

Perfil neurofarmacológico de la fracción butanólica de las hojas de *Cecropia peltata* L.

Jimena Ospina Chávez¹, Javier Rincón Velandá², Mario Guerrero Pabón²

¹ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Barcelona, España.
Correo electrónico: jimenaandrea.ospina@e-campus.uab.cat.

² Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. A. A.: 14490. Correos electrónicos: jrinconv@unal.edu.co, mfguerrerop@unal.edu.co.

Recibido para evaluación: 16 de enero de 2013.

Aceptado para publicación: 17 de octubre de 2013.

RESUMEN

La fracción butanólica del extracto de *Cecropia peltata* L. (N. V.: “Yarumo”), especie medicinal utilizada por la tradición popular en Colombia con fines tranquilizantes, presenta en ratones albinos ICR un perfil de tipo anticonvulsivante, ansiolítico y sedante, según las pruebas de electroshock, pentilentetrazol, ocultamiento de esferas y potenciación de sueño barbitúrico (80 mg/kg, v. o., $p \leq 0,05$ vs. control). Paralelamente, carece de efectos de tipo locomotor y antidepresivo, según las pruebas del alambre y nado forzado. El efecto de esta fracción fue superior al presentado por el extracto etanólico y las fracciones acuosa y hexánica. Además, la subfracción butanólica rica en flavonoides, presenta un efecto “dosis-respuesta” en la prueba de convulsión máxima inducida por electroshock (80 mg/kg - 240 mg/kg). Estos hallazgos sugieren que los metabolitos de tipo flavonoide podrían ser responsables de la actividad farmacológica de *Cecropia peltata* y dan soporte al uso tradicional de esta especie.

Palabras clave: *Cecropia peltata*, flavonoide, ansiolítico, anticonvulsivante, sedante.

ABSTRACT

Neuropharmacological profile of the butanolic fraction obtained from leaves of *Cecropia peltata* L.

The butanolic fraction obtained from the extract of *Cecropia peltata* L (NV: “Yarumo”), medicinal plant used by popular tradition in Colombia as tranquilizer, displays in ICR albino mice an anticonvulsant, anxiolytic and sedative profile, according to electroshock, pentylenetetrazole, marble burying and barbiturate sleeping tests (80 mg/kg, p. o., $p \leq 0.05$ vs. control). At the same time *Cecropia peltata* does not seem to alter the locomotor function nor to have antidepressant effect, according to their effect in wiring and forced swimming tests. The effect of this fraction was greater than ethanolic, aqueous and hexanic fractions. Additionally, a sub-fraction from butanolic part, rich in flavonoids, elicits a “dose-response” effect in maximum electroshock-induced seizures (80 - 240 mg/kg). These findings suggest that flavonoid metabolites play a key role in the pharmacological activity of *Cecropia peltata* and support the traditional use of this species.

Key words: *Cecropia peltata*, flavonoids, anxiolytic, anticonvulsant, sedative.

INTRODUCCIÓN

El género *Cecropia* tiene importancia biológica por sus múltiples usos en medicina tradicional, entre otros, de tipo broncodilatador, antimicrobiano, inotrópico, diurético, antiinflamatorio, hipoglicemiante y tranquilizante; y por la amplia diversidad de metabolitos descritos, especialmente de naturaleza flavonoide, terpenoide y esteroide [1]. *C. glaziovii*, *C. hololeuca*, *C. pachystachya*, *C. adenopus* y *C. obtusifolia* son algunas de las especies más estudiadas, entre las que se destaca *C. glaziovii* por su efecto hipotensor y su actividad sobre el sistema nervioso [2, 3, 4, 5]. Otra especie con efectos centrales es *C. membranacea*, a la que se le han identificado propiedades de tipo anticonvulsivante y ansiolítico en modelos experimentales en roedores, y presencia de metabolitos tipo tanino, flavonoide y terpenoide [6]. Una de las especies más populares es *C. peltata* (nombre vulgar: “Yarumo”), cuyas hojas en decocción se usan para afecciones cardiovasculares, respiratorias y como diurético [7, 8]. Igualmente, las hojas en tintura se utilizan por la tradición popular con fines tranquilizantes, pese a lo cual, existe escasa información sobre estudios fitoquímicos y farmacológicos [9].

Los trastornos de ansiedad y los trastornos epilépticos tienen un creciente impacto en la salud pública [8, 10] y cada vez es mayor el segmento de la población que acude a medicinas alternativas, entre ellas, fuentes de origen natural, en procura de mejoría [9, 11]. *Hypericum perforatum* (Hierba de San Juan), *Gingko biloba*, *Valeriana officinalis* y *Piper methysticum* (Kava Kava) son algunos de los ejemplos más notorios de productos naturales utilizados en trastornos neurológicos y del afecto [12]; si bien, no hay estudios clínicos suficientes que confirmen, bajo el rigor de la evidencia, su efectividad clínica más allá de efectos de orden leve a moderado [13, 14]. No obstante, dado el legado de los productos naturales al arsenal farmacológico actual, su abundante diversidad y el acceso creciente a técnicas de identificación química y actividad farmacológica, factores aunados a la necesidad de encontrar nuevos tratamientos, se reconoce en las plantas medicinales una fuente de posibles alternativas terapéuticas, sea de nuevos principios activos o de nuevos fitoterapéuticos [15]. Además, respecto al conocimiento de los efectos biológicos de tales productos, es necesario examinar posibles interacciones que pueden repercutir en la eficacia de los tratamientos convencionales o en la aparición de efectos adversos importantes [16].

Este trabajo se enfocó en la determinación de los efectos farmacológicos centrales de *C. peltata* en modelos experimentales *in vivo* en ratones de laboratorio y en la identificación fitoquímica del tipo de metabolitos responsables de la actividad con miras a examinar su posible interés terapéutico.

METODOLOGÍA

Material vegetal

Aproximadamente 10 kg de hojas frescas con peciolo de *Cecropia peltata* se recolectaron en la vereda Catama, municipio de Villavicencio (Colombia), el 11 de diciembre de 2007. Un ejemplar se envió para depósito y clasificación en el Herbario Nacional Colombiano, donde recibió el código de identificación COL522541.

Preparación de extractos y fracciones

El material vegetal se secó durante 48 h a una temperatura constante de 40 °C y se trituró utilizando un molino de disco, luego se sometió a percolación (1,8 kg) hasta agotamiento con etanol al 96% y, posteriormente, a concentración hasta sequedad en un evaporador rotatorio a la temperatura de 35 °C, bajo presión reducida. Se obtuvieron 460 g de extracto etanólico con un rendimiento del 25,5%. El extracto etanólico se fraccionó utilizando un sistema de partición con solventes de diferente polaridad:

agua, butanol y hexano. De acuerdo con los resultados de las pruebas farmacológicas, se escogió la fracción butanólica para proseguir el estudio fitoquímico, utilizando cromatografía en capa delgada (CCD) con sílica gel GF 254, solventes de polaridad adecuada y reactivos de pulverización.

Tratamiento de la fracción butanólica (WB_{CP}). La fracción WB_{CP} (14 g) se sometió a CCD utilizando como fase estacionaria sílica gel 60 y como fase móvil cloroformo-metanol 9,5:0,5 aumentando la polaridad hasta metanol. En una subfracción, denominada FB7, se detectó la presencia de flavonoides por CCD al revelar con NP-PEG, con un rendimiento del 11,2%, y con ella se prosiguió el estudio fitoquímico.

Tratamiento de la subfracción FB7. 0,72 g de FB7 se sometieron a tratamiento con Sephadex LH-20 como fase estacionaria y cloroformo-metanol 7:3 hasta metanol como fase móvil, de la que se obtuvo la subfracción 5FB7 rica en flavonoides (105 mg); que, a su vez, se sometió a cromatografía en columna utilizando Sephadex LH-20, empleando como fase móvil la mezcla de cloroformo-metanol 1:1 hasta metanol. De esta subfracción se obtuvo una subfracción mayoritaria, denominada 7.5FB7.

Tratamiento de la subfracción 7.5FB7. A la subfracción 7.5FB7 se le realizó un espectro de RMN ¹H utilizando un espectrómetro BRUKER de 400 MHz. Posteriormente, se sometió a CCD utilizando Sephadex LH-20 y como fase móvil cloroformo-metanol 3:7 hasta metanol. De este procedimiento se obtuvieron dos subfracciones mayoritarias, denominadas 1.7.5FB7 (5 mg) y 2.7.5FB7 (7 mg), a las que se les realizó un proceso de acetilación, para el análisis por cromatografía de gases acoplado a masas. Para esto, estas subfracciones se trataron durante 24 h con 2 mL de anhídrido acético y 2 mL de piridina, en un reactor con agitación constante y calentamiento inicial en baño de maría (30 min). Después, la mezcla se enfrió a 0 °C y se extrajo con CH₂Cl₂. La fase orgánica se lavó con ácido clorhídrico al 5% y luego con agua destilada hasta fin de acidez. La fase orgánica obtenida se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró.

Pruebas farmacológicas

Todos los experimentos se realizaron con ratones hembra, ICR, de 10-12 semanas de edad, entre 25 g y 35 g de peso, procedentes del Bioterio del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia. Los animales se mantuvieron en condiciones constantes de temperatura (22 °C ± 1 °C), con ciclos de 12 h luz/oscuridad y consumo de agua y alimento a libre demanda, excepto en el día de la prueba cuando se les retiró el alimento seis horas antes de la experimentación. Se utilizaron protocolos avalados por el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias y ajustados a las “Normas Científicas, Técnicas y Administrativas para la Investigación en Salud” establecidas en la Resolución No. 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia.

Prueba del alambre. Utilizada para evaluar la coordinación motora de los animales [17]. Previo entrenamiento, los ratones se dejaron suspendidos por sus patas delanteras de un alambre de 1 cm de diámetro y 15 cm de longitud posicionado a 20 cm de altura. Se les registró el tiempo que tardaron en agarrarse del alambre con sus patas traseras.

Prueba de ocultamiento de esferas. Utilizada para evaluar el estrés generado por el reflejo luminoso de las canicas [17]. Los animales se colocaron individualmente en cajas de acrílico que contenían una capa de aproximadamente 2,5 cm de aserrín, sobre la que se colocaron en forma simétrica 12 esferas de vidrio de alrededor de 2 cm de diámetro, en un ambiente con luz de 110 W de intensidad. Se contabilizó durante 10 min el número de esferas cubiertas total o parcialmente por cada ratón.

Prueba de nado forzado. Utilizada para evaluar la “desesperanza” generada por un ambiente en que se expone al animal a un estado de nado forzado [18]. Cada ratón se colocó en un cilindro plástico (35 cm × 24 cm) que contenía agua a 22 °C-25 °C hasta un nivel de 13 cm. Se registró durante 5 min el tiempo total de inmovilidad, entendido como el tiempo en el que el animal realizó apenas los movimientos necesarios para mantenerse a flote.

Potenciación de sueño barbitúrico. Utilizada para determinar posibles efectos sedantes [19]. A cada animal se le administró pentobarbital sódico, 30 mg/kg, i. p. Se determinó, durante tres horas, el tiempo en que el animal tardó en reincorporarse completamente sobre sus cuatro extremidades.

Convulsiones inducidas por pentilentetrazol (PTZ). Utilizada para identificar sustancias con posibles efectos anticonvulsivantes tipo antiausencia [20]. Se determinó la aparición o no de convulsiones mioclónicas en cara, tronco o extremidades, de duración igual o mayor a 5 s, tras la administración de pentilentetrazol, 45 mg/kg, s. c.

Convulsiones inducidas por electroshock. Utilizada para identificar sustancias anticonvulsivantes posiblemente efectivas frente a las crisis tónicas clónicas generalizadas [21]. Se determinó la presencia o ausencia de extensión tónica de las extremidades posteriores tras la estimulación eléctrica, corneal de una descarga de 50 mA, 60 Hz y 20 ms.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se evaluaron los siguientes tratamientos, administrados por vía oral en volumen de 0,1 mL/10 g de peso y en dosis proporcionales a sus respectivos rendimientos: extracto etanólico: 500 mg/kg, fracción acuosa: 110 mg/kg, fracción butanólica: 80 mg/kg, fracción hexánica: 40 mg/kg. Se utilizaron, además, un grupo control correspondiente al vehículo obtenido de la mezcla: glicerina 10%, propilenglicol 10% y polisorbato 2%, preparados en agua destilada, y un grupo patrón de referencia, correspondiente a clona-

zepam 0,5 mg/kg., v. o., en todas las pruebas excepto en la de “nado forzado”, en la que el patrón utilizado fue imipramina, 15 mg/kg, v. o. Los tratamientos se administraron aleatoriamente a grupos de seis ratones, una hora antes de cada prueba. Además, se efectuó un experimento dosis-respuesta con la subfracción rica en flavonoides, 4FB7, procedente de la fracción butanólica, en intervalos de 40 mg/kg, 80 mg/kg y 240 mg/kg (v. o., $n = 9$), aplicando la prueba de convulsión por electroshock.

Los resultados se expresan como el promedio \pm e. m. s., en todos los casos excepto en las pruebas de convulsión, en los que la variable de observación fue de tipo “todo o nada” (presencia o ausencia de convulsión). A las pruebas de alambre, ocultamiento de esferas, nado forzado y sueño barbitúrico, se les aplicó un análisis de varianza de una vía seguido de la prueba de comparaciones de Dunnet. A las pruebas de electroshock y pentilentetrazol, se les aplicó un análisis de Chi^2 ajustado para muestras pequeñas (prueba de Fisher). Se estableció un nivel de significancia de 95% ($p \leq 0,05$). Los datos se procesaron con los programas SAS® y Excel®.

RESULTADOS

Análisis fitoquímico

El análisis fitoquímico de la fracción butanólica de las hojas de *C. peltata*, la fracción de mayor actividad farmacológica, indicó la presencia de metabolitos secundarios tipo flavonoides, según la CCD al revelar con NP-PEG. También reveló la presencia de taninos y en menor proporción terpenos o esteroides.

La presencia de metabolitos flavonoides fue más notoria en una subfracción denominada 4FB7, obtenida de la fracción butanólica, tras el tratamiento por cromatografía en columna. De una subfracción de esta, mayoritaria, denominada 7.5FB7 (26,7%), tras la caracterización por RMN ^1H , se identificaron señales entre δH 7,8 y 6,4 de hidrógenos unidos a carbonos sp^2 , que estarían presentes en el anillo aromático, así como señales entre δH 4,4 y 3,4 que apuntaron hacia la presencia de glicósidos, consideración que se corroboró al examinar dos subfracciones adicionales denominadas 1.7.5FB7 y 2.7.5FB7 (5 mg y 7 mg, respectivamente) que tras la acetilación y análisis por CG-EM arrojó la presencia de la D-glucosa.

Pruebas farmacológicas

Prueba del alambre. Mientras el grupo control tardó en promedio 4 ± 1 s en asirse con sus patas traseras de la barra de alambre, el grupo de referencia, clonazepam, tardó 36

± 5 s. Los grupos tratados con el extracto etanólico y las fracciones acuosa, butanólica y hexánica tardaron, respectivamente, 2 ± 1 s, 15 ± 3 s, 17 ± 2 s y 4 ± 1 s. El efecto de las fracciones acuosa y butanólica fue significativo con respecto al control, aunque en menor magnitud que el observado con el agente de referencia, clonazepam ($p \leq 0,05$) (figura 1).

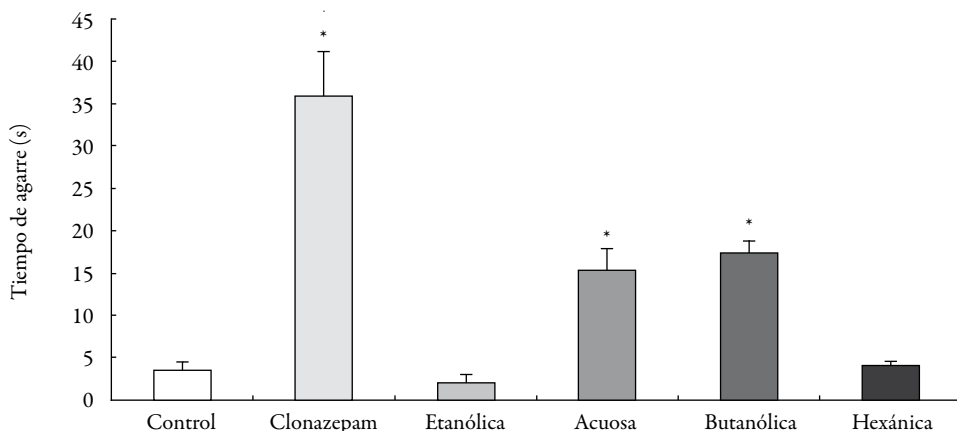


Figura 1. Tiempo que los ratones ICR tardaron en asirse con las extremidades posteriores de la barra en la *prueba del alambre*, habiendo sido tratados una hora antes por vía oral (0,1 mL/10 g de peso) con los siguientes tratamientos: control (vehículo) clonazepam (0,5 mg/kg), y los extractos/fracciones de *C. peltata*: etanólica (500 mg/kg), acuosa (110 mg/kg), butanólica (80 mg/kg) y hexánica (40 mg/kg). Cada barra representa el promedio + e. m. s., * $p \leq 0,05$ con respecto al control ($n = 6$ por grupo).

Ocultamiento de esferas. El grupo control ocultó, en promedio, 10 ± 2 esferas; el grupo de referencia, clonazepam, ocultó apenas 2 ± 1 . Los grupos tratados con el extracto etanólico y las fracciones acuosa, butanólica y hexánica ocultaron, respectivamente, 7 ± 1 , 11 ± 2 , 4 ± 1 y 10 ± 2 canicas. El efecto de clonazepam y de la fracción butanólica fue significativo con respecto al control ($p \leq 0,05$) (figura 2).

Nado forzado. Mientras el grupo control dio, en promedio, 260 ± 9 s de inmovilidad, el grupo de referencia, imipramina, dio 207 ± 6 s. Los grupos tratados con el extracto etanólico y las fracciones acuosa, butanólica y hexánica arrojaron tiempos de 244 ± 12 s, 244 ± 8 s, 243 ± 3 s y 250 ± 7 s, respectivamente. El efecto de imipramina fue significativo con respecto al control ($p \leq 0,05$) (figura 3).

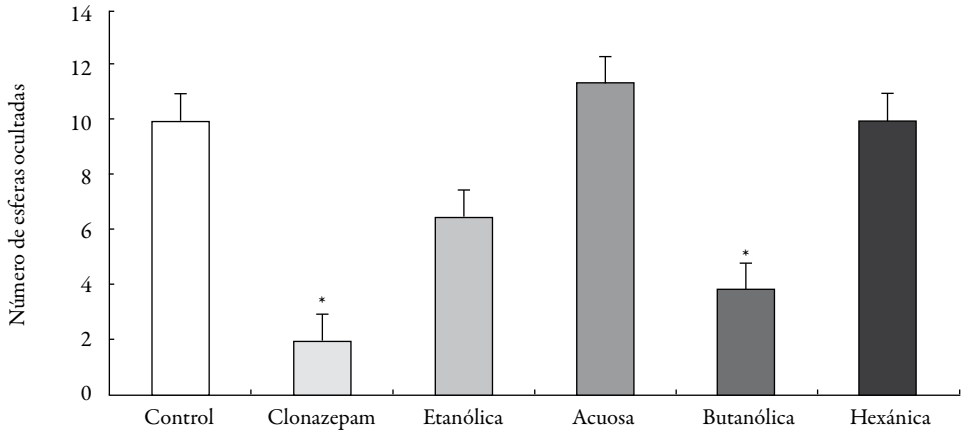


Figura 2. Número de esferas ocultadas por ratones ICR, en la *prueba de ocultamiento de esferas*, habiendo sido tratados una hora antes por vía oral (0,1 mL/10 g de peso) con los siguientes tratamientos: control (vehículo) clonazepam (0,5 mg/kg), y los extractos/fracciones de *C. peltata*: etanólica (500 mg/kg), acuosa (110 mg/kg), butanólica (80 mg/kg) y hexánica (40 mg/kg). Cada barra representa el promedio + e. m. s., * $p \leq 0,05$ con respecto al control ($n = 6$ por grupo).

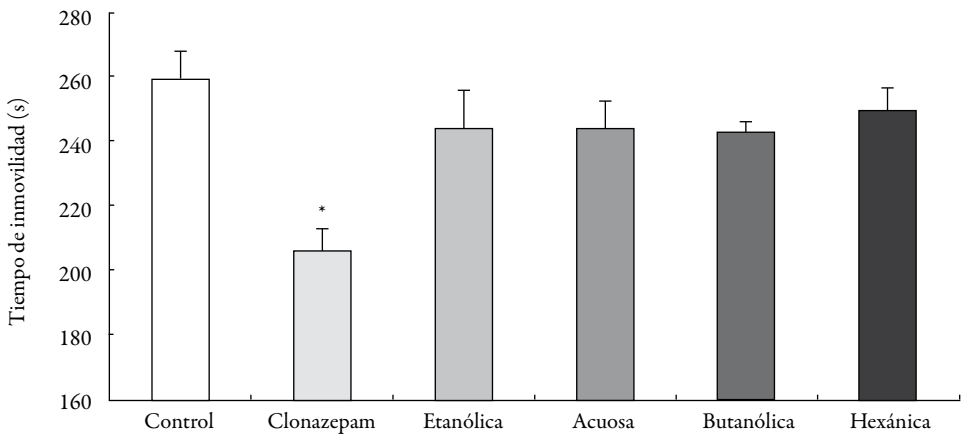


Figura 3. Tiempo de inmovilidad de ratones ICR en la *prueba de nado forzado*, habiendo sido tratados una hora antes por vía oral (0,1 mL/10 g de peso) con los siguientes tratamientos: control (vehículo) imipramina (15 mg/kg), y los extractos/fracciones de *C. peltata*: etanólica (500 mg/kg), acuosa (110 mg/kg), butanólica (80 mg/kg) y hexánica (40 mg/kg). Cada barra representa el promedio + e. m. s., * $p \leq 0,05$ con respecto al control ($n = 6$ por grupo).

Sueño barbitúrico. Mientras el grupo control dio, en promedio, 69 ± 5 min del tiempo total de sueño, el grupo de referencia, clonazepam, dio 140 ± 14 min. Los grupos tratados con el extracto etanólico y las fracciones acuosa, butanólica y hexánica arrojaron tiempos de 129 ± 18 min, 123 ± 16 min, 104 ± 18 min y 84 ± 12 min, respectivamente. El efecto de clonazepam, el extracto etanólico y las fracciones acuosa y butanólica fue significativo con respecto al control ($p \leq 0,05$) (figura 4).

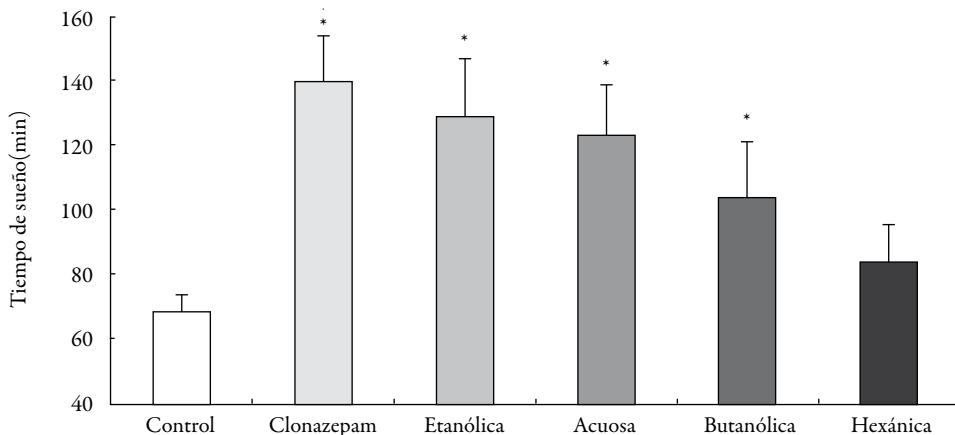


Figura 4. Tiempo de sueño de ratones ICR en la prueba de *potenciación de sueño barbitúrico*, habiendo sido tratados una hora antes por vía oral (0,1 mL/10 g de peso) con los siguientes tratamientos: control (vehículo) clonazepam (0,5 mg/kg), y los extractos/fracciones de *C. peltata*: etanólica (500 mg/kg), acuosa (110 mg/kg), butanólica (80 mg/kg) y hexánica (40 mg/kg). Cada barra representa el promedio + e. m. s., * $p \leq 0,05$ con respecto al control ($n = 6$ por grupo).

Convulsiones por pentilentetrazol. Mientras en el grupo control todos los individuos convulsionaron ($n = 6$), en el grupo patrón, clonazepam, únicamente convulsionó uno. En los grupos tratados con el extracto etanólico y las fracciones acuosa, butanólica y hexánica, convulsionaron seis, seis, dos y cuatro individuos, respectivamente. El efecto de clonazepam, y la fracción butanólica fue significativo con respecto al control ($p \leq 0,05$) (figura 5).

Convulsiones por electroshock. Mientras en el grupo control cinco individuos convulsionaron ($n = 6$), en el grupo patrón, clonazepam, no convulsionó ninguno. En los grupos tratados con el extracto etanólico y las fracciones acuosa, butanólica y hexánica, convulsionaron uno, uno, uno y dos individuos, respectivamente. El efecto de clonazepam, el extracto etanólico y las fracciones acuosa y butanólica fue significativo con respecto al control ($p \leq 0,05$) (figura 6).

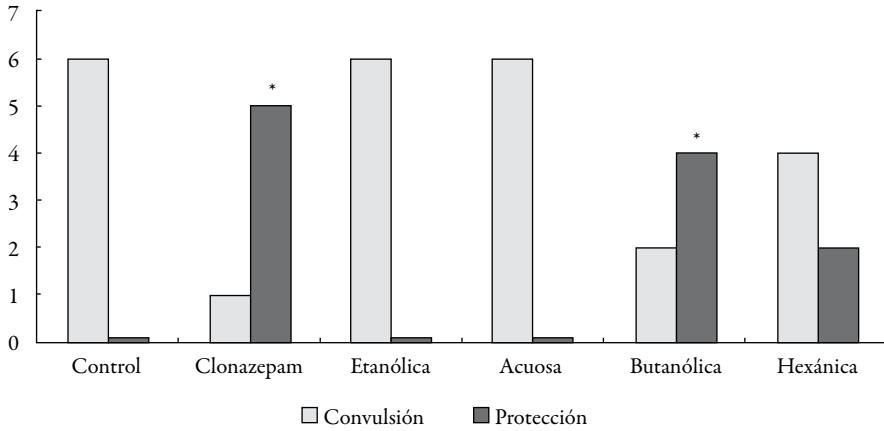


Figura 5. Número de ratones ICR que convulsionaron o se protegieron en la prueba de *convulsiones por pentilentetrazol*, habiendo sido tratados una hora antes por vía oral (0,1 mL/10 g de peso) con los siguientes tratamientos: control (vehículo) clonazepam (0,5 mg/kg), y los extractos/fracciones de *C. peltata*: etanólica (500 mg/kg), acuosa (110 mg/kg), butanólica (80 mg/kg) y hexánica (40 mg/kg). Cada barra representa el promedio + e. m. s., *p ≤ 0,05 con respecto al control (n = 6 por grupo).

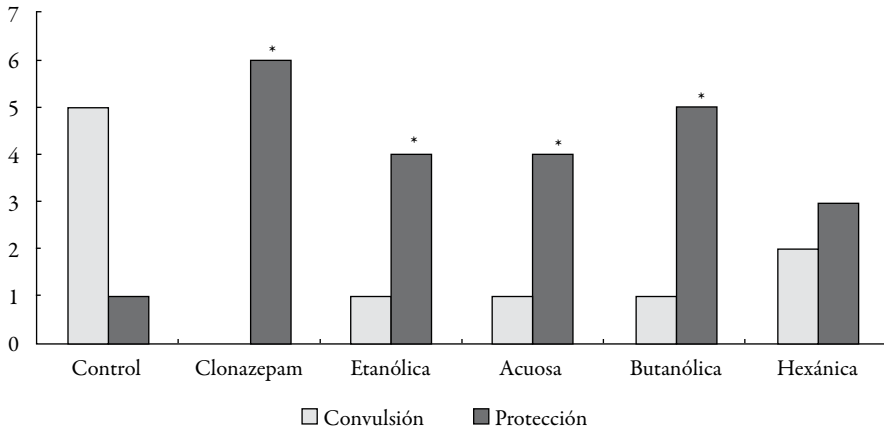


Figura 6. Número de ratones ICR que convulsionaron o se protegieron en la prueba de *convulsiones por electroshock*, habiendo sido tratados una hora antes por vía oral (0,1 mL/10 g de peso) con los siguientes tratamientos: control (vehículo) clonazepam (0,5 mg/kg), y los extractos/fracciones de *C. peltata*: etanólica (500 mg/kg), acuosa (110 mg/kg), butanólica (80 mg/kg) y hexánica (40 mg/kg). Cada barra representa el promedio + e. m. s., *p ≤ 0,05 con respecto al control (n = 6 por grupo).

En vista de que el análisis global mostró que la fracción butanólica arrojaba los mejores resultados, se efectuó un experimento dosis-respuesta con la subfracción rica en flavonoides: 4FB7; procedente de la fracción butanólica, aplicando la prueba de convulsión por electroshock con un esquema de 40 mg/kg, 80 mg/kg y 240 mg/kg ($n = 9$ por grupo). Los resultados arrojaron un número de seis, siete y siete individuos protegidos, respectivamente; mientras que en el grupo control se protegió un individuo y en el grupo patrón (clonazepam) se protegieron todos (figura 7).

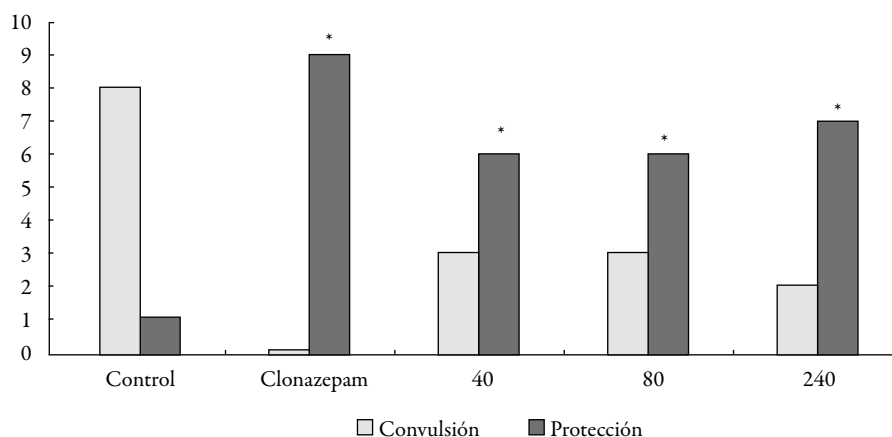


Figura 7. Número de ratones ICR que convulsionaron o se protegieron en la prueba de *convulsiones por electroshock*, habiendo sido tratados una hora antes por vía oral (0,1 mL/10 g de peso) con los siguientes tratamientos: control (vehículo) clonazepam (0,5 mg/kg), y la subfracción butanólica rica en flavonoides 4FB7 de *C. peltata*: 40 mg/kg, 80 mg/kg y 240 mg/kg. Cada barra representa el promedio + e. m. s., * $p \leq 0,05$ con respecto al control ($n = 9$ por grupo).

DISCUSIÓN

Este estudio muestra que la fracción butanólica de *C. peltata* ejercería efectos de tipo ansiolítico, sedante y anticonvulsivante de acuerdo con los resultados arrojados por las pruebas de ocultamiento de esferas, potenciación de sueño barbitúrico, pentilentezazol y electroshock en ratones. Muestran, además, que los metabolitos de tipo flavonoide tendrían un papel clave en el efecto biológico observado.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos con el extracto de *C. membranacea*, especie similar, en donde se observaron efectos de tipo ansiolítico, anticonvulsivante y presencia de metabolitos flavonoides [6], así como con los vistos en *C. glazioui* que, igualmente, mostró un perfil de tipo ansiolítico y presencia de flavonoides [22].

El efecto de tipo ansiolítico, anticonvulsivante y sedante de *C. peltata*, sugiere posibles mecanismos de tipo gabaérgico sobre el sistema nervioso central, de modo análogo a como ocurre con agentes benzodiazepínicos o barbitúricos. Es interesante observar que los compuestos flavonoides, tanto en la forma de agliconas como en formas conjugadas, pueden atravesar la barrera hematoencefálica y fijarse al receptor GABA-A [23]. Crisina (5,7-dihydroxiflavona), apigenina (5,7,4'-trihydroxiflavona) y flavona son tres de los ejemplos más notorios [24].

Aunque los compuestos flavonoides desempeñan un papel fundamental en el ámbito nutricional, cabe considerar que, eventualmente, las modificaciones estructurales sobre los mismos pueden dar con prototipos a partir de los cuales se obtengan agentes más potentes, y por ende, con efectos farmacológicos de interés, como puede ser el caso de 6,3'-dinitroflavona [25] y de agentes que incorporen grupos electronegativos, en las posiciones C2' y C3' del anillo B del esqueleto del flavonol, lo que parece mejorar la afinidad por el sitio benzodiazepínico del receptor GABA-A [26].

Este estudio sugiere la presencia de flavonoides glicosilados en *C. peltata*. Sorprendentemente, se ha observado que este tipo de flavonoides puede absorberse mejor que las agliconas [27], lo que ayudaría a explicar los efectos observados en esta especie, si se tiene en cuenta que no en todos estos metabolitos, tan ampliamente extendidos en la naturaleza, se observan efectos farmacológicos.

Aunque los mecanismos antioxidantes, antiinflamatorios, inmunomoduladores y cardiovasculares de compuestos flavonoides han sido ampliamente descritos [28, 29], los mecanismos adicionales, tales como la unión al receptor GABA-A, podrían explicar, al menos en parte, algunos de sus efectos sobre el sistema nervioso central, en particular los asociados con ansiedad, epilepsia e insomnio. También se han descrito mecanismos inhibitorios sobre MAO-A y MAO-B que ayudarían a explicar sus posibles efectos benéficos en depresión [30] y enfermedad de Párkinson [31], así como la inhibición de la cascada central de proteína quinasa [32] vinculada con trastornos cognitivos, lo que, aunado a su capacidad para captar radicales libres, les conferiría un papel protector en los trastornos degenerativos.

Por otra parte, dados los reconocidos efectos de numerosos terpenoides sobre el sistema nervioso, entre otros de tipo ansiolítico, sedante o anticonvulsivante [33, 34], también cabe considerar que este tipo de metabolitos, presentes en *C. peltata*, pueden ejercer algún efecto biológico adicional, tal como parece ocurrir en *C. glazioui* [22]. En tal caso, interacciones sinérgicas podrían estar presentes, hecho por lo demás frecuente con productos naturales [35, 36]. Este aspecto, además, daría pie a la consideración de un posible fitoterapéutico a partir de *C. peltata*.

Dado su valor predictivo, las pruebas farmacológicas utilizadas en este estudio son particularmente útiles en la identificación de la actividad farmacológica de plantas medicinales sobre el sistema nervioso central [17], y habrán de complementarse con diverso tipo de modelos experimentales, *in vivo* e *in vitro* para caracterizar el efecto farmacológico. Aunque el tamaño de muestra por grupo de tratamiento en los experimentos utilizados es pequeño ($n = 6-9$), esto no le resta valor a la información aportada y está en consonancia con un imperativo ético en la investigación con animales de laboratorio: la utilización del menor número posible de individuos [37].

En conclusión, *C. peltata*, especie rica en metabolitos de tipo flavonoide, ejerce efectos de tipo anticonvulsivante, ansiolítico y sedante en modelos de tamizado farmacológico en ratones, lo que da soporte a su uso etnobotánico. Se requieren mayores estudios, farmacológicos y fitoquímicos, para identificar los metabolitos responsables de la actividad y sus mecanismos de acción.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se financió con recursos de la División de Investigación de la sede Bogotá (VRI/DIB) de la Universidad Nacional de Colombia (proyecto 9334). Los autores agradecen al grupo de investigación "Principios Bioactivos en Plantas" (COL0014832) y al Bioterio del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia.

REFERENCIAS

1. G.M. Costa, E.P. Schenkel, F.H. Reginatto, Chemical and pharmacological aspects of the genus *Cecropia*, *Nat. Prod. Commun.*, **6**, 913 (2011).
2. P.E. Luengas-Caicedo, F.C. Braga, G.C. Brandão, A. Braga de Oliveira, Seasonal and intraspecific variation of flavonoids and proanthocyanidins in *Cecropia glaziovii* Sneth leaves from native and cultivated specimens, *Z. Naturforsch C.*, **62**, 701 (2007).
3. M.T. Lima-Landman, A.C. Borges, R.M. Cysneiros, T.C. de Lima, C. Souccar, A.J. Lapa, Antihypertensive effect of a standardized aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth in rats: An *in vivo* approach to the hypotensive mechanism, *Phytomedicine*, **14**, 314 (2007).
4. M.M. Tanac, M.T. Lima-Landman, T.C. de Lima, C. Souccar, A.J. Lapa, Chemical standardization of the aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth endowed

- with antihypertensive, bronchodilator, antacid secretion and antidepressant-like activities, *Phytomedicine* **14**, 309 (2007).
5. M.F. Ninahuaman, C. Souccar, A.J. Lapa, M.T. Lima-Landman, ACE activity during the hypotension produced by standardized aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth: A comparative study to captopril effects in rats, *Phytomedicine* **14**, 321 (2007).
 6. D.A. Jaramillo, J. Rincón, M.F. Guerrero, Actividad tipo antiausencia del extracto metanólico de *Cecropia membranacea* Trécul en ratones, *Vitae* **15**, 267 (2008).
 7. H. García, “Flora medicinal de Colombia”, Tercer Mundo, Bogotá, 1992, p. 254.
 8. J. Correa, H. Bernal, “Especies vegetales promisorias de los países del Convenio Andrés Bello”, Guadalupe, Bogotá, 1995, p. 401.
 9. I. Cabrera, “Las plantas y sus usos en las islas de Providencia y Santa Catalina”, Programa Editorial Universidad del Valle, Santiago de Cali, 2005, p. 207.
 10. V.K. Kimiskidis, T. Valeta, Epilepsy and anxiety: Epidemiology, classification, aetiology, and treatment, *Epileptic Disord.*, **14**, 248 (2012).
 11. J. Lake, Psychotropic medications from natural products: A review of promising research and recommendations, *Altern. Ther. Health Med.*, **6**, 39 (2000).
 12. G. Walter, J.M. Rey, The relevance of herbal treatments for psychiatric practice, *Aust. N. Z. J. Psychiatry*, **33**, 482 (1999).
 13. J. Sarris, Herbal medicines in the treatment of psychiatric disorders: A systematic review, *Phytother. Res.*, **21**, 703 (2007).
 14. J. Sarris, D.J. Kavanagh, Kava and St. John’s Wort: Current evidence for use in mood and anxiety disorders, *J. Altern. Complement. Med.*, **15**, 827 (2009).
 15. M.S. Hussain, S. Fareed, S. Ansari, M.A. Rahman, I.Z. Ahmad, M. Saeed, Current approaches toward production of secondary plant metabolites, *J. Pharm. Bioallied Sci.*, **4**, 10 (2012).
 16. M.L. Chávez, M.A. Jordán, P.I. Chávez, Evidence-based drug-herbal interactions, *Life Sci.*, **78**, 2146 (2006).

17. A.J. Lapa, C. Souccar, M.T.R. Lima-Landman, T.C.M. de Lima, "Métodos de evaluación de la actividad farmacológica de plantas medicinales", *CYTED/CNPq.*, 2001, p. 72.
18. R.D. Porsolt, A. Bertin, M. Jalfre, Behavioral despair in mice: A primary screening test for antidepressants, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **229**, 327 (1977).
19. H.G. Voguel (ed.). "Drug discovery and evaluation. Pharmacological assays", 2 ed., Springer, New York, 2002, p. 495.
20. W. Löscher, D. Hönack, C.P. Fassbender, B. Nolting, The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. III. Pentylentetrazole seizure models, *Epilepsy Res.*, **8**, 171 (1991).
21. M.M. Castel-Branco, G.L. Alves, I.V. Figueiredo, A.C. Falcão, M.M. Caramona, The maximal electroshock seizure (MES) model in the preclinical assessment of potential new antiepileptic drugs, *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, **31**, 101 (2009).
22. F.F. Rocha, A.J. Lapa, T.C. de Lima, Evaluation of the anxiolytic-like effects of *Cecropia glazioui* Sneth in mice, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **71**, 183 (2002).
23. A.K. Jäger, L. Saaby, Flavonoids and the CNS, *Molecules*, **16**, 1471 (2011).
24. M. Marder, A.C. Paladini, GABA(A)-receptor ligands of flavonoid structure, *Curr. Top. Med. Chem.*, **2**, 853 (2002).
25. A.C. Paladini, M. Marder, H. Viola, C. Wolfman, C. Wasowski, J.H. Medina, Flavonoids and the central nervous system: From forgotten factors to potent anxiolytic compounds, *J. Pharm. Pharmacol.*, **51**, 519 (1999).
26. F. Wang, M. Shing, Y. Huen, S.Y. Tsang, H. Xue, Neuroactive flavonoids interacting with GABAA receptor complex, *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.*, **4**, 575 (2005).
27. P.C. Hollman, M.B. Katan, Bioavailability and health effects of dietary flavonols in man, *Arch. Toxicol. Suppl.*, **20**, 237 (1998).
28. L.H. Cazarolli, L. Zanatta, E.H. Alberton, M.S. Figueiredo, P. Folador, R.G. Damazio, M.G. Pizzolatti, F.R. Silva, Flavonoids: Prospective drug candidates, *Mini Rev. Med. Chem.*, **8**, 1429 (2008).

29. O. Benavente-García, J. Castillo, Update on uses and properties of citrus flavonoids: New findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity, *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 6185 (2008).
30. S.E. Dixon Clarke, R.R. Ramsay, Dietary inhibitors of monoamine oxidase-A, *J. Neural Transm.*, **118**, 1031 (2011).
31. A. Rajeswari, M. Sabesan, Inhibition of monoamine oxidase-B by the polyphenolic compound, curcumin and its metabolite tetrahydrocurcumin, in a model of Parkinson's disease induced by MPTP neurodegeneration in mice, *Inflammopharmacology*, **16**, 96 (2008).
32. J.P. Spencer, The impact of fruit flavonoids on memory and cognition, *Br. J. Nutr.*, **104**, S40 (2010).
33. H. Kuribara, S.T. Weintraub, T. Yoshihama, Y. Maruyama, An anxiolytic-like effect of *Ginkgo biloba* extract and its constituent, ginkgolide-A, in mice, *J. Nat. Prod.*, **66**, 1333 (2003).
34. B.W. Pyle, H.T. Tran, B. Pickel, T.M. Haslam, Z. Gao, G. MacNevin, *et al.*, Enzymatic synthesis of valerena-4,7(11)-diene by a unique sesquiterpene synthase from the valerian plant (*Valeriana officinalis*), *FEBS J.*, **279**, 3136 (2012).
35. A. Nahrstedt, V. Butterweck, Lessons learned from herbal medicinal products: The example of St. John's Wort, *J. Nat. Prod.*, **73**, 1015 (2010).
36. E.M. Williamson, Synergy and other interactions in phytomedicines, *Phytomedicine*, **8**, 401 (2001).
37. D.A. Fitts, Ethics and animal numbers: Informal analyses, uncertain sample sizes, inefficient replications, and type I errors, *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.*, **40**, 445 (2011).