



FIGURA 1. Recolección de *Smilax*. Foto: R. Villalobos.

Estudio toxicológico y farmacológico de los extractos hidroalcohólicos de algunas especies de *Smilax* de Centroamérica

Mildred García-González ^{a, b}

Cecilia Díaz ^{b, c, d}

Róger Villalobos ^e

^a Departamento de Fisiología, Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica

^b Programa de Productos Naturales y Plantas Medicinales (PRONAPLAMED), Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica

^c Departamento de Bioquímica, Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica

^d Instituto Clodomiro Picado, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica

^e Centro Agronómico Tropical en Investigación y Enseñanza (CATIE)

Toxicological and pharmacological study of the hidroalcoholic extracts of some species of *Smilax* from Central America

Abstract

Subchronic toxicity and diuretic, hypoglycemic, ansiolytic and sedative effects were determined in mice after treatment with hidroalcoholic extracts obtained from roots and rhizomes of *Smilax engleriana*, *S. panamensis*, *S. regelii*, *S. subpubescens*, *S. kunthii* and two chemotypes of *S. domingensis*: Costa Rica (CR) and Guatemala (G). None of the extracts caused mortality nor histologic abnormalities at 2g/kg when given daily for 90 days. However, some extracts induced signs of dehydration and a decrease in body weight. *S. panamensis* and *S. domingensis* (CR and G) showed diuretic activity in female mice, maintaining the effect for one week after having suspended the treatment with *S. domingensis* CR and *S. panamensis* (residual effect). *S. engleriana* and *S. regelii* showed diuretic activity with a residual effect in male mice. *S. engleriana* induced a hypoglycaemic residual effect in female and male mice, whereas *S. kunthii* showed the effect only in males and *S. panamensis* and *S. domingensis* CR only in females. A possible ansiolytic effect was observed with *S. domingensis* CR and *S. kunthii*.

Keywords

Smilax, cuculmecca, zarzaparrilla, raíz, rizoma, toxicity, pharmacology, diuretic activity, hypoglycemic activity, ansiolytic activity, sedative activity.

Resumen

Se determinó la toxicidad subcrónica y el efecto diurético, hipoglucemiante, ansiolítico y sedante de los extractos hidroalcohólicos de las raíces y rizomas *Smilax engleriana*, *S. panamensis*, *S. regelii*, *S. subpubescens*, *S. kunthii* y dos quimiotipos de *S. domingensis*: Costa Rica (CR) y Guatemala (G). Ningún extracto resultó mortal ni causó anomalía histológica a una dosis diaria de 2 g/kg durante 90 días, aunque algunos provocaron signos de deshidratación y disminución del peso corporal. *S. panamensis* y *S. domingensis* CR y G provocaron un efecto diurético en ratones hembra, que se mantuvo una semana después de cesar el tratamiento con *S. domingensis* CR y *S. panamensis* (efecto residual). *S. engleriana* y *S. regelii* mostraron actividad diurética, con efecto residual, en ratones machos. *S. engleriana* mostró efecto hipoglucemiante residual en ratones machos y hembras, mientras que el extracto de *S. kunthii* lo mostró sólo en machos y *S. panamensis* y *S. domingensis* CR, solamente en hembras. Se observó un posible efecto ansiolítico con *S. domingensis* CR y *S. kunthii*.

Palabras clave

Smilax, cuculmecca, zarzaparrilla, raíz, rizoma, toxicidad, farmacología, actividad diurética, actividad hipoglucemiante, actividad ansiolítica, actividad sedante.

Introducción

La familia de las Esmilacáceas está constituida por 12 géneros y cerca de 350 especies alrededor del mundo, distribuidas en regiones templadas, subtropicales y tropicales ⁽¹⁾. En el neotrópico, solamente se encuentran los géneros *Luzuriaga* y *Smilax*, de los cuales existen 26 especies en Mesoamérica y 19 se encuentran en Centroamérica ⁽²⁾.

El género *Smilax*, incluye un grupo de plantas dioicas, leñosas y trepadoras, que pueden alcanzar hasta 50 metros de altura ⁽³⁾. Las especies del género *Smilax* presentan raíces o rizomas cilíndricos, de los que surgen tallos espinosos con hojas grandes, alternas y cordiformes. Presentan zarcillos estipulares y pequeñas flores de color blanco-amarillento o verdosas que terminan generando bayas uviformes de color rojo-oscuro, de 5 mm de diámetro, con una o dos semillas en su interior ⁽⁴⁾.

En México y Centroamérica, a algunas especies del género *Smilax*, se les da el nombre de cuculmeca o coculmuca y a otras, se les conoce como zarzaparrilla, sin embargo estos nombres comunes varían entre los diferentes países, ya que es un género complejo y poco estudiado ⁽⁵⁾.

La parte empleada de las diferentes especies de *Smilax* es el rizoma y las raíces. Tradicionalmente, diversas especies de *Smilax* se han utilizado como depurativo y antiinflamatorio ⁽⁴⁾. En 1850 fue incorporada a la Farmacopea de Estados Unidos por su uso en el tratamiento de la sífilis, hasta que fue reemplazada por los antibióticos, en 1950. En Inglaterra, se incorporó a la Farmacopea Británica en el siglo XIX, pero únicamente una especie procedente de Jamaica. Actualmente, la raíz de estas plantas sigue siendo un remedio vegetal popular, aunque son pocas las farmacopeas que la tienen incorporada ⁽⁴⁾.

En Centroamérica, el cocimiento del rizoma es utilizado por vía oral para tratar la anemia, afecciones digestivas (diarrea, dolor de estómago, inapetencia), hinchazón, malaria, dolor de riñones, "enfermedades de la sangre" y venéreas, hepatitis, reumatismo y diversas afecciones de piel y mucosas, e incluso se reporta su uso para el tratamiento de tumores. En términos generales, al género *Smilax* se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, anti-pruriginosas, anti-reumáticas, antisépticas, cicatrizantes, estimulantes, diuréticas, diaforéticas, depurativas, sudoríficas y tónicas. ⁽⁶⁾

El objetivo del presente estudio fue realizar ensayos de toxicidad subcrónica (90 días) con extractos de diferentes especies del género *Smilax* por vía oral y determinar su actividad diurética, hipoglucemiante, ansiolítica y sedante.

Materiales y métodos

Recolección del material vegetal y preparación de los extractos

- *Smilax engleriana* (cuculmeca roja) JMASIS 03, *S. domingensis* de Costa Rica (cuculmeca morada), JMASIS 12 y *S. panamensis* (cuculmeca blanca), JMASIS 16, fueron recolectadas en la región de Matina, provincia de Limón, Costa Rica.
- *S. regelii* (zarzaparrilla Kekoldi), JMASIS 39, fue colectada en la región de Talamanca, Costa Rica.
- *S. kunthii* (cuculmeca roja-Nicaragua), RUEDAD15817 y *S. subpubescens* (zarzaparrilla Nicaragua), RUEDA15900, fueron colectadas en Nicaragua.
- *S. domingensis*-Guatemala, CACERES662, proviene de la Ecoparcela El Cacaotal, Samayac, Suchitopéquez, Guatemala.

El material vegetal (raíz o rizoma) se secó a 60°C durante 72 horas y se molió (5 mm). Todos los extractos se obtuvieron por maceración hidroalcohólica (30-70%) de 5 días, luego se filtró y se repitió la extracción dos veces más. Los filtrados reunidos se concentraron en rotavapor y se liofilizaron. El proceso de extracción se realizó en los laboratorios del Centro Agronómico Tropical en Investigación y Enseñanza (CATIE).

Cada extracto hidroalcohólico liofilizado se disolvió en agua destilada y desionizada a temperatura ambiente. Los valores de pH de las soluciones fueron para *S. regelii* y *S. panamensis* 4,22, para *S. domingensis* CR 4,11, para *S. engleriana* 3,89, y para *S. subpubescens*, *S. kunthii* y *S. domingensis* G, 4,12, 3,8 y 4,08, respectivamente.

Preparación de los animales

Los ensayos se realizaron en grupos experimentales de 10 ratones (5 machos y 5 hembras) y un grupo control con las mismas características. Todos los animales utilizados fueron de la cepa Hsd/ICR (CD-1) Swiss, aclimatados a las condiciones del laboratorio durante 5 días antes de ser aleatoriamente divididos en los diferentes grupos. Se utilizaron hembras nulíparas e ingravidas. Los animales se agruparon por sexo, 5 animales por caja.

La temperatura del laboratorio fue de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ y la tasa de humedad relativa se mantuvo en el margen de $75 \pm 8\%$. Se aplicaron periodos de luz-oscuridad con ciclos de 12 horas. Se utilizó un régimen alimentario conveniente para los animales y agua potable *ad libitum*.

Todos los tratamientos fueron administrados en forma individual por vía oral, a través de una cánula intragástrica, a dosis de 2.000 mg del extracto/kg de peso corporal y el grupo control recibió 0,3 ml de agua destilada y desionizada por cada 20 gramos de peso corporal por vía oral.

Ensayo de toxicidad sub-crónica

Preparación de los animales: El peso promedio al inicio del tratamiento fue de $19,5 \pm 0,9$ g. Los tratamientos (2.000 mg/kg) y los controles (agua) se administraron diariamente durante 5 días consecutivos por semana durante un período total de 90 días (60 administraciones) y dejados en período de observación post-administración de 1 semana adicional. El ensayo de toxicidad subcrónica se realizó con todos los extractos. Diariamente se observaron los siguientes parámetros: ataxia, parálisis anterior y posterior, actividad prensil anterior y posterior, reacción de alarma, palidez, piloerección, erección de la cola, equilibrio, reflejo de enderezamiento, deshidratación (prueba de Robichaud), micción y defecación. El peso corporal de todos los animales fue determinado semanalmente. Al finalizar el ensayo, se sacrificaron todos los animales por dislocación cervical, y se llevó a cabo la autopsia macroscópica de los siguientes órganos: cerebro, corazón, hígado, estómago, ovarios, útero y testículos, además de los ensayos histológicos de estos órganos.

Determinación de la actividad diurética

Preparación de las muestras a ensayar: los extractos hidroalcohólicos liofilizados de *S. domingensis* CR, *S. kunthii*, *S. domingensis* G, *S. engleriana*, *S. panamensis* y *S. regelii* se disolvieron en agua destilada y desionizada a una concentración final de 160 mg/ml.

Preparación de los animales: El peso promedio al inicio del tratamiento fue de $20,61 \pm 1,08$ g para las hembras y de $26,19 \pm 2,5$ g, para los machos. Los animales fueron distribuidos en 8 grupos de diez ratones cada uno, (subgrupos por sexo y tratamiento de 5 animales por caja metabólica) 6 de los grupos recibieron el tratamiento y 2 no (control). El tratamiento se realizó diariamente durante 5 días

consecutivos por semana durante un período total de 30 días (20 administraciones) seguido de un período de observación de 7 días después de la última administración del tratamiento, con el fin de analizar el carácter reversible y la persistencia (efecto residual) o aparición de nuevos efectos.

Determinación de diuresis por vía oral: La diuresis se midió diariamente cuantificando el volumen urinario por caja metabólica, luego se realizó un promedio de todas las mediciones para hacer el cálculo del volumen de orina producido por ratón y día.

Determinación de la actividad hipoglucemiante sub-crónica por vía oral

Preparación de las muestras a ensayar: los extractos hidroalcohólicos liofilizados de *S. domingensis* CR, *S. kunthii*, *S. engleriana*, *S. panamensis* y *S. regelii*, se disolvieron en agua destilada y desionizada a una concentración final de 160 mg/ml.

Los tratamientos fueron administrados diariamente durante 5 días consecutivos por semana, hasta un período total de 30 días (20 administraciones). Hubo, además, un período de observación de 7 días después de la última administración del tratamiento, para analizar el carácter reversible o la persistencia y la aparición de nuevos efectos. Este período se identifica como la medición residual.

Prueba de actividad hipoglucemiante sub-crónica por vía oral: La medición de la glucemia fue llevada a cabo semanalmente en cada uno de los individuos tratados y los grupos control. Se utilizó la técnica de sangrado retro-orbital y se el método de determinación de glucosa oxidasa (Método de Trinder modificado por Schosinsky).

Ensayos de actividad sedante-tranquilizante

- Preparación de las muestras a ensayar

Para la realización de estas pruebas se seleccionaron los extractos hidroalcohólicos liofilizados de *S. domingensis* CR, *S. engleriana* y *S. kunthii*, los cuales se prepararon en agua destilada y desionizada a una concentración de 166,66 mg/ml. El pH de las soluciones fue de: 4,15, 5,03 y 5,03, respectivamente.

- Preparación de los animales

Los tratamientos fueron administrados diariamente durante 5 días consecutivos por semana, hasta completar un período total de 30 días (20 administraciones). Las pruebas se realizaron antes de iniciar los tratamientos y al final de cada semana, para

un total de 4 mediciones y se realizó una medición adicional al finalizar la semana de observación sin tratamiento (efecto residual).

- Determinación de curiosidad con el ensayo de la placa perforada ("hole-board")

Este ensayo, descrito por Boissier y Simon ⁽⁷⁾, permite medir la actividad exploratoria del animal y los efectos del extracto como consecuencia de una acción ansiolítica o sedante.

Los animales fueron colocados individualmente durante 5 minutos en el centro de la placa perforada, la cual consiste en una caja de madera forrada con "formica" blanca, de 37 x 37 x 15 cm y 56 cm de altura del piso, con 16 espacios (8 x 8 cm) y 16 orificios (3,5 cm de diámetro) en el centro de cada espacio. La prueba consiste en anotar el número de veces que el animal espía a través de los orificios (considerando espiar la colocación de la cabeza en los orificios hasta el nivel de las orejas), además del número de levantamientos (medición de la actividad exploratoria) que realiza. Al finalizar cada ensayo, la caja fue limpiada con alcohol al 50%.

- Determinación del efecto ansiolítico utilizando el ensayo de esconder esferas ("marble burying test").

Los animales de laboratorio tienden a esconder objetos potencialmente "peligrosos" y las drogas ansiolíticas reducen o suprimen este comportamiento ⁽⁸⁾. Para la realización de este ensayo, los animales fueron colocados en cajas transparentes de metacrilato de 42 x 26 x 15 cm, con 25 esferas de vidrio distribuidas al azar sobre una cama de 2 cm de alto de virutas de madera (250 g), transcurridos 10 minutos se retira el animal de la caja y se contabiliza el número de esferas escondidas (ocultas por la las virutas de madera al menos hasta la mitad).

- Determinación de la actividad motora utilizando el ensayo del "rota-rod".

Este ensayo permite evaluar si los tratamientos promueven incoordinación motora en los animales debido a sedación y/o relajamiento muscular. El "rota-rod" consiste en una barra giratoria de 3 cm de diámetro, colocada a una altura de 17 cm, que gira a una velocidad de 12 rpm. La barra está dividida en 4 compartimentos de 7,5 cm de ancho, delimitados por discos de 25 cm de diámetro. Cada compartimento se utiliza para un animal. Los animales son colocados en la barra durante un minuto, con un máximo de tres recolocaciones y se registra

la disminución en el tiempo de permanencia en la barra en segundos.

- Ensayo de inducción del sueño por pentobarbital.

En general, las drogas depresoras del SNC reducen el tiempo de latencia y/o aumentan la duración del sueño ⁽⁹⁾. Para la realización de este ensayo, los animales fueron inyectados por vía intraperitoneal con 50 mg/kg de pentobarbital. Los extractos fueron administrados 15 minutos antes de la inyección de pentobarbital. Posteriormente, se determinó el tiempo que cada animal tardaba en perder el reflejo postural (tiempo de latencia) después de la administración del pentobarbital y el tiempo transcurrido desde que pierden el reflejo postural hasta que lo recuperan (tiempo de sueño).

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se realizó comparando los promedios de cada uno de los grupos con sus respectivos grupos control utilizando la prueba de ANOVA y el test de Tukey para determinar qué valores presentaban una diferencia significativa ($p < 0,05$) con respecto al control. La estadística fue llevada a cabo con el programa Instat.

Resultados

Toxicidad sub-crónica por vía oral

Ninguno de los extractos hidroalcohólicos administrados en ratones por vía oral a dosis de 2.000 mg/kg provocó mortalidad. El estudio histológico de cerebro, corazón, hígado, estómago, ovarios-útero y testículos tampoco mostró ninguna anormalidad.

La administración de *S. panamensis* no provocó ningún cambio después de su administración. *S. kunthii*, *S. domingensis* CR, *S. subpubescens* y *S. domingensis* G, provocaron signos de deshidratación, tanto en ratones hembra como en machos. Por otra parte, la administración de *S. kunthii* y *S. domingensis* G mostraron disminución en la actividad del SNC de los machos tratados, manifiesta a través de la disminución de la reacción de alarma, de la actividad prensil, del equilibrio y del reflejo de enderezamiento, así como piloerección.

La administración de los extractos de *S. kunthii*, *S. subpubescens* y *S. regelii*, provocaron disminución significativa del peso corporal en ratones hembra, mientras que los extractos de *S. domingensis* G y *S. engleriana* provocaron disminución significativa del peso corporal en machos. El extracto de *S.*

domingensis CR indujo disminución significativa del peso corporal en ratones de ambos sexos.

Actividad diurética

La administración oral a dosis repetidas (20 administraciones) de los extractos hidroalcohólicos de *S. panamensis* y *S. domingensis* (CR y Guatemala) provocó un efecto diurético estadísticamente significativo en ratones hembra (FIGURA 2A). Solamente los extractos de *S. panamensis* y *S. domingensis* CR presentaron un efecto residual (FIGURA 2C).

Los extractos de *S. engleriana* y *S. regelii*, ocasionaron un efecto diurético en ratones macho y ambos extractos mantuvieron el efecto una semana después de haber cesado la administración del tratamiento (FIGURAS 2B Y D). En los machos, los grupos de animales que recibieron los tratamientos de *S. panamensis* y *S. domingensis* (CR y G) se presentó un fenómeno poco común, ya que los controles

mostraron valores de diuresis superiores a los grupos de tratamiento (efecto anti-diurético) (FIGURA 2B). Sin embargo, cuando se registraron los valores residuales, se pudo determinar que los extractos de *S. kunthii* y *S. domingensis* CR presentaron efecto diurético, lo cual hace pensar que estas dos especies también tienen actividad diurética, que se evidencia a más largo plazo (FIGURA 2D).

Actividad hipoglucemiante

La administración oral a dosis repetidas de los extractos hidroalcohólicos del género *Smilax* mostró una tendencia hipoglucemiante, al compararse con los controles, efecto manifiesto solamente durante el período residual (una semana después de haber suspendido el tratamiento) (FIGURA 3). En los ratones hembra, se observó un efecto hipoglucemiante en 3 de las 5 especies utilizadas, siendo el extracto de *S. regelli*, el único que no presentó diferencias en la glucemia (FIGURA 3C). En el caso de los machos, se

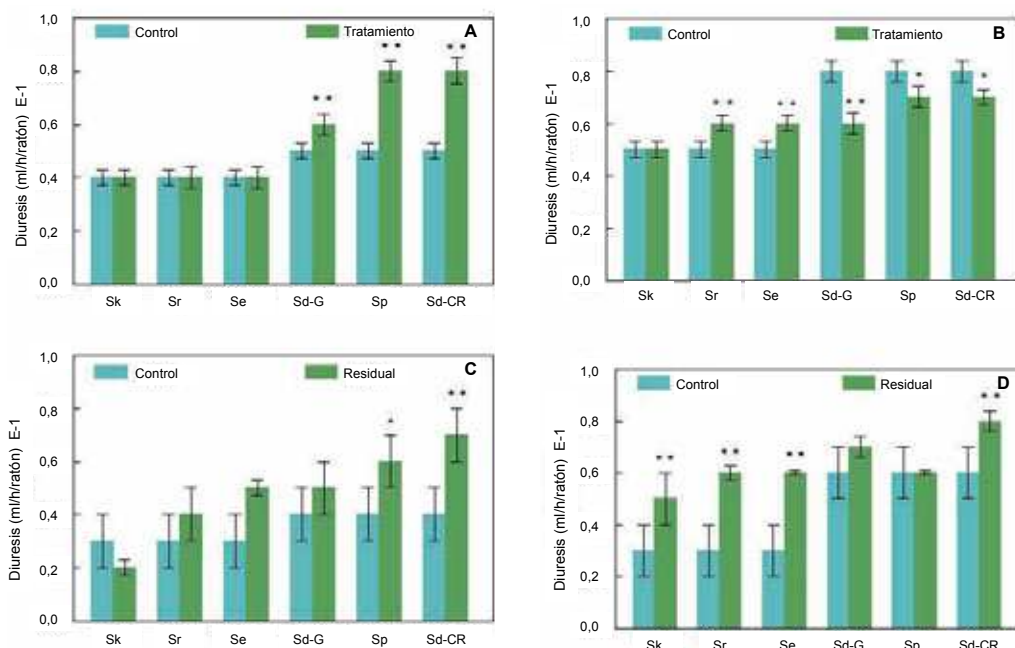


FIGURA 2. Efecto diurético en ratones de los extractos hidroalcohólicos de diferentes especies del género *Smilax*. Los resultados se presentan como promedios de todas las mediciones realizadas con sus respectivas desviaciones estándar. A y B: Determinaciones en ratones hembra y macho, respectivamente, durante el tiempo de tratamiento. C y D: Determinaciones realizadas en ratones hembra y macho, respectivamente, 7 días después de haber concluido el tratamiento.

Sk: *Smilax kunthii*; Sr: *S. regelii*; Se: *S. engleriana*; Sd-G: *S. domingensis* quimiotipo Guatemala; Sp: *S. panamensis*; Sd-CR: *S. domingensis* quimiotipo Costa Rica.

pudo observar que el efecto hipoglucemiante fue estadísticamente significativo solamente en los ratones que recibieron el extracto de *S. kunthii* y *S. engleriana* (FIGURA 3D).

El estudio intra-grupo registró un aumento en los valores de la glucemia durante el período de administración en algunos grupos (estadísticamente significativo en el caso de *S. kunthii*, FIGURA 3C), el cual podría ser explicado por el efecto estresante de los animales sometidos al sangrado retro-orbital, ya que este efecto también fue registrado en los animales control cuando se realizó la comparación antes y después de la inoculación del agua.

Ensayo de curiosidad en placa perforada ("hole-board")

No observó ninguna diferencia estadísticamente significativa en el efecto sobre los ratones hembra con respecto al control (FIGURA 4A). En los machos tratados con los extractos de *S. domingensis* CR y

S. kunthii, se presentó un aumento significativo en el número de orificios explorados con respecto al grupo control, lo que sugiere ser un efecto ansiolítico provocado por éstos extractos (FIGURA 4A). En el período residual, el extracto de *S. kunthii* produjo un aumento de la curiosidad en ambos sexos con respecto al control, (FIGURA 4B). Los animales tratados con *S. engleriana* no mostraron ningún cambio.

Ensayo de esconder esferas

El grupo de hembras tratado con los extractos de *S. domingensis* CR y *S. kunthii* disminuyó significativamente el número de esferas escondidas, lo que podría sugerir la presencia de un efecto ansiolítico (FIGURA 4C). El efecto no se mantuvo al finalizar el tratamiento (FIGURA 4D). No se presentó efecto en los machos durante el tratamiento, pero sí se observó una semana después de suspender el tratamiento en los machos que fueron tratados con el extracto de *S. engleriana* (FIGURAS 4C Y D).

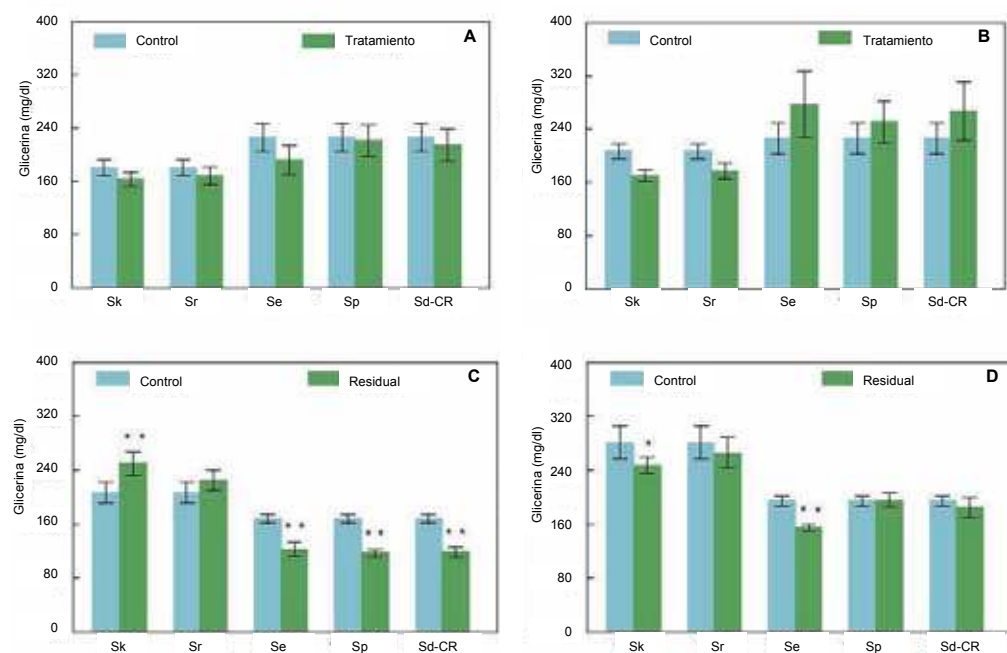


FIGURA 3. Efecto sobre la glucemia en ratones de los extractos hidroalcohólicos de diferentes especies del género *Smilax*. Los resultados se presentan como promedios de todas las mediciones realizadas con sus respectivas desviaciones estándar. A y B: Determinaciones en ratones hembra y macho, respectivamente, durante el tiempo de tratamiento. C y D: Determinaciones realizadas en ratones hembra y macho, respectivamente, 7 días después de finalizado el tratamiento.

Sk: *Smilax kunthii*; Sr: *S. regelii*; Se: *S. engleriana*; Sp: *S. panamensis*; Sd-CR: *S. domingensis* quimiotipo Costa Rica.

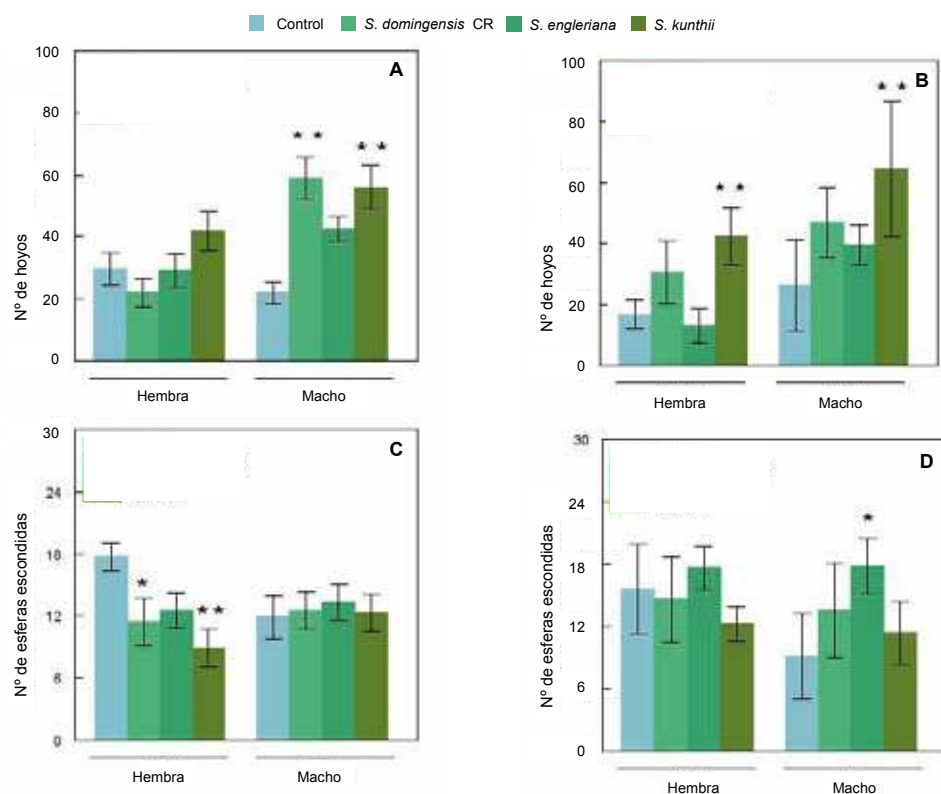


FIGURA 4. Determinación del efecto ansiolítico por medio de la prueba de curiosidad y el ensayo de esconder esferas de los extractos hidroalcohólicos de 3 especies del género *Smilax*. Los resultados se presentan como promedio y desviación estándar de todas las mediciones realizadas. A y B: Prueba de curiosidad. C y D: Ensayo de esconder esferas. A y C: Determinaciones del efecto durante el tratamiento. B y D: Determinaciones del efecto 7 días después de haber suspendido el tratamiento con los extractos.

Ensayo de actividad motora en "rota-rod"

Los ratones hembra no presentaron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de permanencia en el "rota-rod". En el caso de los machos, solamente el grupo tratado con el extracto de *S. domingensis* CR disminuyó significativamente la actividad motora (efecto sedante) durante el período de tratamiento, con respecto al control (resultados no mostrados). Los ratones macho, tratados con *S. kunthii* mostraron efecto sedante estadísticamente significativo con respecto al control, solamente durante el período residual y los tratados con *S. engleriana* no mostraron ningún cambio (resultados no mostrados).

Ensayo de inducción de sueño

Los grupos experimentales de ambos sexos, tratado con *S. engleriana*, *S. kunthii* o *S. domingensis*

CR provocaron un aumento significativo del período de latencia (datos no mostrados). En el período de duración del sueño inducido por pentobarbital, no se presentó diferencia estadísticamente significativa durante la administración de los extractos, entre el grupo control y los grupos que recibieron tratamiento. Sin embargo, el grupo de ratones hembra que fue tratado con *S. engleriana* mostró una tendencia al aumento en la duración del tiempo de sueño después del período residual (datos no presentados).

Conclusiones

Se ha descrito que la DL₅₀ por vía oral en ratones de la decocción de las raíces de las distintas especies de zarzaparrilla, es mayor a 30 g/kg^(10, 11) y por vía intraperitoneal el extracto hidroalcohólico posee una DL₅₀ mayor de 1 g/kg^(12, 13). Estos datos in-

plican que este género es relativamente seguro en términos toxicológicos. Sin embargo, a dosis elevadas, puede provocar diarrea y vómitos ⁽⁴⁾, efectos que no son perdurables, ya que desaparecen con la suspensión del tratamiento.

Concordando con la poca toxicidad de estas drogas reportada en la literatura, en este estudio se determinó que con respecto a los extractos hidroalcohólicos liofilizados de la raíz o rizomas de diferentes especies centroamericanas del género *Smilax*, estos no provocan mortalidad en dosis de 2 g/kg por vía oral, al cabo de 90 días de tratamiento.

La administración subcrónica de los extractos hidroalcohólicos de *S. kunthii*, *S. subpubescens*, *S. engleriana*, *S. regelii* y *S. domingensis* de Costa Rica y de Guatemala, indujeron una disminución significativa del peso corporal, lo cual puede ser atribuido a un efecto diurético o de tipo barbitúrico, ambos reportados en la literatura para éste género ^(4, 6, 10, 11).

Los extractos de *S. kunthii* y *S. domingensis* G, mostraron además un efecto sobre sistema nervioso central SNC de tipo sedante/tranquilizante, el cual ya ha sido descrito en la literatura, pero con resultados contradictorios ⁽¹⁴⁾.

Los extractos de *S. domingensis* C.R., *S. domingensis* G, *S. engleriana*, *S. panamensis* y *S. regelii*, provocaron efecto diurético, acción farmacológica descrita para algunas especies de éste género y respalda, como posible mecanismo de acción, la pérdida de peso registrada durante los ensayos de toxicología.

Existen reportes en la literatura que hacen mención al uso de etnomédico del extracto acuoso de estas especies para tratar la diabetes mellitus ^(15, 16). En nuestro estudio se validó la eficacia preclínica hipoglucemiante de extractos hidroalcohólicos de algunas especies del género *Smilax*, lo cual concuerda con un estudio realizado en ratas, en las cuales se administró el extracto hidroalcohólico al 95% en dosis de 500 mg/kg y se registró una acción hipoglucemiante, acompañada de un incremento en el contenido de glicógeno hepático ⁽¹⁷⁾. En nuestro estudio el efecto fue observado días después de haber suspendido el tratamiento, como un efecto residual.

Fukunaga y colaboradores mostraron que el extracto de la especie *Smilax glabra* indujo hipoglucemia en modelos de ratones con diabetes mellitus no dependiente de insulina, pero no produjo el mismo

efecto en el modelo de ratones donde la enfermedad es inducida por estreptozotocina, un tipo de diabetes dependiente de insulina. Esto sugiere que el efecto hipoglucemiante de la planta aumenta la sensibilidad a la insulina. Además, el extracto también eliminó la hiperglucemia inducida por adrenalina en ratones ⁽¹⁵⁾.

Las pruebas realizadas para medir actividad sobre el SNC, son útiles para la identificación de compuestos con probable actividad ansiolítica o sedante. Muchas especies vegetales empleadas popularmente como tranquilizantes, tales como *Magnolia officinalis* ⁽¹⁸⁾, *Azadirachta indica* ⁽¹⁹⁾ y *Maprounea africana* ⁽²⁰⁾, presentan efectos depresores inespecíficos sobre el SNC, mientras que otras como *Cymbopogon citratus* y *Mentha piperita*, no muestran ninguna actividad cuando han sido probadas en ensayos preclínicos y/o clínicos ⁽²¹⁾.

En la prueba de curiosidad realizada en este estudio, los grupos de machos tratados con *S. domingensis* CR y *S. kunthii*, presentaron un posible efecto ansiolítico, al detectarse un aumento en el número de orificios explorados en comparación con el grupo control.

Por otra parte en la prueba con el "rota-rod", que permite estudiar el tiempo de equilibrio del animal a través de su coordinación motora, se observó que los machos tratados con *S. domingensis* CR mostraron un posible efecto de sedación o depresión del SNC, efecto manifiesto al disminuir el tiempo de estancia en el "rota-rod".

En la prueba de esconder esferas, se observó que los extractos de *S. domingensis* CR y *S. kunthii* mostraron un posible efecto ansiolítico sobre las hembras, este efecto es comparable con el de drogas benzodiazepínicas y puede ser atribuido a la presencia de flavonoides ^(22, 23), ya que algunos de estos compuestos poseen actividad sobre los receptores benzodiazepínicos, lo que podría explicar su actividad sedativa/ansiolítica ⁽²⁴⁾.

El efecto sedante relacionado con la inducción más rápida del sueño o por un período mayor, no pudo ser corroborado con ninguno de los extractos, al no observarse ninguna variación en la inducción del sueño inducida por pentobarbital en estos ratones. Por el contrario, se registró que el tiempo de latencia aumentó significativamente con los 3 extractos probados, lo cual es difícil de explicar dentro del contexto de un efecto sedante, como el que se ob-

servó con las otras pruebas en el caso de algunos de los extractos.

Agradecimientos

Los autores agradecen al PROYECTO "OLAFO" por financiar este proyecto y al Laboratorio de Ensayos Biológicos de la Universidad de Costa Rica.

Este proyecto fue financiado por el Proyecto de Desarrollo del Manejo Sostenible de *Smilax* spp en ecosistemas naturales y agroforestales en América Central/ FONTAGRO-BID y la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.

Direcciones de contacto

Mildred García-González
Departamento de Fisiología, Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica
San José (Costa Rica)
Teléfono: (506) 2074486
Fax: (506) 2074482
Correo electrónico: mildredg@cariari.ucr.ac.cr

Róger Villalobos Soto
CATIE 7170, Turrialba, Costa Rica
Teléfono (506) 25582320, (506) 25582318. Fax: (506) 25582057
Email: rvillalo@catie.ac.cr, Web: www.catie.ac.cr

Cecilia Díaz Oreiro
Departamento de Bioquímica, Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica
San José (Costa Rica)
Teléfono: (506) 22074923; (506) 22074480
email: cdiaz@icp.ucr.ac.cr

Referencias bibliográficas

- Huft MJ. Smilacaceae. En Davidse G. Sousa M. (Eds). Flora Mesoamericana, Volumen 6. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología, México; 1994.
- Killip EP, Morton CV. A revision of the Mexican and Central American species of *Smilax*. Publ Carnegie Inst Wash 1936; 461:257-297.
- Standley PC, Steyermark JA. Flora de Guatemala. Fieldiana Botany 1952; 24:432-434.
- Alonso J R. Tratado de fitomedicina, bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires: Ediciones ISIS; 1998.
- Cáceres, A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Ed. Universitaria, Universidad de San Carlos de Guatemala; 1996.
- Gupta M. 270 plantas medicinales iberoamericanas. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). Subprograma de química fina farmacéutica. Convenio Andres Bello; 1995.
- Boissier JR, Simon P. Dissociation de deux composantes dans le compartiment d'investigation de la souris. Arch Int Pharmacodyn 1964; 147: 372-387.
- Treit D, Pinel JP, Fibiger HC. The inhibitory effect of diazepam on conditioned defensive burying is reversed by picrotoxin. Pharmacol Biochem Behav 1982; 17:359-61.
- Lapa JA, Souccar C, Lima-Landman MT, de Lima M. Métodos de Avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinales. CYTED/CNPq. Sociedade Brasileira de Farmacologia e Terapêutica Experimental, Brasil 2001.
- Berdy J, Aszalos A, Bostian M, Mc.Nitt K. . CRC. Handbook of antibiotic compounds. Part II. Boca Ratón: CRC press; 1982.
- Cáceres A, Girón L, Martínez A. Diuretic activity of plants used for treatment of urinary ailments in Guatemala. J Ethnopharmacol 1987; 19:233-245.
- Dhar ML, Dhar MM, Dhawan BN, Mehrotra BN, Ray C. Screening of Indian plants for biological activity: part I. Indian J Exp Biol 1968; 6:232-247.
- Bhakuni DS, Dhar ML, Dhar MM, Dhawan BN, Gupta B, Srimali, RC. Screening of indian plants for biological activity. Part III. Indian J Exp Biol 1971; 9: 91-102.
- Fukunaga T, Miura T, Furuta K, Kato A. Hypoglycemic effect of the rhizomes of *Smilax glabra* in normal and diabetic mice. Bio Pharm Bull 1997; 20:44-46.
- Vera R, Smadja J, Conan JY. Preliminary assay of some plants with alkaloids from Reunion Island. Plant Med Phytother 1990; 241:50-65.
- Rafatullah S, Mossa JS, Ageel AM, AL-Yahya AM, Tariq M. Hepatoprotective and safety evaluation studies on sarsaparilla. Int J Pharmacog 1991; 294:296-301.
- Watanabe K, Watanabe H, Goto Y, Yamaguchi M, Yamamoto N, Hagino K. Pharmacological properties of magnolol and honokiol extracted from *Magnolia officinalis*, central depressant effects. J Med Planta Res 1983; 49:103-108.
- Jaiswal AK, Bhattacharya SK, Acharya SB. Anxiolytic activity of *Azadirachta indica* leaf extract in rats. Indian J Exp Biol 1994; 32:489-491.
- N'Gouemo PM, Nguemby-Bina C, Baldy-Moulinier M. Some pharmacological effects of an ethanolic extract of *Maprounea africana* in rodents. J Ethnopharmacol 1994.; 43:161-166.
- Carlini EA, Contar JDP, Silva-Filho AR, Silveira-Fiho NG, Frochtengarte ML, Bueno OFA. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animal. J Ethnopharmacol 1986. ; 17:37-64.
- Cao ZZ, Yi YJ, Hong WQ, Lin YL. Chemical constituents of glabrous greenbrier. Chung Ts'ao Yao. Nanjing Ins Mat Med Nanu 1993; 245:234-235.
- Chien NQ, Adam G. On the constituents of *Smilax glabra* (Roxb.) Part 4: Natural substances of plants of the Vietnamese flora. Pharmazie 1979; 34:841-843.
- Wolfman C, Viola H, Paladini A, Kaja F, Medina JH. Possible anxiolytic effects of chrysin, a central benzodiazepine receptor ligand isolated from *Passiflora coerulea*. Pharmacol Biochem Behav 1994; 47:1-4.