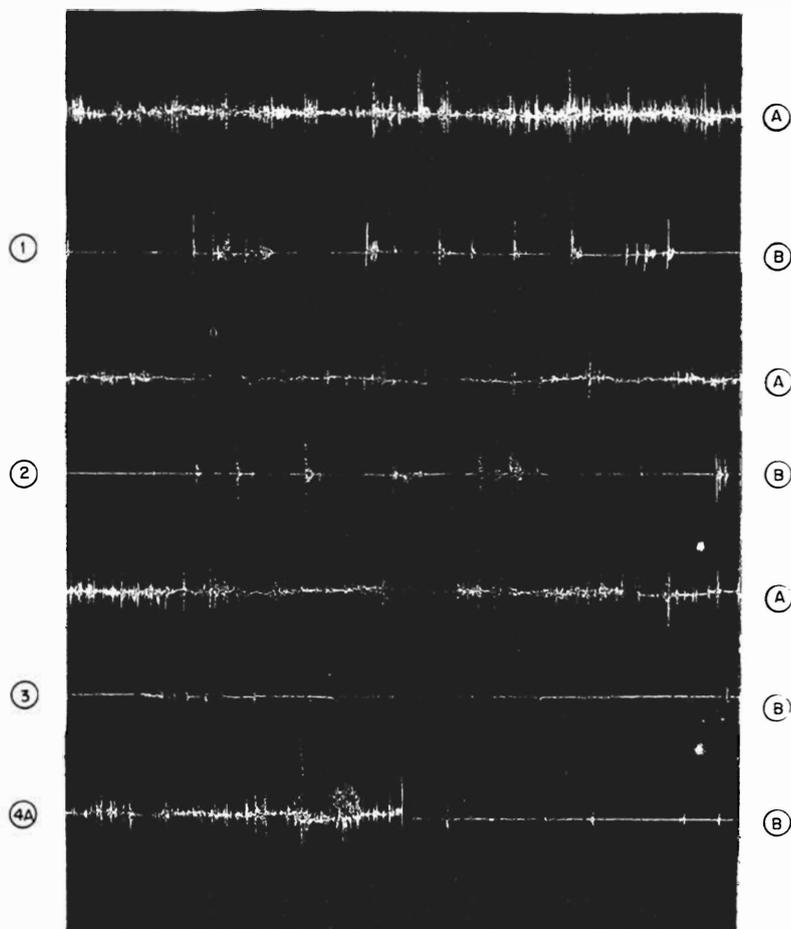


Figura número 4. — Efecto sobre el comportamiento motriz en ratón, de la fracción colorante del chuchuuaso. Vía I. P.

A = Registro Normal.

B = Respuestas.

1: D = 10 mg/kg.

3: D = 140 mg/kg.

2: D = 100 mg/kg.

4: Control con solución salina a pH = 5.6.

En los registros de las figuras 2, 3 y 4, la actividad motriz se encuentra disminuida, presentándose a intervalos irregulares convulsiones tónicas, las cuales desaparecen cuando se administra la fracción colorante pura.

1.5. b) Poder analgésico.

Método placa caliente modificada.

Animal de experimentación: ratones de peso entre 25 y 35 g. Los resultados se encuentran en la tabla número IV.

Estos ensayos sugieren que la fracción colorante, administrada por vía subcutánea y en dosis iguales a las de los analgésicos usados, presenta un efecto neto de protección al estímulo doloroso.

Los principios totales de la extracción alcohólica no presentan acción analgésica en este ensayo.

Los promedios de la tabla IV son el resultado de 10 datos y van acompañados de su correspondiente desviación estándar (S).

<i>Droga</i>	<i>Dosis</i>	<i>Umbral de respuesta</i>	<i>Tiempo de absorción</i>	
			15'	40'
Aspirina	100 mg/kg.	9.4 ± 1.9	12.6 ± 2.9	16.6 ± 3.8
Dipiro.ia	100 mg/kg.	9.9 ± 1.8	13.8 ± 1.6	14.2 ± 2.1
Fracción colorante ..	50 mg/kg.	8.3 ± 1.9	9.2 ± 0.7	9.3 ± 1.2
Fracción colorante ..	100 mg/kg.	9.4 ± 1.2	14.0 ± 1.2	20.8 ± 0.7
Principios extracción alcohólica	1.2 g/kg.	10.6 ± 4.1	10.8 ± 2.6	9.7 ± 1.1

Reacción: Tiempo promedio en segundos.

Tabla número IV — Comparación de la actividad analgésica.

1.5. c) Poder antiinflamatorio.

Técnica de la jeringa.

Técnica del nonio.

Con estos métodos se logró la estandarización de los parámetros que intervienen en una inflamación óptima, así como, la obtención de las dosis efectivas de las drogas.

Técnica con fisiógrafo.

Los resultados se encuentran en los fisiogramas 1 y 2, respectivamente.

La parte (A) del fisiograma corresponde a los volúmenes iniciales de la pata, las partes (B) y (C) son los volúmenes después de 2 y de 3 horas de inyectar el agente inflamatorio.

Para cada medida con una droga a una dosis dada se utilizaron 2 ratas y cada determinación se hizo por triplicado.

Las medidas de las variaciones de volumen que se registran en el fisiograma se determinan con una reglilla milimetrada. Estos valores se promedian y comparan con el patrón para calcular el porcentaje de inflamación. A partir de éste, por la fórmula:

$\% \text{ de inhibición} = 100 - \% \text{ de inflamación}$. Se obtiene el porcentaje de inhibición.

Cada fisiograma corresponde a un grupo de drogas que denominamos serie 1 y serie 2.

Cada serie de drogas se ensaya 4 veces en igualdad de condiciones. Los promedios de estos resultados aparecen en la Tabla V, junto con sus desviaciones estándar.

En el fisiograma número 1 aparecen los resultados de las drogas:

1. Indometacina	4 mg/kg.
2. Extracto total	1.5 g/kg.
3. Fracción colorante	250 mg/kg.
4. Fenilbutazona	60 mg/kg.
5. Indometacina	6 mg/kg.
6. Patrón	—

En el fisiograma número 2 aparecen los resultados de las drogas:

Fracción colorante	60 mg/kg.
Patrón	(agua)
Indometacina	8 mg/kg.
Fracción colorante	200 mg/kg.
Fracción colorante	300 mg/kg.
Aspirina	350 mg/kg.
Fenilbutazona	65 mg/kg.

En las figuras 5 y 6 se comparan los efectos de las diferentes drogas sobre los volúmenes de inflamación a las 2 y 3 horas después de haber aplicado el agente flogístico, es decir a las 3 y 4 horas de haberlas administrado.

La figura 7 representa la curva dosis-respuesta antiinflamatoria de la fracción colorante. Los datos para esta curva se toman

de la tabla V. Del análisis de la gráfica se deduce que las dosis superiores a 150 mg., no producen una acción antiinflamatoria proporcional al aumento en la dosis.

Como puede observarse a lo largo de la experimentación, las dosis de las drogas (fenilbutazona e indometacina) se encontraron dentro de los límites terapéuticos. La indometacina y la fenilbutazona se obtuvieron a partir de productos comerciales:

<i>Droga ensayada</i>	<i>Dosis</i>	<i>% de inhibición</i>	<i>Promedio</i>	<i>S</i>
Indometacina	4 mg/kg.	40.25 y 39.85 40.98 y 40.58	40.41%	0.41
Indometacina	5 mg/kg.	53.58 y 55.55 53.11 y 55.14	54.34%	1.02
Indometacina	8 mg/kg.	70.24 y 68.47 69.80 y 70.57	69.77%	0.79
Fracción colorante ...	60 mg/kg.	84.29 y 83.04 83.60 y 82.69	83.40%	0.65
Fracción colorante ...	200 mg/kg.	91.67 y 90.65 90.80 y 91.15	91.06%	0.41
Fracción colorante ...	250 mg/kg.	98.66 y 97.94 97.04 y 97.20	97.71%	0.64
Fracción colorante ...	300 mg/kg.	99.04 y 98.91 99.00 y 98.65	98.90%	0.15
Fenilbutazona	60 mg/kg.	30.87 y 31.12 29.50 y 31.47	30.74%	0.74
Fenilbutazona	65 mg/kg.	38.10 y 36.95 37.20 y 36.92	37.29%	0.47
Extracto total	1.5 g/kg.	36.91 y 36.04 37.70 y 36.76	36.85%	0.58
Aspirina	350 mg/kg.	82.15 y 80.21 81.40 y 81.90	81.41%	0.74

Tabla número V — Comparación de la inhibición del edema al dextrano (3 horas) por la aplicación de drogas antiinflamatorias.

Indocid de Merck Sharp Dohme y Butazolidina de Ciba-Geigy. La aspirina y la dipirona eran materias primas U.S.P.

Un análisis gráfico de los resultados de la tabla V se encuentra en la figura número 8 en la cual se comparan los efectos antiinflamatorios de las diferentes drogas ensayadas usando el sistema de gráficas en barras. Se aprecia en primer lugar que el

efecto de la fracción colorante puede llegar a superar el de la indometacina y el de la fenilbutazona. La aspirina sólo a dosis tóxica tiene una potencia igual a la fracción colorante.

Es importante anotar que el efecto (Figura número 8) producido por el extracto total (36.8% de inhibición) es menor al que pudiera esperarse, considerando que en la dosis del extracto (1.5 g.) hay aproximadamente 120 mg. de fracción colorante y cuando esta fracción se administra sola, a dosis de 60 mg., se obtiene un efecto considerablemente mayor (83.4% de inhibición).

1.5. d) Toxicidad.

Toxicidad crónica.

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA COMPARADA FRENTE AL EDEMA DEXTRANO

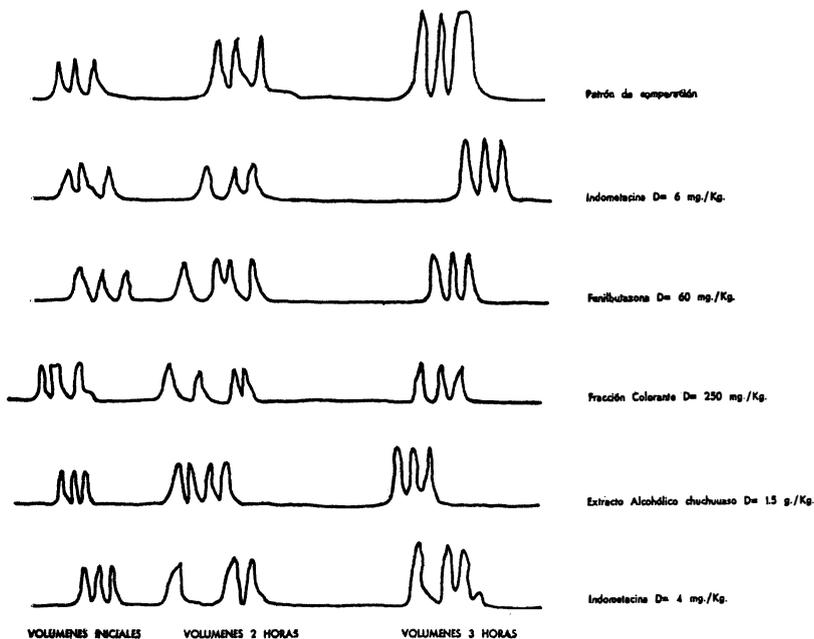


Figura número 5.

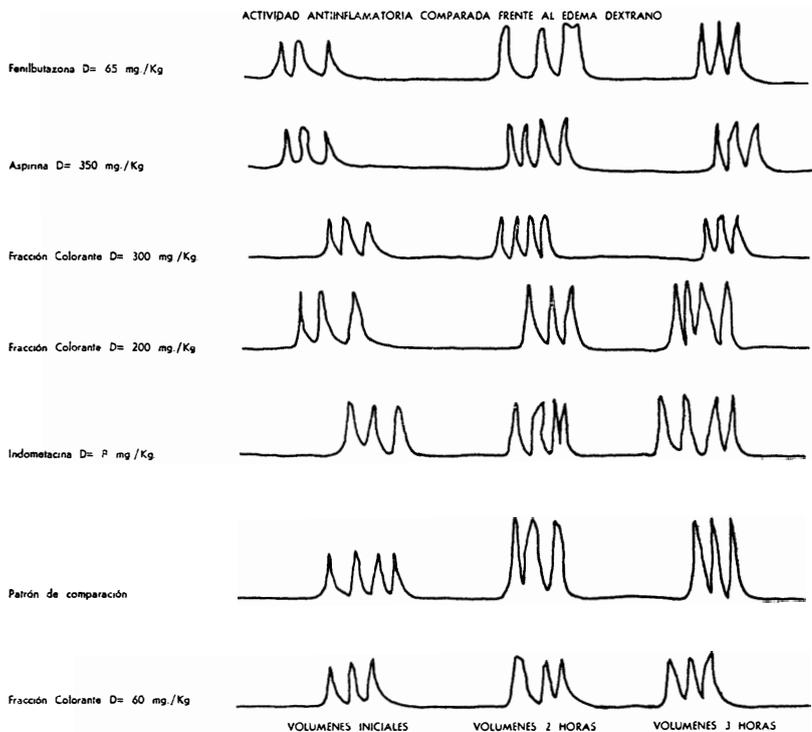


Figura número 6.

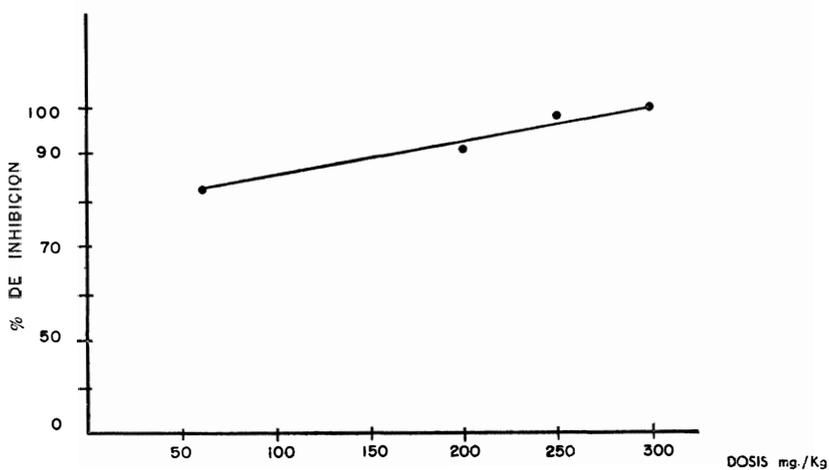


Figura número 7. — Curva Dosis - respuesta de la fracción colorante.

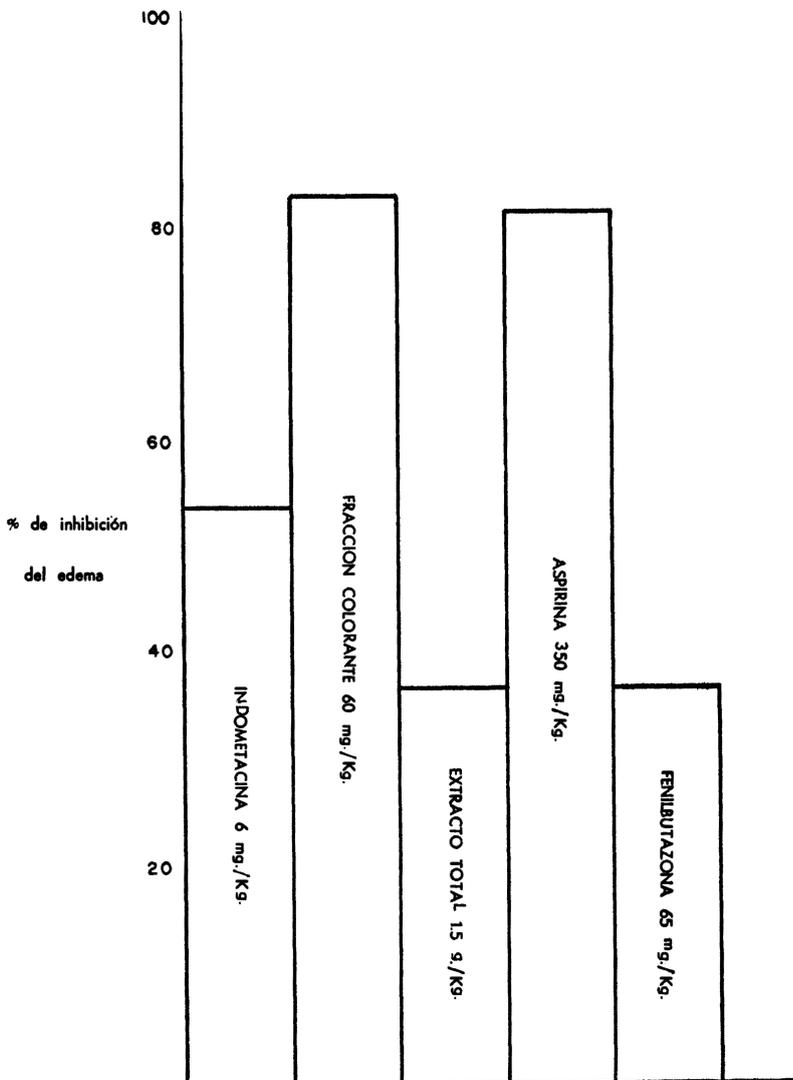


Figura número 8. — Acción antiinflamatoria de diferentes drogas frente al edema producido por inyección local de dextrano en la pata de rata.

Promedio de droga diaria por ratón:

Extracto total	7 mL. (0.7 g.)	D = 20 g/kg.
Fracción colorante	4.7 mL. (470 mg.)	D = 13.4 g/kg.
Agua	3.9 mL.	

Se encontró un aumento considerable en la ingesta de agua cuando se administra extracto total. Los resultados revelan que las drogas no son tóxicas por vía oral, ya que aún a dosis elevadas (13.4 g/kg. diario) no se presentan efectos tóxicos.

1.5. e) Influencia en la velocidad de sedimentación.

La velocidad de sedimentación de los glóbulos rojos de rata no varió mucho para las drogas ensayadas. Sólo el extracto total y la *fracción no colorante* produjeron una aglutinación rápida de los glóbulos rojos y hemólisis. Podría ser, que en las drogas que aglutinan los glóbulos rojos existan grupos esteroidales causantes de la reacción.

1.5. f) Acción sobre la presión arterial.

Las drogas, a las dosis ensayadas, no presentaron acción sobre la presión carotídea del perro.

1.5. g) Acción antihistamínica (figura número 9).

De acuerdo a uno de los métodos de estudio de antihistamínicos, se buscó la concentración de fracción colorante que podía disminuir, en un 50% aprox., la respuesta a la aplicación de histamina.

Se observa que la fracción colorante por sí misma produce un aumento de los movimientos del intestino de cobaya, lo cual no impide que antagonice la acción de la histamina.

ACTIVIDAD ANTIHISTAMINICA

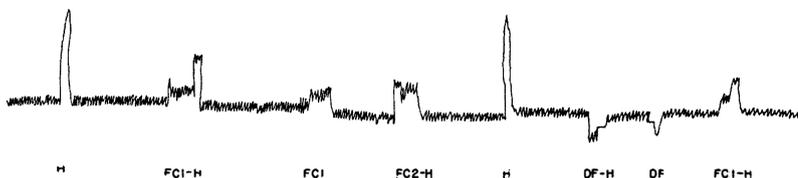


Figura número 9. — Actividad antihistamínica.

- H = Histamina (1 gota de solución C = 1 µg/mL)
- FC 1 = Fracción colorante (10 gotas de solución C = 2 mg/mL)
- FC 2 = Fracción colorante (1 mL de solución C = 2 mg/mL)
- DF = Difenhidramina (3 gotas de solución C = 1 mg/mL)

Se presenta especificidad en la acción de la fracción colorante lo cual indicaría una mayor selectividad en este efecto antihistamínico.

DISCUSION DE RESULTADOS

Nuestros resultados de la parte fitoquímica difieren de los encontrados por Grajales, J. (1967) ya que este autor encontró alcaloides estimulantes en la corteza de *Maytenus laevis* Reiss (coleccionada en la Intendencia del Vaupés) y en el presente estudio no se encontró ningún tipo de alcaloide.

La fracción colorante se separó en un principio con el objetivo de evitar interferencias colorimétricas en las reacciones, posteriormente se demostró que esta fracción es la responsable de la acción farmacológica. Como se puede apreciar en las tablas, la potencia antiinflamatoria (edema al dextrano) de la fracción colorante es apreciable comparada con la de drogas antirreumáticas de efectividad conocida como son la fenilbutazona y la indometacina.

La comparación de nuestros resultados con los obtenidos por otros autores confirma lo dicho por Wilhelmi (1965) y Winter (1966), respecto a que la potencia antiinflamatoria relativa de las distintas drogas varía con el método, pero trabajándose en igualdad de condiciones y comparativamente se llega a resultados confiables. Las dosis efectivas para las drogas utilizadas se determinaron teniendo en cuenta varios factores, como fueron las diferencias en la velocidad de absorción y eliminación, diferencias en el mecanismo de reacción y efectividad ante determinada fase de la inflamación.

Los efectos analgésico y depresor del comportamiento motor, la actividad antihistamínica y la actividad antiinflamatoria, son las propiedades farmacológicas encontradas para la fracción colorante aislada del *Maytenus laevis* Reiss.

Se ha dicho que el edema al dextrano es fundamentalmente una respuesta inflamatoria producida por un aumento de la permeabilidad vascular; por esto cabe suponer que la droga actúa en esta fase del proceso inflamatorio disminuyendo la permeabilidad capilar al paso de proteínas. Esta acción está complementada por el antagonismo que presenta la fracción colorante con la histamina. De otra parte si se acepta la teoría de Spector y Willoughby (1960) el compuesto sería un antihistamínico, ya que para dichos autores

el edema al dextrano en ratas es el resultado de la liberación local de histamina. El efecto depresor del comportamiento motriz encontrado por nosotros, respalda este razonamiento.

No se puede llegar a asegurar que este sea un compuesto anti-reumático porque el estado actual de experimentación en animales no permite llegar a tal conclusión. Sin embargo, todos los bioensayos realizados en el presente trabajo se han aplicado al estudio de nuevas drogas con posible actividad antirreumática y aún a los dos farmacos más conocidos y efectivos; fenilbutazona e indometacina. Se hizo un trabajo completo que infortunadamente no aporta un resultado definitivo sobre la utilización en humanos hasta tanto no se haga la experimentación clínica, debido a que en la inflamación producida en la artritis juegan papel importante las hidrolasas lisosómicas, las cuales actúan directamente sobre las paredes vasculares aumentando especialmente la permeabilidad de las vénulas y favoreciendo la adhesión de los leucocitos a la pared de los vasos, con lo cual se inicia su salida (emigración leucocitaria)

Para la aplicación es importante el establecimiento de los niveles de toxicidad, los cuales revelan que esta droga, por vía oral en animales, tiene un margen amplio de seguridad. Estamos ante un compuesto de gran interés no solo por sus propiedades sino por ser de origen vegetal. El estudio de la estructura química del compuesto sería un tema a desarrollar en futuros trabajos y daría más claridad en lo que compete a las acciones farmacológicas.

V — CONCLUSIONES

1. Se determinaron las sustancias presentes en la corteza de chuchuuaso (*Maytenus laevis* Reiss) y dentro de éstas una fracción colorante responsable de la acción farmacológica.
2. Las propiedades farmacológicas de esta fracción son:
 - Actividad antiinflamatoria.
 - Actividad analgésica.
 - Actividad antihistamínica.
 - Actividad depresora del comportamiento motriz.
3. La fracción colorante representa aproximadamente un 8% p/p del polvo de la corteza.

4. En las condiciones y dosis en que se realizaron los ensayos el compuesto tiene un alto poder antiinflamatorio comparado con patrones de actividad reconocida.
5. Las pruebas químicas revelan que no es un compuesto esteroidal.
6. Por primera vez se reporta un antihistamínico de origen vegetal.
7. El uso popular del chuchuuaso no representa peligro aparente para la salud, ya que tanto el extracto total como el colorante aislado presentan una toxicidad muy baja.

Comparando las dosis mínimas efectivas usadas y las dosis máximas toleradas por vía oral, se deduce que los principios activos del *Maytenus laevis* Reiss presentan un margen amplio de seguridad, en lo que se refiere a la experimentación animal.

RESUMEN

Se efectuó el estudio químico y farmacológico del *Maytenus laevis* Reiss. Se comparó la actividad biológica del extracto con la de la fenilbutazona, la indometacina y la aspirina, empleando el edema de Hind-Paw, inducido con dextrano en ratas, como indicador. El extracto mostró acción analgésica y antiinflamatoria. La fracción coloreada del extracto demostró ser la responsable de la actividad. La dosis necesaria para producir los efectos antiinflamatorio y analgésico es varias veces inferior a la dosis tóxica.

SUMMARY

The phytochemical and pharmacological studies of *Maytenus laevis* Reiss were made. The biological activity of the extract was compared with that of the phenylbutazone, the indometacine and the aspirin, using the Hind-Paw Edema, induced with dextran in rats, as indicator. The extract showed antiinflammatory and analgesic actions. The colored fraction of the extract seemed to be responsible for the activity. The dose required to produce antiinflammatory and analgesic effects were several times lower than the toxic dose.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. HOLLANDER, Y. C. (1966). "Introduction to Arthritis and Rheumatic Diseases. An textbook of Rheumatology". Ed. 7, Philadelphia. P. 38.
2. HOFFMAN LA ROCHE. (1972). "El Valium Roche y las enfermedades reumáticas". Basilea. P. 15-20.
3. ADAMS, S. S.; COBB, R. "Non Steroidal Anti-inflammatory Drugs". Progress in Medicinal Chemistry. 5, 59-138. (1967).
4. BETRIU, C. "Revisión crítica experimental del valor de los distintos métodos propuestos para la determinación de la acción antiinflamatoria". Anales de la Real Academia de Farmacia. 37, 409-445. (1971). Madrid.
5. NORTHOVER, D. "Biology of inflammation". J. Path. Bact. 88, 322. (1964).
6. LEWIS. Según BETRIU, C. Anales de la Real Academia de Farmacia, 37, 410. (1971).
7. HURLEY, H. W.; SPECTOR, W. G. "The Inflammatory Process". J. Path. Bact. 82, 403. (1961).
8. SPECTOR, W. G.; WILLOUGHBY, D. A. "The Pharmacology of the inflammation" J. Path. Bact. 80, 271. (1960).
9. SMITH, JEFFREY. Según GARANTINI, S.; DUKE, S. M. "International Symposium on Non Steroidal Anti-inflammatory Drugs". Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 138. (1965).
10. WINTER, C. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. "Carrageenin Induced Edema in Hind Paw of the Rat as an Assay for Anti-inflammatory Drugs". Proc. Soc. Ex. Biol. N. Y. 11, 544-47. (1962).
11. NIEMEGEERS and col. "Effect of various drugs on carrageenin-induced edema in the rat hind paw". J. Pharm. Pharmacol. 16, 810. (1964).
12. SHULLER, DESAULLES, Y. "The Anti-inflammatory Action of Griseofulvin in Experimental Animals". J. Pharm. Pharmacol. 12, 659. (1960).
13. WHITEHOUSE, M. W. "Some Biochemical and Pharmacological Properties of Anti-inflammatory Drugs". Progs. Drug. Res. 8, 321-42. (1965).
14. GLENN, E. M.; BOWMAN, B. "Synthetic Anti-inflammatory Drugs", J. Soc. Exp. Biol. Med. 2, 61, (1969).
15. WRIGHT, D. G.; MALOWISTA, S. E. Adjuvant Arthritis Induced in Rats, Arthritis and Rheumatism. 16 (6), 749-757. (1973)
16. MIZUSHIMA. Según BETRIU C. Anales de la Real Academia de Farmacia. 37, 416. (1971).
17. RANDALL, SELITO. "Adyuvant Arthritis induced in Rats". Arch. Internat. Pharmacodyn. 11, 409-401. (1957).

18. GORDONOFF, E. Según DOMENJOZ, R. "The pharmacology of Phenylbutazone Analogues". *Acad. Scie.* 86, 263-291. (1960).
19. GROSS. Según DOMENJOZ, R. "Some Pharmacological Aspects of Phenylbutazone (Butazolidin) a New Antirheumatic". *Internat. Rec. Med.* 165, 467. (1952).
20. GARCÍA BARRIGA H. (1975). "Flora medicinal de Colombia". Vol. II. Imprenta Nacional, Bogotá. Pp. 144-145.
21. WALL, M. E. *J. Am. Pharm. Asso. Scienc. Ed.* 43, (1954). Según CALDERÓN, E. (1963). "Guía para el análisis de plantas y notas prácticas sobre Fitoquímica". Conferencias Departamento de Farmacia U. N. P. 59.
22. GOLDBERG, A. S. and col. "Isolation of the Anti-inflammatory Principles from *Achillea Millefolium*". *J. Pharm. Sci.* 58, (8) 938-941. (1969).