



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
ZARAGOZA

Estudio preliminar Toxicológico y Fitoquímico de *Solanum Pseudocapsicum*, L.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :

Químico Farmacéutico Biólogo

P R E S E N T A :

María Patricia Eugenia Miguel Rosas

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

- I. INTRODUCCION
- II. ANTECEDENTES
- III. FUNDAMENTACION DEL TEMA
- IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA
- V. OBJETIVOS
- VI. HIPOTESIS
- VII. MATERIAL
 - . Material de laboratorio
 - . Equipo
 - . Reactivos
 - . Reactivos para alcaloides
 - Estándares de alcaloides
- VIII. METODOS
 - . Método para el estudio fitoquímico
 - . Método para el estudio toxicológico
- IX. CONSIDERACIONES PREVIAS PARA LA REALIZACION DE LOS EXPERIMENTOS
- X. DESARROLLO DEL ESTUDIO FITOQUIMICO
 - . Extracto Alcohólico (A)
 - . Extracto Acuoso (B)
 - . Extracto Metanólico (C)
 - . Pruebas cualitativas para alcaloides
 - . Hidrólisis ácida de los extractos (A) y (C)
 - . Espectrometría de masas del extracto alcohólico.

- XI. DESARROLLO DEL ESTUDIO TOXICOLOGICO
 - . Selección del rango de la dosis con los extractos alcohólico (A) y acuoso (B).
 - . Determinación de la Dosis Letal Media(DLM) con el extracto alcohólico (A).
- XII. RESULTADOS Y DISCUSION
 - . Estudio fitoquímico
 - . Estudio toxicológico
 - . Determinación de la DIM (Método Wilcoxon).
- XIII. CONCLUSIONES
- XIV. PROPOSICIONES PARA CONTINUAR EL TRABAJO
- XV. APENDICE " A "
- XVI. BIBLIOGRAFIA

I. INTRODUCCION

Desde la antigüedad, las casas habitación o apartamentos han sido objeto de inspiración e ingenio para romper la monotonía de la vida cotidiana, decorando sus interiores; siendo fascinante la adquisición de objetos raros, animales o plantas exóticas. Fué así como los Romanos por la gran dependencia que tenían de la cultura oriental, dieron origen a la constitución de jardines exóticos en el Siglo XVII, lo cual fué el nudo a la civilización moderna y el cultivo de diversas especies de plantas en jardines en donde sólo le daban importancia al aspecto estético.

La mayoría de las plantas o arbustos cultivados para adornar, frecuentemente son tóxicas, generalmente estas plantas tienen frutos y flores muy llamativos siendo la atracción principal de los niños, ocasionando que algunas veces hayan sido consumidos por éstos. Es así, como una especie de la familia de las Solanáceas (Solanum pseudocapsicum, L.)^{2,17}, es objeto de estudio por contener sustancias tóxicas mortales. Por lo general éstas son : alcaloides, glucósidos y glicocalcaloides. Las reacciones que se presentan frecuentemente después de ingerir los frutos de esta planta, son : vómito, diarrea, fiebre, pulso rápido, respiración profunda

calambres, coma y paro respiratorio; siendo éstos, - los síntomas característicos de envenenamiento¹⁴.

En México se conoce con diferentes nombres vulgares (dados por los habitantes de diferentes regiones) como : manzanita del amor, manzanita del paraíso, collar de reina y coralillo. Es una planta silvestre que crece en zonas tropicales y templadas, - es parecida a un arbusto; mide de 40 a 70 cm. de altura; sus ramas son flexibles, lanceoladas y lisas; sus hojas son de color verde oscuro, miden de 5.08 a 6.35 cm. de longitud, son onduladas de las orillas, de envés liso y haz aterciopelado. Sus flores se encuentran acompañadas por un fruto (parecido a la cereza), globular, de color naranja escarlata - lustroso^{2,3,17}.

Recientemente se han reportado algunos casos - de mortalidad, debido a la ingestión de los frutos pertenecientes a Solanum pseudocapsicum, L.¹⁸

II. ANTECEDENTES

Es común en nuestro país el uso de plantas ornamentales de las cuales, generalmente se desconocen los riesgos que presentan en cuanto a su toxicidad. Una de estas plantas es Solanum pseudocapsicum, L.¹¹, que tiene efectos parecidos a los producidos por el curare(paralizante, relajante muscular, arrítmico, etc.)⁵. La ingestión de sus frutos ha provocado varios casos de intoxicación, causando transtornos graves e inclusive la muerte^{18,7}.

El principal efecto que se le atribuye a Solanum pseudocapsicum, L., es su acción sobre sistema circulatorio^{7,15}. En el año de 1932 en la Universidad de Wistatersrand, se realizó un estudio farmacológico de un alcaloide, que estaba contenido en Solanum pseudocapsicum, L.⁷, usando animales de experimentación, conejos y ranas, así como el corazón aislado, de éstos; encontrándose que el efecto que presentó dicho alcaloide, fué la acción cardíaca¹⁴. El alcaloide al que se le atribuyó dicha acción fué a la Solanocapsina(I)¹⁴(Fig 1).

En 1936 se realizó un estudio químico de las hojas de Solanum pseudocapsicum, L., en donde se logró aislar a la Solanocapsina(I)¹ y otro alcaloide amorfo llamado Solanocapsidina. Posteriormente se realizó un estudio fitoquímico de las hojas de So-

lanum pseudocapsicum, L., logrando su caracteriza -
ción por métodos químicos y espectroscópicos(IR y-
UV)¹², no llevándose a cabo los estudios farmacoló-
gicos correspondientes.

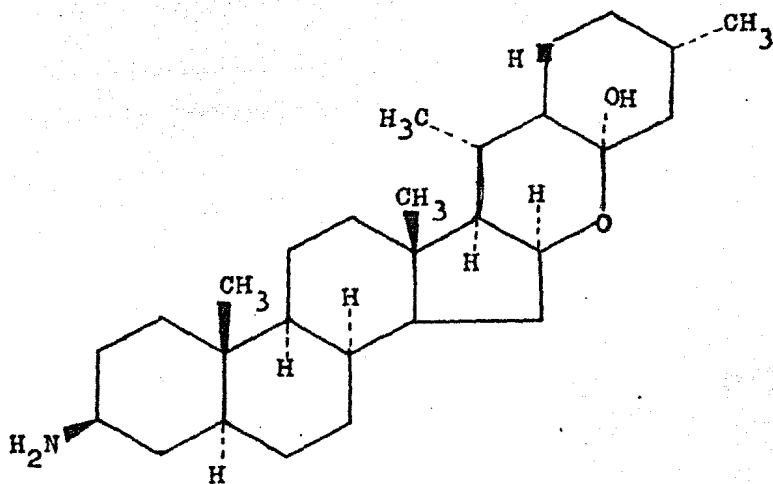


Fig 1 . SOLANOCAPSINA
(I)

Se han realizado investigaciones fitoquímicas con las hojas, tallos y semillas, las cuales indican que las hojas presentan mayor contenido de alcaloides¹⁴. Actualmente se tiene poca información fitoquímica y toxicológica de los frutos contenidos en Solanum pseudocapsicum, L., a diferencia de otras partes de la planta¹².

III. FUNDAMENTACION DEL TEMA

Debido a los problemas que se han presentado por ingestión de los frutos de Solanum pseudocapsicum, L., siendo de fácil acceso en el mercado como plantas de ornato⁴, es de interés analizar los componentes químicos presentes en la planta que dan toxicidad a ésta. Ya que la información que existe sobre Solanum pseudocapsicum, L., es con respecto a -- efectos sobre sistema circulatorio, específicamente sobre corazón (efecto intracardiaco)¹⁴ y, no por -- efectos tóxicos, el propósito de este trabajo es el estudio fitoquímico y toxicológico de Solanum pseudocapsicum, L.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Es necesario realizar el estudio fitoquímico de Solanum pseudocapsicum, L., para el análisis de sus componentes, así como el estudio toxicológico de los mismos. Se llevará a cabo por medio de la extracción y obtención de extractos⁶ a partir de los frutos de la planta y a éstos, se les determinará su toxicidad en un modelo biológico; lo cual permitirá aceptar o rechazar las propiedades tóxicas que se le atribuyen.

El estudio de la planta se enfoca principalmente a los frutos, ya que son los que generalmente se ingieren, provocando efectos tóxicos.

V. OBJETIVOS

- 1.- Realizar el estudio fitoquímico de los frutos de Solanum pseudocapsicum, L., - que haga posible el aislamiento de las sustancias presentes en los mismos.
- 2.- Los compuestos obtenidos por medio del estudio fitoquímico, se someterán a - pruebas toxicológicas.

VI. HIPOTESIS

Si en las hojas, tallos y semillas de la - planta de Solanum pseudocapsicum, L., se encuentran alcaloides que producen efectos - adversos, se espera obtener los mismos re - sultados, en los frutos.

VII. MATERIAL

Material de laboratorio

- Material vegetal : Frutos íntegros de Solanum pseudocapsicum, L.
- Material biológico : Ratas hembra Wistar con peso de 170 a 200 g.
- Matraces erlenmeyer de diferentes capacidades(10, 25, 50, 250, 500, 1000, 2000 y 4000 ml) Pyrex
- Matraces de juntas esmeriladas 24/40 diferentes capacidades(50, 100, 250, 500 y 1000 ml) Pyrex
- Embudos de filtración rápida
- Mortero con pistilo
- Embudos Büchner
- Matraces kitasato Kimax
- Barras magnéticas
- Refrigerantes
- Papel filtro Whatman
- Papel pH
- Vasos de precipitados diferentes capacidades(250, 500, 1000 y 2000 ml) Pyrex
- Jeringas estériles 3 y 5 ml
- Jaulas metálicas 30 x 15 cm
- Cajas de acrílico transparente de 40 x 60 cm
con lecho de aserrín de madera.

- Hielo seco
- Marcadores

EQUIPO

- Evaporador rotatorio Büchi-El
- Bomba de vacío
- Agitadores magnéticos
- Parrilla de calentamiento
- Lámpara de luz ultravioleta
- Molino manual
- Liofilizadora
- Licuadora
- Balanza analítica Bosch
- Balanza granataria

REACTIVOS

- Gel de sílice 60 para columna 0.5 mm Merck
- Gel de alumina 60 básica para columna 0.5 mm Merck
- Hidróxido de amonio Merck
- Acetato de etilo Merck
- Dicloroetano Merck
- Cloroformo Merck

- Dietilamina	Merck
- Acido clorhídrico	Merck
- Oxido de calcio	Merck
- Etanol	Merck
- Metanol	Merck
- Acetona	Merck
- Piridina	Merck
- Hexano	Merck

REACTIVOS PARA ALCALOIDES

- Acido silicotúngstico
- Dragendorff
- Mayer
- Reineckato de amonió

ESTANDARES DE ALCALOIDES

- Atropina
- Berberina
- Escopolamina
- Hiosciamina
- Solanina
- Solanocapsina

VIII. METODOS

Método para el estudio fitoquímico

Mediante el desarrollo de nuevos métodos para el estudio fitoquímico y toxicológico de Solanum pseudocapsicum, L., se ha encontrado que el principio activo que contiene es un alcaloide; el cual se localiza en hojas, tallo y frutos de la planta; encontrándose en mayor proporción en las hojas de esta planta ^{12,14}, la que comunmente se llama manzanita del amor.

Analizando las diferentes posibilidades para comprobar la toxicidad de dicha planta; se encontró que el sistema adecuado (para comprobar la hipótesis planteada), era aquel en el cual se extrae el alcaloide⁶, de los frutos, por medio de extracciones acuosas y alcohólicas (metanólica y una mezcla acuosa de etanol y metanol). Ya identificado el compuesto de interés en los extractos se administrará a ratas⁸, para verificar su toxicidad y, determinar la Dosis Letal Media (DLM)⁹.

Esta técnica presenta varios inconvenientes, ya que durante la extracción alcohólica (mezcla etanol-metanol) y la metanólica; el alcaloide se obtiene como glucósido (II)¹⁶ Fig. 2. Esto causa problemas en las pruebas químicas en las cuales, pro-

voca resultados negativos en las diferentes determinaciones como : pruebas cualitativas de alcaloides (ácido silicotúngstico, dragendorff, mayer y reineckato de amonio)¹³, así como en cromatografía en placa fina, Por lo que el objetivo fué llevar a cabo únicamente extracciones en medio alcohólico (mezcla etanol-metanol) e hidrólisis ácida, para su estudio fitoquímico y toxicológico.

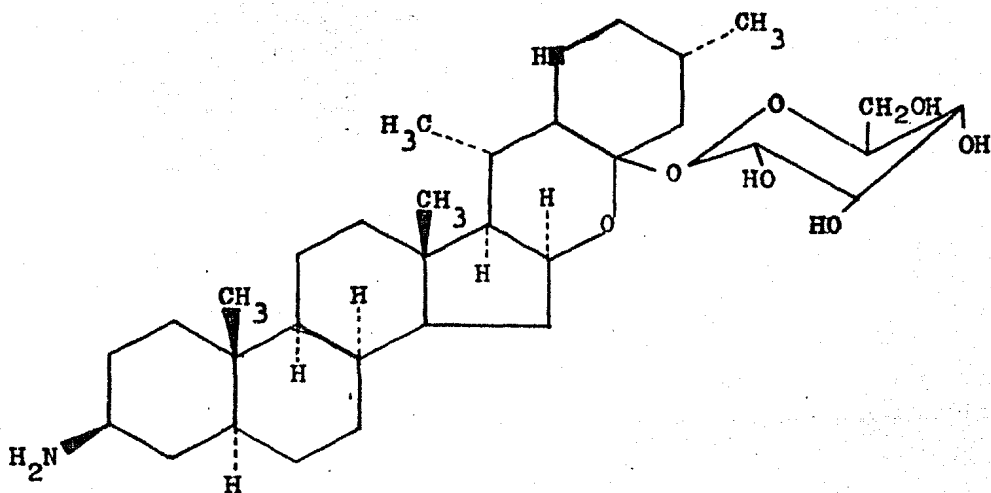


Fig 2. GLUCOSIDO DE LA SOLANOCAPSINA
(II)

Para efectuar la extracción alcohólica (extracto A), se usaron 600 g. de frutos; usando como líquido extractor, en su primera etapa una mezcla acuosa etanólica y en la segunda, una mezcla acuosa metanólica. Pero al realizar tanto las pruebas cualitativas, para alcaloides, como la cromatografía en placa fina, seguían obteniéndose resultados poco confiables; por lo que se decidió efectuar una hidrólisis ácida, para mejorar la prueba de identificación. En esta técnica se usa una mezcla de metanol-ácido clorhídrico (50 ml de metanol/50 ml de agua con 8.4 ml de ácido clorhídrico concentrado); la cual se llevó a reflujo 2.5 horas; obteniéndose un líquido de color café oscuro. Después de esta extracción se efectuaron las pruebas arriba mencionadas.

La prueba cualitativa realizada a los extractos alcohólico (A), acuoso (B) y metanólico (C), para verificar que se trataba de alcaloides, en todos los casos se observó una precipitación después de la adición del reactivo.

En el extracto metanólico (C), aún haciéndose la hidrólisis ácida a éste se observó que la Solanocapsina (I), no se encontraba presente, por lo que se eliminó para estudios toxicológicos; sin embargo, en los extractos alcohólico (A) y acuoso (B),

después de la hidrólisis y la cromatografía en placa fina con una muestra patrón de referencia se observó que la Solanocapsina (I) estaba presente, - corroborándose también por su Espectrometría de Masas.

Método para el estudio toxicológico

La metodología usada en el estudio toxicológico para determinar la toxicidad de los extractos - obtenidos de los frutos de Solanum pseudocapsicum, L. es la siguiente :

- a) Determinación del rango de la dosis⁸. - Para determinar el rango de la dosis a usar de los extractos Alcohólico (A) y Acuoso (B); se hizo una relación de los gramos de extracto/ mg. de solanocapsina (I) contenida/ kg. de peso de cada animal tratado.
- b) Determinación del efecto tóxico⁸ de los extractos alcohólico (A) y acuoso (B). - Los animales de experimentación que se usaron para evaluar este efecto fueron las ratas hembra Wistar. Se determinó la dosis letal; los controles usados en esta determinación se les administró, sólo - vehículo, es decir: agua, por vía oral e intraperitoneal, según el caso.
- c) Determinación de la Dosis Letal Media (DIM)⁹ - del extracto alcohólico (A). - Para realizar esta prueba se utilizó el mismo tipo de modelo biológico que en la determinación anterior, pero ahora sólo con el extracto alcohólico (A) y, administrando por vía intraperitoneal; la dosis letal media se obtuvo utilizando el método de Wilcoxon⁹.

IX. Consideraciones Previas para la realización de los experimentos

Estudio Fitoquímico⁶. Los frutos de Solanum pseudocapsicum, L. se cortaron en mitades y se secaron a temperatura ambiente, antes de usarse fueron molidos en un molino manual. De los frutos molidos se prepararon tres extractos: alcohólico-acuoso (A), acuoso (B) y metanólico (C). Como la extracción es específica para alcaloides se siguió un procedimiento general para los mismos, siendo sólo en los extractos alcohólico (A) y acuoso (B) que se encontró el alcaloide en estudio (Solanocapsina (I)), e identificándose por medio de cromatografía en capa fina en sílice y caracterizándola por medio de Espectrometría de Masas.

Estudio Toxicológico. Las pruebas toxicológicas preliminares se realizaron con los extractos: alcohólico (A) y acuoso (B), evaluándose el efecto en ratas Wistar, así como la determinación de la Dosis Letal Media (DL₅₀), que se llevó a cabo con el extracto alcohólico (A).

X. DESARROLLO DEL ESTUDIO FITOQUIMICO

Extracto Alcohólico.— Esta extracción se obtiene en dos etapas : 1.— Se muelen 600 g. de frutos de Solanum pseudocapsicum, L.; con 60 g. de óxido de calcio y 2 L. de una mezcla etanol:agua (1:1), con agitación constante por 18 horas y una temperatura de -60°C ; se filtra y se concentra a presión reducida hasta eliminar todo el disolvente. El residuo sólido obtenido se extrae una vez más con 2 L. de una mezcla etanol:agua (1:1), filtrando y concentrando a presión reducida, obteniéndose una mezcla pastosa de color café claro. 2.— El residuo sólido se extrae nuevamente (2 veces) con 2 L. de una mezcla metanol:hidróxido de amonio (5%) (1:1), en las mismas condiciones que las anteriores. Las mezclas resultantes del extracto etanólico (1) y metanólico (2), se unen y se concentran a presión reducida, para eliminar la mayor cantidad de disolvente y así secar al vacío en una liofilizadora durante 2 horas, para eliminar totalmente residuos de disolvente. La mezcla resultante (A) es de color café oscuro y pastosa.

Extracto Acuoso.— Se muelen 30 g. de frutos de Solanum pseudocapsicum, L., en un mortero con 100 ml de agua destilada y 3.0 g. de óxido de calcio, la mezcla resultante se filtra al vacío, el filtrado se -

liofiliza para eliminar la mayor cantidad de disolvente, obteniéndose una mezcla (B) de color amarillo pardo.

Extracto metanólico¹.-- 131 g. de frutos de Solanum pseudocapsicum, L. se trataron con 10 g. de óxido de calcio y 400 ml de metanol seguida de agitación magnética discontinua a temperatura ambiente por 24 horas; la mezcla obtenida se filtró al vacío; evaporando la solución resultante (a presión reducida), se obtuvo un residuo de color amarillo, el cual se trató tres veces únicamente con metanol y agitación discontinua a temperatura ambiente, filtrando y concentrando al vacío obteniéndose nuevamente una mezcla (C) líquida de color amarillo transparente y liofilizándola posteriormente para eliminar los residuos de disolvente.

Pruebas cualitativas para alcaloides¹³

A los extractos alcohólico (A), acuoso (B) y metanólico (C) se les hicieron pruebas cualitativas para alcaloides. Previamente se preparó la muestra de la siguiente forma: tomándose una muestra de cada uno de los extractos, acidulándose con ácido clorhídrico 0.5 N por separado (A), (B) y (C) el residuo ácido de cada uno de éstos se dividió en cuatro porciones para hacerles las siguientes pruebas de alcaloides: ácido silicotúngstico, dragendorff,-

mayer y reineckato de amonio (veáse apéndice " A " para la preparación de estos reactivos).

Los extractos alcohólico (A), acuoso (B) y metanólico (C) se trataron con el reactivo de ácido silicotúngstico, Dragendorff y Mayer produciendo un precipitado de color café para (A) y amarillo para (B) y (C); los mismos extractos se hicieron reaccionar con el Reactivo de Reineckato de amonio obteniendo un precipitado de color coral en los tres extractos.

A los extractos alcohólico (A) y metanólico (C) se les hizo la cromatografía en placa fina usando sílice y alumina como adsorbente en el siguiente sistema : cloroformo:metanol:hidróxido de amonio -- concentrado (9:8:2), comparándose con los diferentes estándares (atropina, berberina, escopolamina, hiosciamina, solanina y solanocapsina). Posteriormente se llevó a cabo la hidrólisis ácida de éstos extractos.

Hidrólisis ácida de los extractos : alcohólico (A) y metanólico (C)

Se tomó una porción del extracto alcohólico (A) y se disolvió en una mezcla metanol:ácido clorhídrico (50 ml de metanol:50 ml de agua con 8.4 ml. de ácido clorhídrico concentrado), poniéndose a re-

flujo por 2.5 horas; la mezcla de la hidrólisis se neutraliza con hidróxido de amonio concentrado y se realizan tres extracciones sucesivas con cloroformo, la fase orgánica se seca con sulfato de sodio anhidro, se evapora a presión reducida, el residuo final es percolado en alumina básica desactivada - (5 % agua), empleando como eluyente cloroformo y aumentando la polaridad hasta metanol. Al producto percolado se le hizo cromatografía en placa fina en el siguiente sistema : cloroformo:metanol:hidróxido de amonio concentrado (9:8:2), en el cual se comprobó la presencia de la solanocapsina por comparación, con una muestra patrón de referencia, al ser reveladas las placas, con luz ultravioleta, sulfato cármico amoniacal y/o solución de platino.

Para la hidrólisis ácida del extracto metanólico (C) se realizó de una forma semejante a la anterior, sólo que en este no se identificó a la Solanocapsina (I), por lo cual se descartó.

Espectrometría de Masas del extracto alcohólico (A)

Dado que de los dos extractos : alcohólico (A) y metanólico (C), sólo el extracto (A) presentó solanocapsina (I), se procedió a determinar su estructura por espectrometría de masas. La identificación se realizó tomando una porción del extracto crudo, - llevándolo a 70 eV por introducción directa obte --

niéndose fragmentos característicos para los esteroalcaloides, los cuales se asignaron a la Solanocapsina (I).

XI. DESARROLLO DEL ESTUDIO TOXICOLOGICO

Se realizaron ensayos previos para determinar el rango de dosis para observar el efecto tóxico y evaluar la dosis letal media, con los extractos - probados.

Selección del rango de la dosis con los extractos alcohólico (A) y acuoso (B)

Para los ensayos se utilizaron ratas Wistar - hembra con un peso corporal de 170 a 200 g. A todos los controles usados en las determinaciones, - se les administró agua, por vía oral e intraperitoneal, como vehículo según el caso.

Extracto Alcohólico (A) .- Este extracto se evaluó con 10 lotes de cuatro animales cada uno. A los - 10 lotes y a sus controles se les mantuvo, antes de la administración del extracto en las siguientes condiciones : acceso libre de agua y alimento bajo ciclos naturales de luz y oscuridad en condiciones ambientales de temperatura y humedad (25°C, 60 %).

A los lotes Nos. 1, 2, 3 y 4 se les administró el extracto alcohólico (A) por vía oral, en dosis única de 0.01, 0.10, 1.00 y 3.00 g/kg. respectivamente.

Al lote No. 5 se le administró una dosis única de 1.00 g/kg cada 24 horas durante 7 días por vía oral. A los controles se les mantuvo en las mismas condiciones que a los demás lotes administrándoles únicamente agua.

El rango de dosis aplicadas per vía oral del extracto alcohólico (A) fué de 0.01 a 3.00 g/kg de peso y el volumen máximo administrado fué de 3.0 ml en todos los casos.

Para los lotes Nos. 6, 7, 8, 9 y 10 se les administró por vía intraperitoneal, en dosis única de 0.5, 1.00, 2.00, 4.00 y 8.00, respectivamente ; a los controles se les administró sólo agua por la misma vía. El volumen máximo administrado fué de 1.3 ml en todos los casos, el rango de dosis que se aplicó fué de 0.5 a 8.00 g/kg de peso.

En la Tabla I se resumen los tratamientos anteriores, con el extracto alcohólico (A).

TABLA I : Esquema de tratamientos para la determinación del rango de dosis para el extracto alcohólico (A).

LOTE No.	PESO PROM. CORPORAL	DOSIS ^a g/kg	VIA ADMON.
1	173.25	0.01	p.o.
2	188.75	0.10	p.o.
3	173.25	1.00	p.o.
4	173.25	3.00	p.o.
5 ^b	173.25	1.00	p.o.
6	177.00	0.50	i.p.
7	185.50	1.00	i.p.
8	174.25	2.00	i.p.
9	187.00	4.00	i.p.
10	177.50	8.00	iipe.

a. Para cada dosis n = 4

b. Grupo con administración cada 24 horas durante 7 días

p.o. Vía oral

i.p. Vía intraperitoneal

A partir del momento en que se les administró el extracto alcohólico (A), se observó su comportamiento durante 6 horas continuas y después de este pe-

ríodo se hicieron observaciones posteriores discontinuas por 72 horas.

Extracto Acuoso (B)..- Para la evaluación de este extracto se trabajaron 10 lotes de cuatro animales cada uno. Del lote No. 1 al No. 7 se les trató con una administración intraperitoneal en las siguientes condiciones : a los lotes No. 1 y No. 2 - así como a sus controles, se les mantuvo con acceso de agua y alimento, bajo ciclos naturales de luz y obscuridad en condiciones ambientales de temperatura y humedad (25°C, 60%).

Del lote No. 3 al No. 7, así como a sus controles, se les sometieron a 18 horas de ayuno, previo a la administración. El rango de dosis que se aplicó por vía oral fué de 0.05 a 1.6 g/kg. de peso; el volumen administrado fué de 3.0 ml; en todos los casos fueron dosis únicas.

A los lotes Nos. 8, 9 y 10 y a sus controles se les mantuvo en las mismas condiciones que a los lotes No. 1 y No. 2, antes de la administración.

El rango de dosis que se aplicó por vía intraperitoneal, en dosis únicas fué de 0.05 a 1.0 g/kg de peso y, de volumen administrado fué de 1.3 ml en todos los casos.

A todos los controles se les administró el -
vehículo, es decir, agua; por vía oral e intraperi-
toneal según el caso. En la Tabla II se resumen
los tratamientos realizados con el extracto acuo -
so (B).

TABLA II : Esquema de tratamientos para la determina-
ción del rango de dosis para el extracto
acuoso (B).

LOTE No.	PESO PROM. CORPORAL	DOSIS ^a g/kg	VIA ADMON.
1	169.00	0.05	p.o.
2	174.75	0.50	p.o.
3 ^b	173.50	0.10	p.o.
4 ^b	173.00	0.20	p.o.
5 ^b	170.00	0.40	p.o.
6 ^b	170.00	0.80	p.o.
7 ^b	177.50	1.60	p.o.
8	172.25	0.05	i.p.
9	180.25	0.50	i.p.
10	181.00	1.00	i.p.

a. Para cada dosis n = 4

b. Grupo en ayunas, 18 horas previas al experimento

p.o. Vía oral

i.p. Vía intraperitoneal

A partir del momento en que se les administró el extracto acuoso (B), se observó su comportamiento durante 6 horas continuas, después de este período se hicieron observaciones posteriores, discontinuas durante 72 horas.

Una vez elegido el rango de dosis con los extractos alcohólico (A) y acuoso (B), se procedió a determinar la Dosis Letal Media (DIM).

Determinación de la Dosis Letal Media con el extracto alcohólico (A).

Para la determinación se utilizaron ratas Wistar hembra con un peso de 170 a 200 g., se trabajaron con 5 lotes de 7 animales cada uno (excepto el lote No. 3 que fué con 6 animales).

A los 5 lotes y a sus controles se les mantuvo con acceso libre de agua y alimento, bajo ciclos naturales de luz y oscuridad en condiciones ambientales de temperatura y humedad (25°C, 60%).

La vía de administración fué únicamente intraperitoneal y el volumen administrado fué de 1.3 ml en todos los casos en dosis única, el rango de dosis que se aplicó fué de 4.0 a 8.0 g/kg. de peso. A todos los controles se les administró agua por vía intraperitoneal; en la Tabla III se resumen los tratamientos realizados.

TABLA III : Esquema de tratamientos para la deter-
minación de la Dosis Letal Media (DLM)
del extracto alcohólico (A).

LOTE	No.	PESO PROM. CORPORAL	DOSIS g/kg	VIA ADMON.
	1	190.00	4.0	i.p.
	2	185.00	5.0	i.p.
	3	185.00	6.0	i.p.
	4	185.00	7.0	i.p.
	5	190.00	8.0	i.p.

i.p. Vía intraperitoneal

A partir del momento en que se les administró el extracto alcohólico (A) se observó su comportamiento durante 6 horas continuas y discontinuas -- hasta 72 horas.

XII. RESULTADOS Y DISCUSION

Estudio Fitoquímico

En la preparación de los extractos se obtuvieron los resultados siguientes : del extracto alcohólico-acuoso (A) se obtuvo 9.7 g por cada 100 g de fruto, siendo éste un líquido viscoso, de color café obscuro, con olor a melazas, muy soluble en agua. Del extracto acuoso (B) se obtuvieron 1.8 g por cada 100 g de fruto, el cual resultó un líquido de color amarillo pardo y del extracto metanólico (C), se obtuvo 1.5 g. de un líquido de color amarillo transparente por cada 100 g. de fruto.

En las pruebas cualitativas de identificación de alcaloides (ácido silicotúngstico, Dragendorff, Mayer y Reineckato de amonio) realizada a los extractos, en todos los casos se observó una alta precipitación después de la adición de los reactivos, la cual fué tomada como prueba positiva para alcaloides.

Después de llevar a cabo las pruebas cualitativas para alcaloides de los extractos, se realizó la cromatografía en capa fina (CCF/SiO₂), para cada uno de ellos con la muestra patrón de referencia, observándose que ninguno contenía el alcaloide en estudio; lo cual hizo suponer que éste se -

encontraba presente en forma de glucósido (II), - por lo que se llevó a cabo la hidrólisis ácida de los extractos (alcohólico (A) y metanólico (C)) . Después de la hidrólisis no se logró identificar a la Solanocapsina (I) en el extracto (C) por lo - que se descartó para su estudio toxicológico.

De esta manera en el extracto alcohólico (A), después de identificar a la Solanocapsina (I) se - determinó el R_f de éste por cromatografía en placa fina en sílice (CCF/SiO_2) en el siguiente sistema: cloroformo/metanol/hidróxido de amonio concentrado (9:8:2); ($R_f = 0.4$ para la Solanocapsina (I), dato no reportado en la literatura). Así mismo, se le determinó la espectrometría de masas, en la cual - se observaron fragmentos moleculares para la Solanocapsina (I) pura donde se observó m/e (%) a : 56(40), 70(100), 84(75), 130(70), 142(37), 157(98). El ión molecular M^+ fué observado a 430.5 (10%). Estos fragmentos también fueron observados en la Espectrometría de Masas de la percolación del ex - tracto alcohólico (A) después de la hidrólisis ácida, excepto del ión molecular; en los mismos por - centajes.

Estudio Toxicológico

Selección del rango de la dosis con los extractos alcohólico (A) y acuoso (B)

En la determinación del extracto alcohólico (A), por vía oral, en los lotes No. 1 al No. 4 no se observó ningún síntoma anormal en el comportamiento de las ratas, por lo que en el lote No. 5 se realizó una administración crónica es decir, una dosis de 1.00 g/kg. cada 24 horas durante 7 días, en la cual tampoco hubo comportamiento anormal en las ratas.

En la administración del extracto acuoso (B), por vía oral, en los lotes No. 1 y No. 2 no hubo ningún síntoma fuera del comportamiento normal, por lo que se pensó que su alimentación era un factor determinante en los efectos que pudiera producir estos extractos, por lo que al lote No. 3 al No. 7, se les mantuvo en ayunas 18 horas antes de la administración, teniendo el mismo efecto que en los lotes anteriores, es decir, por vía oral, en ninguno de los dos casos (extracto alcohólico (A) y acuoso (B)) se presentó síntomas o comportamiento fuera de los normales.

En la administración por vía intraperitoneal del extracto alcohólico (A) los lotes No. 8 al —

No. 10, en las dosis más altas presentaron los siguientes síntomas : reducción de la motilidad, -- ojos semicerrados, hiperventilación, incoordinación de la marcha, parálisis unilateral en miembros posteriores, pérdida espontánea del equilibrio y muerte, mientras que en los lotes No. 8 al No. 10 de la administración del extracto acuoso(B) en las dosis más altas presentaron los síntomas -- descritos anteriormente, excepto, pérdida espontánea del equilibrio y la muerte. En la administración por vía intraperitoneal del extracto acuoso (B), estos síntomas se prolongaron durante las 4 horas siguientes a la administración, después de este período se observó una recuperación paulatina en las ratas y 24 horas después se encontraban recuperadas; mientras aquellas que se les administró el extracto alcohólico (A) en las dosis más altas habían muerto.

Observándose, que con el extracto acuoso (B) aún en altas concentraciones presentaron los síntomas descritos anteriormente pero no la muerte. Sin embargo, con el extracto alcohólico (A) se logró determinar la dosis letal media (DLM).

Determinación de la Dosis Letal Media del extracto Alcohólico (A) por vía intraperitoneal

Para la determinación de la Dosis Letal Media (DIM), se obtuvieron los resultados que se resumen en la Tabla IV, en la cual se muestra el % de mortalidad con respecto a la dosis administrada, en función del tiempo.

TABLA IV : Se muestra el % de mortalidad con respecto al tiempo a las diferentes dosis, del extracto alcohólico (A); al administrar por vía intraperitoneal.

LOTE No.	DOSIS g/kg	No. DE RATAS	% DE MORTALIDAD			
			6.0	24.0	48.0	72.0 hrs
1	4.0	7	0.0	42.8	57.1	57.1
2	5.0	7	14.0	42.8	85.0	85.0
3	6.0	6	50.0	66.6	82.0	82.0
4	7.0	7	57.1	71.4	100.0	100.0
5	8.0	7	85.0	100.0	100.0	100.0

Para la determinación de la Dosis Letal Media (DIM), se efectúa con los datos obtenidos experimentalmente; de la tabla anterior se eligió el % de animales con efecto a las 6.0 horas, para aplicar el método de Wilcoxon⁹, con las deducciones siguientes: a) Con el total de animales probados,

y el número de dosis, se tiene la relación siguiente : animales con efecto(A.E.)/animales probados (A.P.). Con los datos calculados se obtiene la gráfica de la Figura 3.

- b) De la gráfica anterior se obtiene el % de efecto esperado (E.E.). La recta se obtiene por mínimos cuadrados.
- c) Con la relación del % de efecto observado menos el % de efecto esperado (E.O. - E.E.), se tiene la contribución a χ^2_1 .
- d) Con los datos de los incisos a, b y c, se determina la Dosis Letal a 16 %, 50 % y 84 %; con lo que se determina la Pendiente de la función (S) y $f(DL)_{50}$; para calcular finalmente los intervalos de confianza.

Lo anterior se resume en la Tabla V.

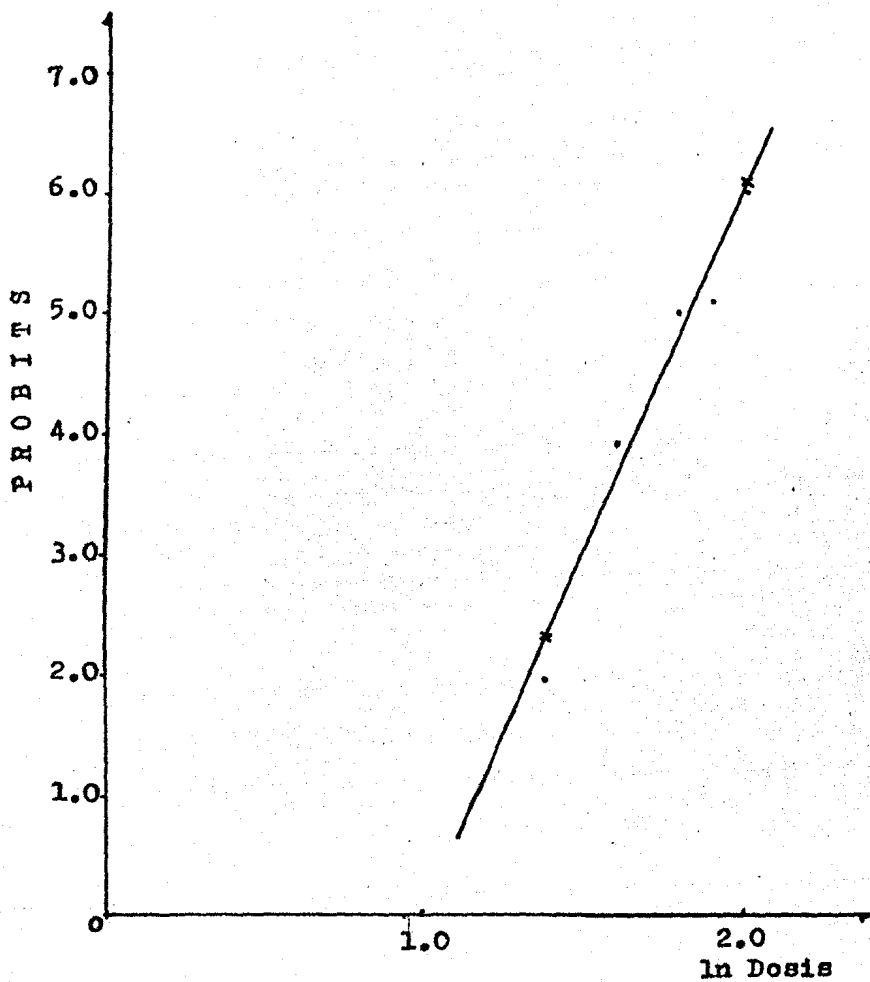


Fig 3. Curva Dosis-Respuesta Letal
(Dosis Letal Media).

TABLA V : Cálculos obtenidos a partir de la Tabla IV, en la determinación de la Dosis Letal Media por el Método de Wilcoxon.

DOSIS	A.E./A.P.	% A.E.	% E.E.	% E.O. - % E. E.	χ^2
8.0	6/7	85.7	85.7	0.00	0.00
7.0	4/7	57.1	64.0	6.90	0.02
6.0	3/6	50.0	37.0	13.00	0.07
5.0	1/7	14.3	14.3	0.00	0.00
4.0	0/7	0.0(0.7)	2.0	1.30	0.009
TOTAL : Σ					= 0.099

A.E. Animales con efecto
A.P. Animales probados
E.E. Efecto esperado
E.O. Efecto observado
 χ^2 Contribución a χ^2_1 .

- a) Total de animales 34
 Número de dosis 5 .°. K = 5
 Animales/Dosis 34/5

$\chi^2 = 7.82$ para $n = 3$ valor de Tablas.

- b) Contribución a χ^2_1

La sumatoria a la contribución : $\chi^2 = 0.099$

$\chi^2_1 = \chi^2 \times \text{animales/dosis}$ con $n = 3$; es decir; $n = K - 2 = 3$ grados de libertad.

Sustituyendo tenemos:

$\chi^2 = 0.099 \times 34/5 = \underline{0.6732}$ valor calculado

Por lo tanto :

0.6732 es menor que 7.82, datos que no son significativamente diferentes (heterogéneos).

- c) Para determinar la Dosis Letal, entre el 16 % y el 84 % se obtiene de la gráfica de la figura 3.

$DL_{84} = 8.0 \text{ mg/kg}$

$DL_{50} = 6.5 \text{ mg/kg}$

$DL_{16} = 5.2 \text{ mg/kg}$

Para determinar la Pendiente de la función (S), es a partir de la siguiente fórmula :

$$S = \frac{DL_{84}/DL_{50} + DL_{50}/DL_{16}}{2}$$

Sustituyendo valores tenemos :

$$S = \frac{8.0 / 6.5 + 6.5 / 5.2}{2}$$

$$S = 1.24$$

- e) Para determinar los intervalos de confianza, se toma en cuenta el total de animales que se encuentran entre el 16 % y el 84 % que se denomina N' , así tenemos :

$$f(DL_{50}) = S^{2.77} / \sqrt{N'}$$

En donde :

$$S = 1.24 \quad \text{y} \quad N' = 13$$

Sustituyendo

$$f(DL_{50}) = (1.24)^{2.77} / \sqrt{13}$$

$$f(DL_{50}) = 1.18$$

$$f(DL_{50}) \times DL_{50} = 6.50 \times 1.18 = 7.67 \text{ mg/kg}$$

$$f(DL_{50}) / DL_{50} = 6.50 / 1.18 = 5.50 \text{ mg/kg}$$

Por lo tanto :

La pendiente de la función y los límites de confianza 19 / 20 : 1.24 (5.50 a 7.67).

La dosis letal media (DL₅₀), que se encontró para un período de 6.0 horas fué de 6.5 mg / kg. \pm 1.0 (α = 5 % ; n = 5). Para explicar este valor alto se debe considerar que no se trata de una sustancia pura sino de una mezcla de varios com — puestos. En esta determinación la sintomatología que se observó fué similar a la que se presentó en la Selección del rango de la dosis, aunque más se — veros. A su vez provocaron los efectos siguientes ausencia de la respuesta a estímulos, pérdida de — reflejos en patas posteriores, respuesta débil o ausente al estiramiento de extremidades, períodos de inconsciencia, pupilas dilatadas con respuesta a la luz, piel fría y cianótica y respiración len — ta.

En las dosis más altas, el animal permanece acostado con los ojos semicerrados, con respira — ción disminuída en frecuencia y amplitud. Indepen — dientemente de la dosis, antes de morir iniciaban carrera repentina sin dirección que cesaba en po — cos segundos quedando postrado el animal, sin re — flejos y sin movimientos respiratorios, estado que se interrumpió dos o tres veces por respiración de baja frecuencia antes de que ocurriera la muerte. algunas veces presentaron también convulsiones tó — nicas y/o clónicas severas.

Sin embargo, es difícil adjudicar el cuadro de intoxicación experimental observado, a trastornos cardiovasculares producidos por la acción de Solanocapsina (I) sobre el corazón; y a que se tuvieron evidencias de ataque al Sistema Nervioso Central ^{10,19} a los pocos minutos de la administración de los extractos por vía intraperitoneal. Los efectos tóxicos producidos experimentalmente por Solanum pseudocapsicum, L., son similares a los que producen los fármacos depresores no selectivos del Sistema Nervioso Central del tipo de los Hipnóticos y Sedantes¹⁰.

XIII. CONCLUSIONES

En los frutos de Solanum pseudocapsicum, L. (manzanita del amor) se encuentra un compuesto: la Solanocapsina (I) que muy probablemente es el principio activo⁷ de ésta planta. Tal compuesto se identificó en el presente trabajo utilizando métodos cualitativos y espectrométricos en los extractos alcohólico (A) y acuoso (B).

Un dato interesante que no se reporta en la literatura es el valor del R_f de la Solanocapsina (I), determinado por cromatografía en capa fina en el extracto alcohólico (A), el valor es $R_f = 0.4$.

El ensayo toxicológico en ratas de los extractos preparados a partir de los frutos de la planta fué un estudio Preliminar en donde el efecto está dado posiblemente por la Solanocapsina (I). Sin embargo, será conveniente hacer un estudio posterior para comprobarlo.

Con los extractos alcohólico (A) y acuoso (B) se observó un efecto tóxico significativo cuando se administraron por vía intraperitoneal. La dosis Letal media (DLM) del extracto alcohólico (A) en ratas fué de 6.5. g/kg.

Se ha reportado en la literatura¹⁴ que el --

efecto farmacológico de la Solanocapsina(I) es sobre el Sistema Cardíaco¹⁴; en presente trabajo se encontraron efectos secundarios los que parecen ser el resultado de la acción del compuesto sobre el Sistema Nervioso Central(SNC).

Las plantas de ornato(en especial manzanita del amor), constituyen grandes riesgos por su fácil acceso y lo llamativo de estas plantas; por lo que es de suma importancia estudiar este aspecto por el alto índice de muertes del que son responsables¹⁸.

XIV. PROPOSICIONES PARA CONTINUAR EL TRABAJO

Este trabajo abre muchas posibilidades de continuar, en la parte química, farmacológica y toxicológica. Por la parte química aislar e identificar plenamente a la Solanocapsina(I), así como otros compuestos de interés.

Estudiar otras partes de la planta, como hojas y tallos(raíz).

Modificar a la Solanocapsina(I) e investigar otras sustancias de interés que sean responsables de la acción biológica.

Por la parte farmacológica(toxicológica), realizar un estudio biológico a fondo, ya que sólo se probó el efecto tóxico global.

Repetir los estudios en varias especies de animales, hacer estudios bioquímicos para saber a que nivel actúan así como para ver si tiene otro efecto aparte del Tóxico y la Acción Cardíaca.

XV. APENDICE " A "

Preparación de Reactivos para la determinación de Alcaloides⁶

- 1.- Reactivo de Mayer.- Se disuelven 1.36 g. de cloruro mercurioso en 60 ml de agua y 5.0 g. de yoduro de potasio en 10 ml de agua. Se mezclan las dos soluciones y se aforan a 100 ml. El reactivo sólo debe añadirse a soluciones previamente aciduladas con ácido clorhídrico o ácido sulfúrico diluido.
- 2.- Reactivo de Dragendorff.- Se disuelven 8.0 g. de nitrato de bismuto pentahidratado, en 20 ml. de ácido nítrico (30%) y 27.2 g. de yoduro de potasio en 50 ml de agua. Se mezclan las dos soluciones y se dejan reposar 24 horas. Se decanta la solución y se afora con agua a 100 ml.
- 3.- Reactivo de Acido Silicotúngstico.- Se disuelven 5.0 g. de ácido silicotúngstico en el ácido sulfúrico 6 N necesario para formar 100 ml de solución.
- 4.- Reactivo de Reineckato de amonio.- Una solución saturada al 4 % de reineckato de amonio conteniendo 0.3 g. de clorhídrico de hidroxilo.

lamina y ligeramente acidulada con ácido clorhídrico (conservar en refrigeración).

XVI. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Barger, G., Fraenkel-Conrat, H. J.Chem.Soc.(London), 1537(1936)*
- 2.- Bailey, L. Manual of Cultivated Plants, MacMillan Publishing Co.Inc.; New York, 1977.
- 3.- Byrd, A. Exotic Pictorial Cyclopedia of Exotic Plants from Tropical and Near-Tropic. Publishers Roehrs Co.Inc., 1978.
- 4.- Conrad Muenscher, W. Poisonous Plants of the United States. The MacMillan Co.Inc., USA, 1958.
- 5.- Debelmas, A. Guide des Plantes Dangereuses, Maloine, S.A. Ed., 1978.
- 6.- Domínguez, X. Métodos de Investigación Fitoquímica. Ed. Limusa, México, 1979.
- 7.- Heimann, L.H. J.Med.Assoc.(BMA), 9, 298(1928).
- 8.- Laurence, L., Bacharach., Evaluation of drug activities pharmacometrics, Academic Press, London and New York, 1964.
- 9.- Litchfield, J., Wilcoxon, F., J.Pharmacol.Exper. Ther. 96, 99(1948).
- 10.- Litter, M. Farmacología. Ed. Ateneo, México, 1980
- 11.- Martínez, M. Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas. Fondo de Cultura Económica, México, 1978.
- 12.- Schreiber, V.K., Ripperger, H., Z.Naturf., 17 b, 217(1962).
- 13.- Scott, E., Roberta M., J.Am.Pharm.Assoc. XLVI, No. 5, 302(1957).

- 14.- Watt, H. J. *Pharmac. Pharmacol.* 5, 649 (1932).
- 15.- Telek, L. *J. Pharm. Sc.* 66, No. 5, 699 (1977).
- 16.- Thomas, A.H., *The Plants Alkaloids. IV. Ed.*
The Blakiston Co. Philadelphia, Toronto, 1949.
- 17.- Lawrence, G.H. *Taxonomy Vascular Plants.*
Third Printing. The MacMillan Co, New York, 1958
- 18.- Expedientes de Casos Clínicos :
Departamento de Pediatría y Toxicología del
IMSS.
Departamento de Pediatría del Hospital 20 de
Noviembre.
- 19.- Goldstein, A. *Farmacología. Ed. Limusa, Méxi*
co, 1979.