

Evaluación farmacológica y química de *Stachytarpheta jamaicensis* (Verbenaceae)

Sergia Melita Rodríguez¹ y Oscar Castro²

¹ Universidad de Panamá, Facultad de Medicina, Departamento de Farmacología, Panamá.

² Universidad Nacional, Departamento de Química, Heredia 3000, Costa Rica.

(Rec. 18-VIII-1995. Rev. 2-I-1996. Acep. 10-I-1996)

Abstract: After intraperitoneal administration of gradual aqueous doses obtained from *Stachytarpheta jamaicensis* leaves, the following effects were observed in rats: a reduction of motor activity and the alarm reaction, ataxia, sedation, analgesia, anesthesia, ptosis, piloerection, head tremors and a significant reduction of body temperature of about 8.4°C. Robichaud's sign was present, probably due to some muscular relaxation. There were appreciable changes on respiration, with increment on amplitudes and reduction on the frequency, followed by apnea and the death of the animals, probably due to asphyxia. Iridoid ipolamiide and the phenylpropanoid glycoside, verbascoside, were identified from the same extracts. Both metabolites have been indicated with potential pharmaceuticals properties in accord with ethnobotanical value attributed to this plant.

Key words: Folk medicine, pharmacological observations in rats, ipolamiide iridoid, verbascoside.

Stachytarpheta jamaicensis (L.) Vahl es una planta herbácea de amplia distribución en regiones tropicales del continente americano. En Costa Rica y Panamá es común encontrarla como cerco decorativo al frente de casas de campo, debido al atractivo que ofrecen sus perennes inflorescencias de color púrpura las cuales se agrupan en espigas terminales de hasta 50 cm de largo. Según información etnobotánica recopilada para el área mesoamericana (Weniger y Robineau 1986), la decocción de las hojas de esta planta presenta los siguientes variados usos en la medicina tradicional de la Cuenca del Caribe: vermífugo (Haiti, Bahamas, Salvador, Trinidad y Jamaica), emético y purgativo (Bahamas, Puerto Rico y México), vulnerario (Cuba, Trinidad, salvador, Barbados y Bahamas), diarrea (Costa Rica, Panamá y República dominicana), antigripal (Bahamas, Trinidad y Jamaica), febrífugo (Mexico, Panamá y Trinidad), emenagogo y sudorífico (Mexico), calmante (Curazao), como antiabético y para controlar la hipertensión (Isla Dominicana). También se destaca que la raíz se emplea

como antiictérica (Salvador) y como abortiva (Bahamas).

Con el propósito de justificar algunas de estas bondades medicinales, se evaluaron diferentes efectos farmacológicos, provocados en ratas inyectadas intraperitonealmente con diferentes dosis de extractos acuosos derivados de las hojas de esta planta. La presente investigación revela que existe correlación entre efectos observados y las propiedades biológicas atribuidas a los dos principales metabolitos secundarios identificados en estos mismos extractos.

MATERIAL Y METODOS

Elaboración de extractos: Las hojas secas y molidas de *Stachytarpheta jamaicensis* cultivadas en la ciudad de Chitré, Panamá, fueron extraídas por maceración en frío con etanol 95%. Una vez evaporado el alcohol mediante destilación al vacío el residuo seco obtenido se disolvió en agua destilada. Previa filtración, a partir de este extracto acuoso se

prepararon diferentes dosis para evaluar sus efectos farmacológicos en ratas. El remanente liofilizado pesó 6.3g.

Evaluación farmacológica: Esta investigación se realizó en el Departamento de Farmacología de la Universidad de Panamá. Se emplearon 36 ratas hembras, Wistar blancas, con pesos comprendidos entre 100 y 190g, las cuales fueron mantenidas en grupos de seis por dos semanas en el laboratorio de experimentación, previo al inicio de los estudios. Un grupo sirvió de control y fue tratado con 0.2 ml del vehículo administrado intraperitonealmente. A los cinco grupos restantes se les administró, por la misma vía, dosis de 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 y 1.0 g/kg, preparadas a partir de los extractos acuosos obtenidos de las hojas de esta planta. Las ratas fueron observadas continuamente durante 4 hr y luego a las 12 y 24 hr. Los cambios observados fueron anotados de acuerdo a lo recomendado por el método de Sandberg (1982). De este modo se consideró (0) para respuestas normales, ausentes o inalteradas, (+) para respuestas apreciables, (++) para respuestas marcadas y (+++) para respuestas máximas. A todas las ratas se les midió la temperatura rectal durante 4 hr, considerando intervalos de 30 min después de la administración del extracto y, la presencia o ausencia de efectos como actividad motora, ataxia, sedación, hipnosis, analgesia, anestesia, piloerección, pérdida del reflejo de enderezamiento, reacción de alarma, actividad prensil, signo de Robichaud, temblores de cabeza y cuerpo, reflejo corneal y pineal, fasciculaciones, convulsiones, cambios respiratorios, vasodilatación o vasoconstricción, ptosis parpebral, temperatura, enoftalmia, o exoftalmía, lacrimación, tamaño de la pupila, nistagmus, palidez o hiperemia, cianosis, salivación, micturación, diarrea, agresividad y respuesta estereotipada.

El signo de Robichaud se evaluó tomando la piel del lomo entre los dedos. La prueba se consideró positiva cuando al quitar los dedos la piel permanecía ligeramente pegada por algunos segundos.

Aislamiento y purificación de compuestos: Se purificaron 3.3g de los extractos acuosos liofilizados, empleando como soporte cromatografía en fase reversa de sílica gel de acuerdo al siguiente procedimiento: Sobre un embudo de kitasato con un volumen de 350 ml y 9 cm de altura, se formó una columna con esta sílica de 5 cm de altura. Luego, la muestra disuelta en 20 ml

de agua destilada se depositó sobre la superficie de esta columna. Usando vacío y volúmenes de 50 ml, esta muestra fue eluida primero con agua y luego con mezclas de agua/metanol, que fueron incrementadas sucesivamente con 10% de metanol hasta finalizar con metanol. En total se recolectaron 15 fracciones, las cuales fueron analizadas en agua deuterada por espectroscopía de Resonancia Magnética Protónica, usando un equipo de 270 MHz marca Bruker y por cromatografía de capa fina en gel de sílice, usando como agente revelador el reactivo de vainillina.

Considerando semejanzas en detalles espectroscópicos y cromatográficos las fracciones se reunieron en 4 grupos principales. Un grupo obtenido con las mezclas de agua/metanol (80:20), (70:30) concentró principalmente glucosa, mientras que fracciones obtenidas con agua/metanol (60:40), (50:50) y (40:60) arrastraron, respectivamente, 700 mg de un compuesto cuya naturaleza iridoidal fue evidenciada cromatográficamente, por el color morado con que reveló al ser rociada con el reactivo de vainillina y 400 mg de un compuesto amorfo muy polar, soluble en agua y en dimetilsulfóxido.

RESULTADOS

Se observó la siguiente variedad de efectos farmacológicos, en las ratas administradas intraperitonealmente con los extractos acuosos de las hojas de esta planta: presencia o ausencia de efectos como actividad motora, ataxia, sedación, hipnosis, analgesia, anestesia, piloerección, pérdida del reflejo de enderezamiento, reacción de alarma, actividad prensil, signo de Robichaud, temblores de cabeza y cuerpo, reflejo corneal y pineal, fasciculaciones, convulsiones, cambios respiratorios, vasodilatación o vasoconstricción, ptosis parpebral, temperatura, enoftalmia, o exoftalmía, lacrimación, tamaño de la pupila, nistagmus, palidez o hiperemia, cianosis, salivación, micturación, diarrea, agresividad y respuesta estereotipada. Los resultados más relevantes se destacan en el cuadro 1.

Las dosis más bajas (0.1 g/kg), provocaron en los animales ensayados disminución apreciable de la actividad motora, la temperatura y la respuesta de alarma, así como analgesia, piloerección, cianosis, cambios respiratorios y ptosis parpebral. Todos estos efectos aumenta-

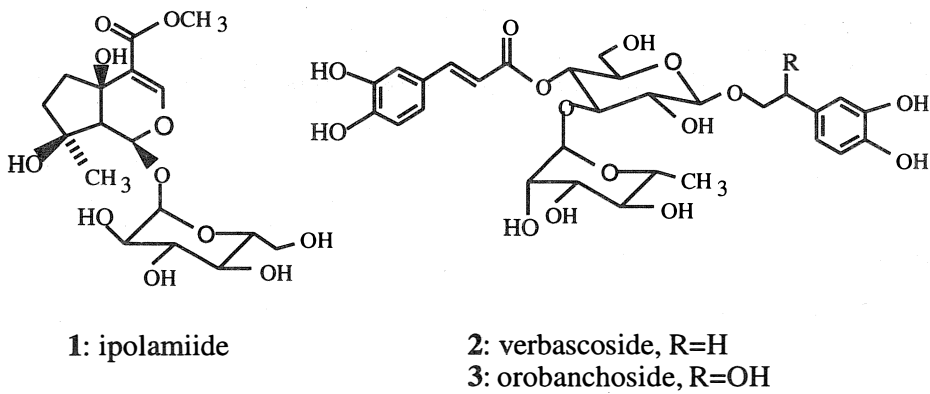


Fig. 1. Transformación enzimática del iridoide verbenalin 4 que conduce a la aglicona activa contra *Staphylococcus aureus*.

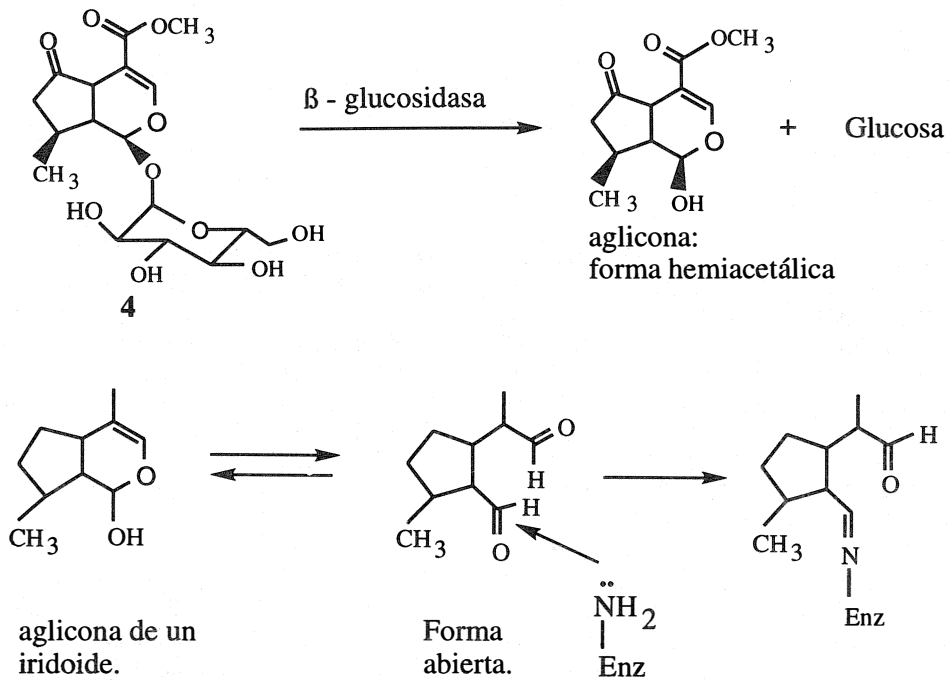


Fig. 2. Mecanismo propuesto para el bloqueo de un grupo amino por medio de la forma abierta de una aglicona iridoidal.

ron con las dosis de 0.3 y 0.5 g/kg, alcanzándose respuestas máximas con las dosis de 0.7 y 1.0 g/kg. Otros efectos observados fueron ataxia y signo de Robichaud positivo a partir de las dosis de 0.3 g/kg y 0.5 g/kg. También se apreció pérdida del reflejo de enderezamiento y anestesia con las dosis de 0.7 y 1.0 g/kg. Durante las 24 hr de observación no hubo muerte de ratas con las dosis de 0.1 y 0.3 g/kg, sin embargo, se dio un 50% y 100% de mortalidad

cuando se aplicaron las dosis de 0.7 y 1.0 g/kg, respectivamente.

De particular interés, fue la disminución inusual observada de la temperatura corporal conforme se incrementaban las dosis de aplicación. Se observó que mientras dosis de 0.1 g/kg reducían la temperatura solo unos décimos de grado, se producían descensos hasta de 8.4°C cuando se administraban dosis de 0.7 g/kg. Estos resultados se resumen en cuadro 2.

CUADRO 1

Efectos manifestados por la administración intraperitoneal en ratas de diferentes dosis de extractos acuosos obtenidos a partir de hojas de Stachytarpheta jamaicensis

Efectos	Control	Dosis (g / kg)				
		0.1	0.3	0.5	0.7	1.0
Actividad motora	0	+	++	+++	+++	+++
Ataxia	0	0	+	++	+++	+++
Pérdida reflejo de enderezamiento	0	0	0	0	++	+++
Analgesia	0	+	++	++	+++	+++
Anestesia	0	0	0	0	++	+++
Piloerección	0	+	++	++	++	++
Disminución temperatura	0	+	++	++	+++	+++
Disminución de la reacción de alarma	0	+	+	++	+++	+++
Temblores de cabeza	0	+	+	0	0	0
Ojos rojos y sanguinolentos	0	0	0	+	+	0
Extensiones tónicas al morir	0	0	0	+	+	+
Cianosis	0	+	+	++	+++	+++
Cambios respiratorios	0	+	+	+++	+++	+++
Ptosis palpebra	0	+	+	++	++	+++
Signo de Robichaud	0	0	0	+	++	++
Muertes	0	0	0	16%	50%	100%

(0) Respuesta normal, ausente o inalterada. (+) Respuesta apreciable.

(++) Respuesta marcada. (+++) Respuesta máxima.

El compuesto de naturaleza iridoidal presentó los siguientes datos espectroscópicos: ¹H RMN (300MHz, DMSO-d₆, d) 7.32 (s, H-3), 5.64 (s, H-1), 4.38 (s, H-1'), 3.90-3.20 (4H,m, glucosa), 3.60 (s, OMe), 2.28 (s, H-9), 0.98 (s, CH₃-8), ¹³C RMN (DMSO-d₆): 166.0 (C-11), 150.7(C-3), 114.2 (C-4), 97.9 (C-1'), 92.8 (C-1), 77.3 (C-5'), 76.9 (C-8), 76.0 (C-3'), 73.0 (C-2'), 70.1 (C-4'), 69.7 (C-5), 61.0 (C-6'), 60.7 (C-9), 50.8 (OMe-11), 39.5 (C-7), 36.7 (C-6), 23.2 (CH₃-8). Estos datos fueron comparables a los del iridoide ipolamiide 1, previamente aislado de esta misma planta (Damtoft *et al.* 1984). El compuesto polar, fue identificado como el verbascoside 2, por comparación cromatográfica directa y de espectroscopía infrarroja, con una muestra auténtica previamente aislada en nuestro laboratorio de la parte aérea de Verbena littoralis.. Este glicósido fenil propanoide se aísla por primera vez de esta planta y los datos de ¹H RMN y ¹³C RMN resultaron totalmente superponibles a los siguientes datos reportados previamente para este mismo compuesto (Castro y Umaña 1990). ¹H RMN (360Mhz, CD₃OD, d): 6.70 (1H, d, J=2.0Hz, H-2), 6.62 (1H, d, J=2.8HZ, H-5), 6.56 (1H, dd, J=8.1Hz, 2.0Hz, H-6), 3.72 (1H, m, H-8), 4.40 (1H, m, H-8), 2.79 (2H, t, H-

7). Glucosa: 4.38 (1H, d, H-1), 4.90-3.38 (4H, m). Ramnosa: 5.18 (1H, d, J=1.5Hz, H-1), 3.92-3.56 (3H, m), 1.09 (3H, d, J=6.2Hz, H-6). Ácido cafeico: 7.04 (1H,d, J=1.9Hz, H-2), 6.77 (1H d, J=8.2Hz, H-5), 6.95 (1H, dd, J=8.2Hz, J = 1.9Hz, H-6), 6.28 (1H, d, J=16.0Hz, H-a), 7.88 (1H, d, J=16.0Hz, H-b). ¹³C RMN (67.5MHz, CD₃OD). Aglicona: 131.6 (C-1), 116.6 (C-2), 144.5 (C-3,4), 117.2 (C-5), 121.2 (C-6), 72.8 (C-8), 36.6 (C-7). Glucosa: 104.2 (C-1), 75.9 (C-2), 81.6 (C-3), 70.7 (C-4), 76.3 (C-5), 62.5 (C-6). Ramnosa: 102.9 (C-1), 72.4 (C-2,3), 73.9 (C-4), 70.4 (C-5), 18.4 (C-6). Acido cafeico: 127.8 (C-1), 114.8 (C-2), 146.7 (C-3), 149.6 (C-4), 116.4 (C-5), 123.3 (C-6), 115.5 (C-a), 148.1 (C-b), 168.5 (C=O).

DISCUSION

La siguiente variedad de efectos observados: disminución de la actividad motora, ataxia, sedación, pérdida del reflejo de enderezamiento, disminución de la respuesta de alarma y pasividad, mostró claramente, que los extractos acuosos derivados de esta planta ejercen sobre las ratas depresión del sistema nervioso central. Esta depresión central se confirmó con las cre-

CUADRO 2

*Cambios en la temperatura corporal de las ratas producidas por la administración intraperitoneal del extracto acuoso de las hojas de stachytarpheta jamaicensis**

Dosis (g/kg)	Temperatura inicial en °C	Cambio de temperatura en °C con relación a la temperatura inicial Tiempo en minutos después de la administración					
		30	60	90	120	180	240
0.2mL vehículo	37.80	-0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.1	37.40	-0.27	0.34	0.00	+0.06	+0.06	+0.06
0.3	37.46	-1.23	-1.86	-1.06	-0.86	-0.85	-0.85
0.5	38.13	-1.63	-2.33	-3.30	-4.63	-5.57	-6.13
0.7	38.40	-1.16	-3.04	-4.97	-5.05	-6.90	-8.40
1.0	37.87	-1.16	-4.16	-5.37	—	—	—

* Los valores que se presentan en este cuadro corresponden al promedio de las seis ratas utilizadas con cada dosis del extracto.

ciente disminución de las pérdidas del reflejo de enderezamiento y los efectos anestésicos observados cuando se aplican las dosis más altas (0.7 y 1.0 g/kg). Otro efecto importante encontrado fue la disminución de respuesta al estímulo doloroso lo cual justifica la actividad analgésica observada para todas las concentraciones empleadas.

El signo de Robichaud positivo indicó un efecto relajante muscular o una deshidratación. En nuestros ensayos este signo fue sensible a partir de dosis de 0.5 g/kg. Sin embargo, como no se observó diuresis y si ptosis parpebral desde la dosis más baja, este resultado es consistente con relajación muscular. La evidencia de estos efectos es congruente con el uso popular como calmante que se da a esta planta en Curazao. Otro consecuencia marcada fue la cianosis creciente producida en los animales con cualquiera de las dosis ensayadas. Las ratas mostraban un color morado intenso en todos los tejidos y vasos sanguíneos incluyendo vasos capilares. Aunque desconocemos los mecanismos totales que provocan este estado cianótico, creemos que la depresión respiratoria, la apnea e incluso la muerte de las ratas, probablemente por asfixia, debe estar relacionada con este efecto.

La sensible reducción de la temperatura que producen estos extractos en las ratas, guarda relación con la piloerección creciente observada en todas las dosis ensayadas y es consistente con el uso reputado como febrífugo que se le confiere a esta planta en México, Panamá y Trinidad. También la respiración fue afectada

sensiblemente con las dosis más bajas 0.1 y 0.3 g/kg, produciéndose incremento en la amplitud respiratoria y disminución en la frecuencia. Con las dosis más altas, esta situación aumento y fue acompañada por apnea y paro respiratorio. Inmediatamente después que las ratas dejaban de respirar fueron disectadas. Se observó que el corazón seguía latiendo muy débilmente y la frecuencia auricular no era seguida por el ventrículo, lo que aparentaba un bloqueo, porque el corazón continuo latiendo, en algunos de estos casos, hasta por 40 min.

En conexión con estos resultados y la naturaleza química de los compuestos identificados de esta planta, Cometa *et al.* (1993), describe que compuestos como el verbascosido 2, ejercen una efectiva acción analgésica y sobre el sistema nervioso central de ratas. Esto lo concluye, al observar los siguientes efectos en ratas sometidas intraperitonealmente con una mezcla de los compuestos verbascoside 2 y orobanchoside 3 : i) muy baja toxicidad en ratas y ratones, ii) efecto positivo sobre la acción antitremor provocado por la L-Dopa, iii) propiedad antihipertensiva y baja actividad psicoaléptica con inhibición de la actividad locomotora e incremento del sueño inducido por barbitúricos en ratones, iv) fuerte efecto analgésico y débil efecto antiinflamatorio. Informa también, que la misma mezcla de sustancias provoca disminución de la actividad electroencefalográfica e induce formas de actividad epilépticas en conejos; lo cual es congruente con compuestos que estimulan propiedades neurolépticas. Enfatiza, además, que existe correspondencia con la

presencia en plantas de derivados análogos al verbascosido y la pérdida en ratas de efectos cardiovasculares, incluyendo respuesta cardiovascular inducida por adrenalina y acetilcolina. Otras propiedades farmacológicas atribuida a esta clase de metabolitos y discutidas en esta referencia incluyen: actividad fungicida, bactericida, antineoplástica, inmunosupresiva e inductoras de agregación plaquetaria.

Previamente, König *et al.* (1985), concluye que estructuras moleculares derivadas del ácido cafeoílico, son importantes agentes causativos de la actividad antiviral observada *in vitro* contra virus provocadas por Herpes, enfatizando que este beneficio puede extenderse a otros grupos de virus así como para controlar myxo y para myxovirus. Esta referencia es relevante, dado que moléculas como el verbascosido 2, tienen potencial como agentes antivirales, porque contienen como sustituyente ácido cafeoílico, el cual puede fácilmente ser liberado por procesos biológicos de hidrólisis.

Con relación al potencial farmacológico de compuestos de naturaleza iridoideal, se han descrito las siguientes propiedades: sedativa, hipotensora, analgésica, laxativa, hepatoprotectiva y como antídoto para envenenamientos con a-amanitin. Principalmente se ha destacado que varios iridoideos, transformados en sus respectivas agliconas, mediante la acción de b-glicosidasas, muestran relevantes propiedades antimicrobiales y antitumorales. (Rahman 1990, Luckner 1990). En apoyo a estas observaciones Castro y Umaña (1990), Fig.1, destacan que el iridoide verbenalin 3, aislado de *Verbena littoralis*, otra especie de Verbenaceae muy reputada en Costa Rica también como agente antidiarreico, únicamente bajo la forma de aglicona presenta actividad *in vitro* contra *Staphylococcus aureus*. Stermitz (1988), ha indicado que de acuerdo con el mecanismo descrito en la Fig. 2, el intermediario dialdehídico que se encuentra en equilibrio con estas agliconas, constituyen un sustrato ideal para que grupos amino libres unidos a estructuras proteínicas, reaccionen con ellos mediante la formación de una imina, con la consiguiente inhibición de enzimas y otras proteínas funcionales que participan en procesos asociados a diversas clases de enfermedades.

Los resultados de esta investigación demuestran que las evidencias farmacológicas reveladas para los extractos crudos de esta planta,

en conjunto con la presencia del iridoide ipolamiide 1 y el verbascosido 2, como constituyentes principales, son congruentes con la mayoría de las bondades medicinales atribuidas a *Stachytarpheta jamaicensis*.

RESUMEN

Se analizaron diferentes efectos farmacológicos sobre ratas inyectadas intraperitonealmente con diferentes dosis de extractos acuosos derivados de hojas de *Stachytarpheta jamaicensis*. Algunos resultados sensibles como: disminución de la actividad motora y respuesta de alarma, ataxia, sedación, pasividad y pérdida del reflejo de enderezamiento, indicaron claramente que estos extractos producen depresión del sistema nervioso central en estos animales. También se observaron efectos relacionados con depresión respiratoria, descensos hasta de 8.4°C de la temperatura corporal asociados a piloerecciones y disminución al estímulo doloroso. Se identificaron dos principios activos mayoritarios, uno de naturaleza iridoideal, la ipolamiide 1 y el verbascosido 2, cuyo potencial medicinal discutido en la literatura es consecuentes con algunas de estas observaciones. Estas evidencias justifican el uso popular que se le ha venido dando a esta planta principalmente como antipirética, tranquilizante, analgésica, antigripal, febrífuga y sudorífica.

AGRADECIMIENTOS

A Mireya Correa, directora del Herbario de la Universidad de Panamá por la identificación de la planta y a la Facultad de Medicina de la Universidad de Panamá. A la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica por el apoyo económico a través del proyecto FR:111 auspiciado por SAREC y a Frank R. Stermitz de la Universidad del Estado de Colorado por la ayuda en la obtención de los datos espectroscópicos usando fondos del NSF Grant CHEM-9321977.

REFERENCIAS

- Castro, O. & E. Umaña 1990. Potencial biológico y químico de *Verbena littoralis*, una planta medicinal usada en Costa Rica como agente antidiarreico. *Quimica Nova*. 13:310-311.
- Cometa, F., L. Tomassini, M. Nicoletti, & S. Pieretti, 1993. Phenylpropanoid glycosides. Distribution and pharmacological activity. *Fitoterapia* 64:195-217.
- Damtoft, S., R. Jensen, & B.J. Nielsen, 1984. The identity of the iridoide glucoside tarphetalin with ipolamiide. *Phytochemistry* 23:907.

- Konig, B & J.H Dustmann 1985. The caffeoylics as a new family of natural antiviral compounds. *Naturwissenschaften* 72:659-661.
- Luckner, M. 1990. Secondary Metabolism in Microorganisms, Plants, and Animals. Springer-Verlag, Berlin. p.194.
- Rahman, A. 1990. Studies in Natural Product Chemistry, Elsevier Science, Amsterdam, Vol 7, p. 490.
- Sanberg, F.1982. Screening farmacológico de Plantas Medicinales, International Foundation for Science (IFS), Grev Turgatan 19, S-114, Estocolmo, Suecia.
- Stermitz, F.R. 1988. In Biologically Active Naturally Products: Potential Use in Agriculture. H.G.Cutler (ed), Compilation in Agricultural Researchs V, Am. Chem. Soc. Series: Washington, p. 398-402.
- Weniger, B & L Robineau. 1988. Elementos para una Farmacopea Caribeña, Seminario Tramil 3. 243-245.