

Centro de Bioactivos Marinos

## ***PLECTRANTHUS AMBOINICUS* (LOUR.) SPRENG. (ORÉGANO FRANCÉS): EFECTO ANTIMUSCARÍNICO Y POTENCIACIÓN DE LA ADRENALINA**

Lic. Mirta Llanio Villate,<sup>1</sup> Dr. Héctor Pérez-Saad,<sup>2</sup> Lic. Miguel David Fernández Pérez,<sup>3</sup> Lic. Eneida Garriga Sarría,<sup>4</sup> Lic. Rosa Menéndez Castillo<sup>3</sup> y Lic. María teresa Buznego Rodríguez<sup>1</sup>

### **RESUMEN**

Se investigó el efecto del extracto acuoso de *P. amboinicus* sobre el fleon aislado de curiel y conducto deferente en ratas. El extracto acuoso produjo en el fleon aislado de curiel, un antagonismo colinérgico muscarínico de tipo competitivo y en el conducto deferente en ratas se observó una potenciación de la adrenalina exógena. Además, los resultados en el conducto deferente estimulado eléctricamente en ratas sugieren que el extracto acuoso de la planta inhibe la recaptación intraneuronal de catecolaminas. Los efectos antimuscarínicos y adrenérgicos pueden contribuir a la acción antiepiléptica y representan a la vez una posible actividad antidepressiva.

Descriptores DeCS: EXTRACTOS VEGETALES/farmacología; PLANTAS MEDICINALES; ILEON/efectos de drogas; VASOS DEFERENTES/efectos de drogas; COBAYOS; RATAS.

### **ABSTRACT**

We investigate the aqueous extract effect from *P. amboinicus* on isolated ileum of guinea pigs and deferent ductus in rats. Aqueous extract produced a competitive type of muscarinic cholinergic antagonism on guinea pigs isolated ileum, and deferent ductus in rats; and an increase of exogenous adrenaline was observed. Moreover, results obtained in electrically-stimulated deferent ductus in rats, suggest that aqueous extract of the plant, to inhibit intraneuronal reuptake of catecholamines. Anti-muscarinic and adrenergic effects may contribute to antiepileptic action and at once, represent a potential antidepressant activity.

Subject headings: PLANT EXTRACT/pharmacology; PLANTS MEDICINAL; ILEUM/drug effects; VAS DEFERENS/drug effects; GUINEA PIGS; RATS.

Se ha demostrado que *Plectranthus amboinicus* (orégano francés) presenta un efecto antiepiléptico en el modelo de "kindling" por lidocaína en ratas,<sup>1</sup> cuyo mecanismo no ha sido dilucidado.

Con el objetivo de avanzar en el conocimiento del perfil farmacológico de esta planta y del posible mecanismo de acción antiepiléptico, en el presente trabajo se estudia el efecto de un extracto hidrosoluble de la planta (liofilizado) en el fleon aislado de curiel y conducto deferente de rata.

### **MÉTODOS**

La especie *P. amboinicus* fue identificada por el doctor Víctor Fuentes y registrada con el número de herbario Roig 4579 en la Estación Experimental de Plantas Medicinales "Dr. Juan Tomás Roig" perteneciente a la Industria Farmacéutica en San Antonio de los Baños.

El liofilizado de la planta (L) se obtuvo a partir de hojas secas sometidas a decocción, filtración y liofilización.

<sup>1</sup> Licenciada en Ciencias Biológicas. Investigadora Auxiliar.

<sup>2</sup> Doctor en Ciencias Médicas. Investigador Titular.

<sup>3</sup> Licenciado (a) en Bioquímica. Investigador (a) Agregado(a).

<sup>4</sup> Licenciada en Matemáticas. Profesora Auxiliar.

## ÍLEON SUPERFUNDIDO DE CURIEL

Se utilizaron curieles machos, de la raza *Hartley*, de 200 a 250 g de peso corporal. Se extrajo el íleon de acuerdo con la técnica de *Sainz y otros*.<sup>2</sup> Los fragmentos de íleon se suspendieron en un baño de órganos y fueron perfundidos con solución *Krebs* a 36 °C con el empleo de un frasco suministrador colocado a una altura de 80 cm por encima de la preparación y un condensador intermedio para la recirculación de agua a temperatura correspondiente, proveniente de un termostato. La superfusión se realizó a través de una aguja hipodérmica a una velocidad de 0,5 mL por min dejando caer las gotas de solución nutritiva encima de la preparación. Se realizaron curvas dosis-efecto de acetilcolina aplicando directamente sobre el íleon 100 mL de solución *Krebs* a 36 °C con concentraciones de acetilcolina que variaban en un incremento de tres veces a partir de 10 ng/mL. El L se diluyó en solución *Krebs* en el frasco suministrador en concentraciones de 1 y 3 mg/mL. El frasco suministrador fue burbujado con una mezcla de O<sub>2</sub> (95 %) y CO<sub>2</sub> (5 %).

## CONDUCTO DEFERENTE DE RATA

Se utilizaron ratas machos, *Wistar*, con un peso corporal entre 300 y 400 g. El conducto deferente aislado se preparó según la técnica de *Sainz y otros*.<sup>3</sup> Se empleó un baño de órgano de 8 mL de capacidad que contenía solución *Krebs*, burbujada con una mezcla de O<sub>2</sub> (95 %) y CO<sub>2</sub> (5 %).

Se realizaron curvas dosis-efecto de adrenalina en ausencia y presencia de L a concentraciones de 1 y 3 mg/mL. El L se añadió al baño 10 min antes de cada dosis de adrenalina, las cuales se encontraban en un rango de 0,1 hasta 30 ng/mL.

## CONDUCTO DEFERENTE DE RATA ESTIMULADO ELÉCTRICAMENTE-EXPERIMENTO

Se utilizaron ratas *Sprague Dawley* machos, de 300 a 400 g de peso corporal a las que se le extrajeron los conductos deferentes según la técnica de *Sainz y otros*.<sup>3</sup> Cada conducto se colocó en un dispositivo para estimulación eléctrica transmural sumergido en un baño para órganos aislados de 8 mL de capacidad que contenía solución *Krebs* burbujada con una mezcla de CO<sub>2</sub> (5 %) y O<sub>2</sub> (95 %). Los parámetros de estimulación eléctrica fueron: 80 V, 0,3 ms durante 15 s cada 3 min en un estimulador *Nihon Kodhen* SEN-3101. En todos los experimentos se emplearon simultáneamente dos conductos deferentes, uno control y otro experimental. En ambos casos se empleó reserpina para depletar los almacenes intraneuronales de catecolaminas y posteriormente las preparaciones fueron incubadas durante 2 h con adrenalina con el objetivo de provocar el relleno de las vesículas sinápticas. En la preparación control se estudió el efecto de: salina, reserpina y recuperación pos-adrenalina. En la prepa-

ración experimental se estudió el efecto de: L, reserpina + L y recuperación pos-adrenalina + L. Las concentraciones de incubación fueron: salina, 0,01 mL; reserpina, 30 mg/mL; adrenalina, 45 mg/mL y L, 3 mg/mL.

El diseño utilizado consistió en: 5 estimulaciones eléctricas antes y después de añadir las sustancias (CINa 0,9 % o L) y 5 estimulaciones eléctricas después de añadir reserpina al baño. A continuación se lavó la preparación y se le añadió al baño adrenalina y solución salina o L permaneciendo en este medio sin estimulación durante 2 h, al cabo de las cuales se realizaron 4 lavados y a continuación 5 estimulaciones.

En todos los experimentos se midió la amplitud de las contracciones de los órganos registradas a través de un transductor fuerza-desplazamiento en un polígrafo *Nihon Kodhen*.

## RESULTADOS

Se muestra el efecto de 1 y 3 mg/mL de L sobre la curva dosis-efecto de acetilcolina, donde se observa que la primera concentración mencionada no modificó significativamente dicha curva (Tabla 1). En cambio, la segunda concentración produjo un desplazamiento paralelo de la curva dosis-efecto de acetilcolina sin caída de la respuesta máxima, lo cual se corresponde con un antagonismo de tipo competitivo (Tabla 2).

En la tabla 3 se muestra el efecto de L sobre la curva dosis-efecto de adrenalina, donde se observa que la dosis de 1 mg/mL desplazó la curva dosis-efecto de la adrenalina hacia la izquierda.

En la tabla 4 se observa que la concentración de 3 mg/mL de L no produjo un cambio significativo de la curva.

**TABLA 1.** Empleo de 1 mg/mL de L de P, *amboinicus* sobre la curva dosis-efecto de acetilcolina en el íleon superfundido de curiel

Dosis de Ach (ug)	Contracción del íleon en porcentajes	
	ACh	ACh + L
0,0005	10,5	0,0
0,001	11,5	0,0
0,005	22,7	8,0
0,01	40,0	34,8
0,04	50,0	42,5
0,13	56,7	55,6
0,4	64,3	60,9
1,2	74,5	77,4
3,7	77,5	87,2
11,1	86,7	90,6
33,3	91,7	97,1
100,0	100,0	100,0

n= 5. ACh: acetilcolina, L: liofilizado.

En la tabla 5 se observan los resultados obtenidos durante las contracciones producidas por la estimulación eléctrica del conducto deferente de ratas en las diferentes etapas del diseño experimental. Como se puede apreciar, L por una parte, potenció el efecto depletor de la reserpina, y por otra, redujo la recuperación pos-adrenalina.

**TABLA 2.** Efecto de 3 mg/mL de L de *P. amboinicus* sobre la curva dosis-efecto de acetilcolina en el ileon superfundido de curiel

Dosis de Ach (ug)	Contracción del ileon en porcentos	
	ACh	ACh + L
0,0005	5,5	0,0*
0,001	8,7	0,0*
0,005	12,0	0,0*
0,01	20,6	0,0*
0,04	35,1	0,0*
0,13	44,9	18,1*
0,4	61,9	42,3*
1,2	78,7	55,0*
3,7	87,6	77,0*
11,1	91,3	82,3*
33,3	93,3	97,9*
100,0	100,0	100,0*

n= 5. \*p < 0,05 según la prueba de *t-student* respecto al control. ACh: acetilcolina, L: liofilizado.

**TABLA 3.** Efecto de L de *P. amboinicus* (1 mg/mL) sobre la curva dosis-efecto de adrenalina en el conducto deferente de ratas

Concentración de A (ng/mL)	Contracción del conducto deferente en porcentos	
	A	A + L
0,1	12,6	19,0*
0,3	25,3	36,1*
1	35,8	57,4*
3	47,7	67,3*
10	69,4	94,5*
30	80,6	94,5*
100	100,0	100,0

n= 3. \* p < 0,05 según la prueba de *t-student* respecto al control. A: adrenalina, L: liofilizado

**TABLA 4.** Efecto de L de *P. amboinicus* (3 mg/mL) sobre la curva dosis-efecto de adrenalina en el conducto deferente de ratas

Concentración de A (ng/mL)	Contracción del conducto deferente en porcentos	
	A	A + L
0,1	14,5	21,00
0,3	22,3	31,2
1	38,2	41,9
3	43,6	47,5
10	67,1	64,5
30	80,5	76,2
100	100,0	100,0

n= 4. A: adrenalina, L: liofilizado.

**TABLA 5.** Efecto del extracto *P. amboinicus* en conducto deferente de rata estimulado eléctricamente

	Porcentaje de inhibición	
	Solución	L
A	100	100
B	73	79
C	61	13*
D	58	16*

A: Controles. B: Sustancias. C: Efecto de la reserpina. D: Efecto en la recaptura de adrenalina después del lavado. Los asteriscos indican diferencias significativas según la *t-student* respecto al control ( $p < 0,05$ ). n=5.

## DISCUSIÓN

El extracto de *P. amboinicus* mostró un efecto de tipo antimuscarínico en el ileon aislado de curiel, efecto que pudiera contribuir a su acción antiepiléptica, ya que es conocido que el carbacol, agonista de los receptores colinérgicos muscarínicos se emplea para modelar la epilepsia mediante su aplicación tópica cortical<sup>4</sup> y que la pilocarpina, otro agonista colinérgico, se emplea en dosis altas para producir un modelo crónico de epilepsia en ratas.<sup>5,6</sup>

Además, se pudo demostrar que el extracto de la planta desplaza la curva-dosis efecto de la adrenalina hacia la izquierda en conducto deferente en rata. Este resultado sugiere un incremento de la interacción de la adrenalina con sus receptores posiblemente por un bloqueo de algunos de sus mecanismos de inactivación. Llama la atención que este efecto no se obtuvo con la dosis más alta, lo cual pudiera estar relacionado con la presencia de otros principios activos con efectos opuestos al incrementar la dosis.

Los resultados de los experimentos en conducto deferente estimulado eléctricamente sugieren un efecto inhibitorio de *P. amboinicus* sobre los mecanismos de recaptura intraneuronal de las catecolaminas. Esta acción también pudiera estar involucrada en el efecto antiepiléptico de la planta, ya que se conoce que durante el desarrollo del fenómeno epileptogénico conocido como "*kindling*" existe reducción de catecolaminas cerebrales.<sup>7</sup>

## AGRADECIMIENTOS

Se le agradece a las técnicas Edita Mustelir y Betty Cabrera la asistencia brindada.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Buznego MT, Pérez-Saad H, Carrión L, Garriga E. Efecto antiepiléptico del *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. (orégano francés) en diferentes modelos de epilepsia experimental. *Revista de Biología* 1993;2-3:161-170.
- Sainz F, Miyares C, García M. Ileon aislado de curiel. En: Valdéz JF, ed. *Técnicas de farmacología experimental*. La Habana: Editorial Ciencia Y Técnica, 1972:131-135.

3. Sainz F, Miyares C, García M. Conducto deferente aislado en ratas. En: Valdés JF, ed. Técnicas de farmacología experimental. La Habana: Editorial Ciencia y Técnica, 1972:45-60.
4. Wasterlain CG, Farber DB, Fairchild D. Cholinergic kindling: what has taught us about epilepsy? *Neural Transmission* 1985;63:119-132.
5. Turski WA, Carvalheiro EA, Schwarz M, Czuczwar SJ, Kleinro KZ, Turski L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: a behavioral, electroencephalographic and neuropathological study. *Brain Res* 1983;9:315-335.
6. Cavalheiro EA, Leite JP, Bortolotto ZA, Turski WA, Ikonomidou C, Turski L (1991) Long-term effects of pilocarpine in rats: structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures. *Epilepsia* 1991;32:778-782.
7. Jobe PC, Laird II HE. Neurotransmitter systems and the epilepsy models. En: Jobe PC, Laird II HC, eds. *Neurotransmitter and epilepsy*, New Jersey: The Humana Press, 1987:339-366.

Recibido: 21 de diciembre de 1999. Aprobado: 5 de enero de 1999.  
Lic. Mirta Llanio Villate. Centro de Bioactivos Marinos, Loma y 37,  
Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléfono: 819650.