



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

**INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS ENTRE EL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE LA CORTEZA DEL MAYTENUS MACROCARPA  
“CHUCHUHUASI” Y FÁRMACOS ANTIDEPRESIVOS EN  
RATONES ALBINOS**

**PRESENTADA POR  
JUAN JESÚS HUACCHO ROJAS**

**ASESOR  
ALBERTO SALAZAR GRANARA**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO DE MÉDICO CIRUJANO**

**LIMA – PERÚ**

**2017**



**Reconocimiento - No comercial - Compartir igual**  
**CC BY-NC-SA**

El autor permite entremezclar, ajustar y construir a partir de esta obra con fines no comerciales, siempre y cuando se reconozca la autoría y las nuevas creaciones estén bajo una licencia con los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA**

**INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS ENTRE EL EXTRACTO ETANÓLICO  
DE LA CORTEZA DEL MAYTENUS MACROCARPA “CHUCHUHUASI” Y  
FÁRMACOS ANTIDEPRESIVOS EN RATONES ALBINOS**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO DE MEDICO CIRUJANO**

**PRESENTADO POR**

**JUAN JESÚS HUACCHO ROJAS**

**ASESOR**

**DR. ALBERTO SALAZAR GRANARA**

**LIMA, PERÚ**

**2017**

## **Jurados**

Dr. Dr. Sixto Sánchez Calderón (Presidente)

Dra. Lilian Pantoja Sánchez

Mtro. Ángel Alvarado Yarasca

## **Dedicatoria**

A todos los estudiantes en formación en salud, a los miembros de la sociedad científica de estudiantes de medicina de esta casa de estudios, SOCIEM-USMP, a las sociedades científicas a nivel nacional, las cuales tuve el honor de una vez liderar, así como también a mi hermana Sabrina Huaccho y mi prima Crisell Rojas, decirle que no hay límites en la vida, solo el que uno mismo se coloca, el cual con trabajo y perseverancia, siempre lograrán superarlo.

“el aprendizaje sin investigación es incompleta, ya que es la investigación el motor de un constante aprendizaje y el secreto para crecer profesionalmente”

## **Agradecimientos**

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han contribuido de alguna forma a la realización de esta tesis. En especial al Dr. Frank Lizaraso Caparó, decano de la facultad de Medicina Humana, por su invaluable apoyo y ejemplo a seguir en camino de la investigación, al Dr. Benjamín Castañeda Castañeda y al Dr. Frank Lizaraso Soto, anterior y actual Director del Instituto de Investigación, por su incondicional apoyo en la gestión y realización de esta investigación, abriéndonos las puertas del instituto de investigación que dirige para la realización de esta tesis. Al Dr. Alberto Salazar, Responsable del Centro de Investigación de Medicina Tradicional y farmacología (CIMTAR), que más que un asesor, se ha convertido en un gran amigo y familia siendo mi mentor desde mis inicios en la investigación, guiándome y apoyando en distintos proyectos científicos como personales, por lo que siempre tendrá mi eterna gratitud y apoyo incondicional, Así como también todo el equipo humano del CIMTFAR, quienes se han convertido como una segunda familia para mí.

Y por último a los más importantes en mi vida, quienes siempre me apoyaron y confiaron en mí en este gran camino, mis padres, Juan Huaccho y Vilma Rojas por darme la fortaleza y soporte para seguir adelante y exigirme siempre para lograr mis metas, así también a toda mi familia en general, en especial a mi Tío Juan Rojas, porque me inspiran a ser mejor día a día, solo espero llenarlos siempre de orgullo a cada uno de ellos.

## INDICE

Portada	I
Jurados	II
Dedicatoria	III
Agradecimientos	IV
Índice	V
Resumen/Abstract	VI
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I. MARCO TEÓRICO	5
CAPITULO II. HIPOTESIS Y VARIABLES	24
CAPITULO III. METODOLOGÍA	28
CAPITULO IV. RESULTADOS	36
CAPITULO V. DISCUSIÓN	43
CONCLUSIONES	47
RECOMENDACIONES	47
FUENTES DE INFORMACIÓN	48
ANEXOS	58

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar las interacciones farmacológicas entre el extracto etanólico de la corteza del *Maytenus Macrocarpa* “Chuchuhuasi” y fármacos antidepresivos en ratones albinos. **Métodos:** Ratones albinos machos de peso promedio de 30g, fueron asignados por muestreo aleatorio simple en 21 grupos experimentales, recibiendo por vía oral Fluoxetina (20 y 40 mg/kg), amitriptilina (10 y 15 mg/kg), extracto etanólico de las hojas de *Maytenus macrocarpa* “Chuchuhuasi” (500, 750, 1000 mg/kg) y 12 grupos de interacción entre Chuchuhuasi y lo antidepresivos usados. Empleándose la prueba de nado forzado, y Test de Irwin para evaluar el efecto neurofarmacológico. **Resultados:** el test de ANOVA y Kruskal-Wallis resultó  $p < 0.05$  para los grupos experimentales con distribución gaussiana y no gaussiana respectivamente. Asimismo se ejecutó los test de Tukey y Dunn’s obteniendo  $p < 0.05$  en la comparación de los siguientes grupos experimentales: Blanco, Chuchuhuasi 500mg/kg y Chuchuhuasi 750mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg, respectivamente, así como también los grupos Blanco, Chuchuhuasi 500mg/kg y Chuchuhuasi 750mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg. El test de Irwin, determinó mediante la prueba exacta de Fisher que en las variables cualitativas sedación, excitación, marcha anormal, retorcijones abdominales, piloerección y estereotipias, se obtuvieron múltiples diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos experimentales. **Conclusiones:** Se demostró interacciones farmacológicas de antagonismo y sinergismo de los fármacos antidepresivos estudiados vs *Maytenus Macrocarpa* de 500mg/kg y 1000mg/kg respectivamente, sobre el efecto neurofarmacológico en el roedor.



**Palabras Claves.**- interacciones de drogas, Maytenus, macrocarpa, antagonismo sinergismo, antidepresivos.

## ABSTRACT

**Objective:** To determine the pharmacological interactions between the ethanolic extract of the bark of *Maytenus Macrocarpa* "Chuchuhuasi" and antidepressant drugs in albino mice. **Methods:** Male albino mice with a mean weight of 30 g were randomly assigned to 21 experimental groups, receiving oral fluoxetine (20 and 40 mg / kg), amitriptyline (10 and 15 mg / kg), ethanolic extract from Leaves of *Maytenus macrocarpa* "Chuchuhuasi" (500, 750, 1000 mg / kg) and 12 interaction groups between Chuchuhuasi and the antidepressants used. Using the forced swimming test, and Irwin's test to evaluate the neuropharmacological effect. **Results:** the ANOVA and Kruskal-Wallis test results were  $p < 0.05$  for the experimental groups with Gaussian and non-Gaussian distribution, respectively. We also performed the Tukey and Dunn's tests, obtaining  $p < 0.05$  in the comparison of the following experimental groups: White, Chuchuhuasi 500mg/kg and Chuchuhuasi 750mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetine 20mg/kg, respectively Also the groups White, Chuchuhuasi 500mg/kg and Chuchuhuasi 750mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptyline 10mg/kg. The Irwin test determined that, in the qualitative variables sedation, excitation, abnormal gait, abdominal cramps, piloerection and stereotypies, significant differences ( $p < 0.05$ ) were obtained between the experimental groups. **Conclusions:** It was demonstrated pharmacological interactions of antagonism and synergism of the antidepressant drugs studied vs *Maytenus Macrocarpa* of 500mg/kg and 1000mg/kg respectively, on the neuropharmacological effect in the rodent.

**Keywords.-** Drug interactions, Synergism, Antagonism, Antidepressive,

Maytenus, macrocarpa, bark.

## INTRODUCCIÓN

El Perú fue cuna de una de las grandes culturas ancestrales, como fue el imperio incaico dejándonos costumbres y riquezas que hasta ahora seguimos explorando y enriqueciéndonos cada vez más con cada descubrimiento, especialmente en lo que se refiere a plantas medicinales, siendo uno de los primeros en número de especies de plantas de propiedades conocidas y utilizadas por la población (4400 especies). La flora tiene aproximadamente 25000 especies, de las cuales el 30% son endémicas <sup>(1)</sup>.

Contando con toda esta flora diversa, es nuestro deber estudiarlas y profundizar en sus propiedades medicinales, pero especialmente en su consumo correcto de cada una de ellas <sup>(2)</sup>. En este caso, se encuentra el “chuchuhuasi”, cuyo nombre científico es *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq.

Muchos estudios han demostrado diversos efectos terapéuticos del chuchhuasi, como es su acción frente a malestares en la motilidad intestinal, enfermedades reumáticas, así como su efecto sobre la temperatura corporal, la frecuencia respiratoria y la frecuencia cardíaca <sup>(3)</sup>.

Así mismo se ha podido determinar que el género *Maytenus* tiene una variedad de especies que poseen efecto sobre el Sistema Nervioso Central (SNC). Por ejemplo, se encuentra *M. obtusifolia* la cual en su extracto de cloroformo posee la propiedad depresiva del SNC demostrada en el significativo decrecimiento en la actividad motora espontánea y una actividad neuroepiléptica evidenciada a través de la catalepsia presentada a través de la vía central de acción de la dopamina <sup>(4)</sup>.

Por otro lado, se encuentra el uso tradicional de la planta especialmente usada por los “chamanes”, pobladores que han recopilado gran cantidad de conocimiento sobre el uso de las llamadas “plantas maestras”, dentro de las cuales está el “chuchuhuasi”. Estas plantas se denominan así porque se considera que tienen la capacidad de enseñar, abrir caminos, mostrar cosas a los que hacen uso de ellas, como las mismas propiedades medicinales como antipirético, analgésico y antidiarreico; así como también frente al sistema nervioso como alucinógeno y afrodisíaco. <sup>(5)</sup>. Sin embargo, no es esta la única forma de consumirla en los pobladores, ya que se llega a encontrar bebidas alcohólicas o maceradas del “chuchuhuasi” en tiendas de la región, a libre acceso de cualquier poblador. Siendo justamente esta una de las primeras acciones que realizan las personas frente a un cuadro depresivo, consumir bebidas alcohólicas.

La depresión es un trastorno altamente complejo que afecta a un porcentaje elevado de la población general y a pesar de los abundantes estudios clínicos y experimentales, aún se desconocen diversos aspectos implicados en su fisiopatología y en las acciones de las terapias farmacológicas utilizadas en su manejo <sup>(6)</sup>. En este último aspecto son las Guías Clínicas que establecen el manejo farmacológico de los trastornos mentales siendo la Amitriptilina y Fluoxetina los antidepresivos más usados desde el primer nivel de atención, ya que no presentan restricción para su uso por un especialista y son los que se encuentran con mayor disponibilidad según el Petitorio Nacional Único de Medicamentos Esenciales (PNUME) <sup>(7)</sup>.

Los estudios epidemiológicos de salud mental en la sierra urbana (2003), la selva urbana (2004) y fronteras (2005) encontraron una prevalencia de vida de cualquier trastorno psiquiátrico de 37,3%, 39,3% y 34,7%, respectivamente. Sin embargo, estos trastornos se hallaron en el 50,0% de la población de Ayacucho y 48,0% en Puerto Maldonado y ciudades incluidas. El trastorno mental más frecuente en la sierra urbana, la selva urbana y ciudades fronterizas ha sido el episodio depresivo moderado a severo con 16,2%, 21,4% y 17,1%, respectivamente <sup>(8)</sup>. Asimismo, se le ha asociado con conductas de riesgo que contribuyen a la presencia de lesiones no intencionales, violencia, uso de tabaco, drogas y en mayor frecuencia el consumo de bebidas alcohólicas <sup>(9)</sup>, el cual difiere de la región especialmente en nuestro país como es el Perú, donde en la región selvática se logra encontrar todo tipo de bebidas alcohólicas en las que predominan las de origen de plantas medicinales como el Chuchuhuasi.

Este último aspecto nos conlleva a un tema muy poco explorado en regiones de Sudamérica y particularmente en el Perú, es la posibilidad de interacciones farmacológicas entre plantas medicinales y medicamentos, evento que cuenta con evidencia clínica y pre-clínica, que ha revelado potenciales reacciones adversas, inclusive mortales en múltiples casos <sup>(10)</sup>. Por ejemplo investigaciones sugieren que la adición cuidadosa de ajo en dosis moderadas en régimen de propanolol podría resultar en efecto beneficioso Durante el tratamiento de animales hipertensos con daño miocárdico <sup>(11)</sup>. En el caso propio del *Maytenus Macrocarpa* “Chuchuhuasi” se ha observado que el extracto etanólico de la hojas presento interacciones farmacológicas de antagonismo sobre la motilidad intestinal, entre Chuchuhuasi y Loperamida y sinergismo entre chuchuhuasi y metoclopramida <sup>(12)</sup>.

Uno de los modelos más ampliamente utilizados en el estudio de la depresión es el test de nado forzado descrito por Porsolt <sup>(13)</sup>, debido a la gran cantidad de exigencias que debe satisfacer una práctica animal para ser considerada un modelo validado, la mayoría de estos cumplen algunos pero no todos estos requisitos de validez. El test de nado forzado posee una fuerte validez de predicción y semejanza <sup>(14)</sup>, es por ello que es usada para detectar actividad antidepresiva para lo cual es necesario tener como instrumento un cilindro y determinar el tiempo de nado del ratón <sup>(15)</sup>. Se ha realizado una investigación donde se evaluó el efecto neuroléptico (antipsicótico) de fármacos como fluoxetina en ratas con la prueba de Nado Forzado, lo cual indica que es posible obtener resultados adecuados en dichas circunstancias <sup>(16)</sup>.

El test de Irwin es usado para evaluar efectos en el comportamiento y sobre la función fisiológica, además de poder identificar una aguda neurotoxicidad y algún efecto contrario que pueda presentar la sustancia evaluada <sup>(17)</sup>.

Con lo mencionado, es factible mediante la experimentación determinar las interacciones farmacológicas entre el extracto etanólico de la corteza del *Maytenus Macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. y fármacos antidepresivos más usados como son la Fluoxetina y la Amitriptilina. No existe ningún estudio publicado que lo haya estudiado es por ello que es nuestro objetivo principal de esta investigación. Brindando así información importante a la población en el campo de la atención primaria en salud, informando a la población de posibles efectos adversos.

## 1. CAPITULO I MARCO TEORICO

### 1.1. Antecedentes de la Investigación

A nivel internacional son muchas las investigaciones realizadas dentro de los antecedentes de esta investigación como por ejemplo en el año 2005 se observó que el extracto de cloroformo del *Maytenus obtusifolia* presenta una acción depresiva en el sistema nervioso central demostrado en la actividad motora espontánea y su actividad neuroepileptica fue evidenciada en la catalepsia, en el examen de toxicidad inducida por anfetaminas observada en los ratones y ratas a través del mecanismo de la vía central de acción de la dopamina <sup>(4)</sup>. Por otro lado las hojas de *Maytenus robusta* tradicionalmente han sido usadas por sus propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antiulcerogénicas. Los resultados obtenidos en un estudio el 2012 demostraron que el extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *M. robusta* es genotóxico, pero no clastogénico en las concentraciones previstas para ser evaluados por su posible eficacia clínica <sup>(18)</sup>.

Otra especie del género *Maytenus*, *M. ilicifolia* fue estudiada el 2013 con dos interesantes investigaciones, demostrando que las fracciones obtenidas podrían presentar compuestos responsables de la actividad hipotensora y diurética, y que dicho efecto podría incluir la ruta de la prostaglandina/cAMP, así como también podrían ser considerados en el desarrollo de fármacos nuevos y más potentes para el tratamiento de la Leishmaniasis y la enfermedad de Chagas <sup>(19, 20)</sup>. Asimismo una investigación experimental realizada el 2013 del *Maytenus laevis* Reissek “Chuchunguaso” comprobó que usado a dosis de 100 mg/kg presenta efecto analgésico evaluado por el



test de contorsiones. Además, se determinó que la dosis letal es de 2000 mg/kg <sup>(21)</sup>. Por último otra especie también estudiada en el 2013 fue el *M. royleanus*, en particular, el extracto de metanol, acetato de etilo y la fracción de n-butanol como agente terapéutico contra daños de radicales libres asociados. El potencial protector del extracto o fracción se puede atribuir debido a la alta concentración de fenólicos, flavonoides, taninos y terpenoides <sup>(22)</sup>.

Con respecto a trabajos realizados sobre interacciones farmacológicas con plantas medicinales, se revisaron 2 artículos realizados en el 2012 y 2015, respectivamente, donde en uno de ellos se estudiaron 213 entidades de fitofármacos y suplementos alimenticios en base a plantas, frente a 509 medicamentos, encontrándose 882 interacciones describiendo su mecanismo y la gravedad, el 42,3% se debieron a una farmacocinética alterada y 240 fueron descritos como principales interacciones. De los 152 contraindicaciones identificadas, las más frecuentes fueron gastrointestinales (16,4%), neurológicas (14,5%) y las enfermedades genitourinarias / renales (12,5%). La linaza, la equinácea, y yohimbe tuvieron el mayor número de contraindicaciones documentadas <sup>(23, 24)</sup>.

Otro estudio publicado el 2014 realizó una búsqueda sobre las interacciones farmacológicas que se presentaban en pacientes con cáncer entre las hierbas medicinales y suplementos dietéticos, encontrándose que de 806 pacientes estudiados, 433 (53,7%) se reportaron estar tomando combinaciones de suplementos y medicamentos, y 167 incidentes de riesgo fueron identificados,

que afecta a 60 pacientes (13,9%). Las interacciones identificadas fueron principalmente teóricas y no apoyadas por datos clínicos. Sin embargo ningún estudio informó eventos adversos asociados con estas combinaciones <sup>(25)</sup>. Por último una investigación realizada en Uruguay la cual también evaluaba las interacciones farmacológicas de las hierbas medicinales afirmando que las hierbas medicinales no son inocuas, que presentan interacciones relevantes con medicamentos habitualmente utilizados en la práctica clínica, siendo éstos considerados de alto riesgo sanitario <sup>(26)</sup>.

Sobre la corteza del *Maytenus macrocarpa*, un estudio de 1998 encontró que el extracto presentaba un conjunto de triterpenoide friedelan entre los que destacan 3-oxo-29-hydroxyfriedelane, 3-oxofriedelan-25-al, y canofilol. No observando actividad antitumoral frente a P-388 linfocitoide neoplasia, A-549 de carcinoma de pulmón humano, HT-29 de carcinoma de colon humano, o MEL-28 líneas celulares de melanoma humano <sup>(27)</sup>. Asimismo otro estudio en el 2007 fue puesto en prueba contra nueve bacterias y una levadura, usando el método de microdilución de caldo de cultivo, teniendo significativos efectos antimicrobianos, con un espectro de acción más amplia frente a otras plantas estudiadas, el cual inhibió todas las cepas que se pusieron a prueba <sup>(28)</sup>.

### 1.1.1 Nacionales

A nivel nacional también son muchas investigaciones que podemos encontrar sobre el género *Maytenus*, uno de los primeros estudios realizado a nivel nacional de dicho género, encontrado en nuestra búsqueda data del año 2008, el cual tuvo el objetivo de determinar la acción sobre la presión arterial y

frecuencia cardiaca del *Maytenus Krukovii* en rata consciente. Los resultados de este trabajo comparados con los valores básales, muestran una actividad hipotensora del *Maytenus krukovii* destacándose el máximo efecto a la hora de administración; una presión arterial sistólica (238 vs. 181 mmhg); una presión arterial diastólica (200 vs. 129 mmhg) y una presión arterial media (299 vs. 187 mmhg); respecto a la frecuencia cardiaca el *Maytenus krukovii* mostró actividad bradicárdica, siendo su máximo efecto a las 3 horas de administrado el chuchuhuasi (430 vs. 386 latidos por minuto). En este trabajo se llega a la conclusión de que el *Maytenus krukovii* presenta acción hipotensora y cronotropa negativa <sup>(29)</sup>.

Macrocarpa “Chuchuhuasi” como por ejemplo en el 2012 Huaccho y colaboradores publicaron un investigación evaluando los efectos del extracto etanólico de la hojas de “Chuchuhuasi” sobre la frecuencia cardiaca, respiratoria, temperatura y patrones electrocardiográficos concluyendo que el chuchuhuasi presenta un efecto inotrópico negativo, depresor de la frecuencia cardiaca, respiratoria y la temperatura corporal <sup>(3)</sup>. Asimismo en el 2013 otras 2 investigaciones publicadas demostraron efectos de las hojas de *Maytenus macrocarpa*, una de ellas mediante el test de Irwin llegando a la conclusión que ambas dosis de extracto etanolico usadas mostraron efectos neurofarmacológicos, y evidenciaron un patrón mixto excitador y depresor <sup>(30)</sup>. Mientras que la otra investigación realizó el extracto acuoso de *M. macrocarpa* en dosis de 1000 mg/kg pc, presenta un efecto negativo en el sistema reproductivo masculino de ratones <sup>(30)</sup>. Además en el 2014 también se publicó una investigación cuasiexperimental comprobándose el efecto

antinociceptivo de las hojas de *Maytenus macrocarpa* en dosis de 2000 mg/kg mediante la prueba de contorsiones abdominales en roedor <sup>(32)</sup>.

A nivel nacional también se han realizado múltiples investigaciones sobre interacciones farmacológicas por ejemplo en el 2013, un estudio determino las posibles interacciones farmacológicas de las hojas de *Maytenus macrocarpa* con fármacos estimulantes e inhibitorios de la motilidad intestinal, concluyendo que existe interacciones farmacológicas de antagonismo sobre la motilidad intestinal, entre chuchuhuasi y Loperamida y sinergismo entre chuchuhuasi y metoclopramida <sup>(33)</sup>. Asimismo también en el 2013 otro estudio determino el efecto dosis-respuesta sobre la motilidad intestinal y el sistema nervioso, de la interacción entre el extracto etanólico de las semilla de *J. curcas* L. y metoclopramida, comprobándose el antagonismo entre el extracto etanólico de la semilla de *J. curcas* L. con la metoclopramida, y la ocurrencia de manifestaciones en el sistema nervioso <sup>(34)</sup>.

## **1.2. Bases Teóricas**

### **1.2.1. Medicina Tradicional**

En el mundo, la historia de cada pueblo tuvo momentos en los cuales hubo una relación muy cercana entre la naturaleza y los seres humanos, gracias a la cual se descubrieron propiedades beneficiosas de una diversidad de plantas. En la actualidad, estas plantas se conocen mucho más, se han analizado algunos de sus componentes para crear fármacos que estén disponibles al resto del mundo, y se ha generado una gran cantidad de

conocimiento.

Según la OMS, el término “medicina tradicional” se emplea para referirse a la suma total de conocimientos, prácticas y habilidades basadas en teorías, creencias y experiencias indígenas de diferentes culturas, que puedan explicarse o no, y que han sido usadas para mantener la salud y en la prevención, diagnóstico, mejoramiento o tratamiento de enfermedades físicas y mentales <sup>(35-36)</sup>.

En el Perú, la medicina con productos naturales se ha empleado en las épocas pre-incas e incaicas, teniendo su auge hasta la conquista española. Luego de esta, los europeos tuvieron mucho interés por las propiedades curativas de las plantas peruanas, pudiendo así en 1649 publicarse el primer informe sobre la “quina” (*Chinchona officinalis*) y su propiedad curativa de la malaria, por los Jesuitas en el libro “Shedula Romana”. Cada región, por las características de suelo, temperatura, entre otros, tiene un conjunto de plantas medicinales particular. Entre las plantas más conocidas con propiedades curativas se encuentra la “sangre de grado” (*Croton lechleri*), la “uña de gato” (*Uncaria tomentosa*), “chanca piedra” (*Phyllanthus urinaria*), “ruda” (*Ruta graveolens*), entre otros <sup>(2)</sup>.

Los conocimientos obtenidos con la práctica de la medicina tradicional han sido recogidos por muchos pobladores, de los cuales algunos son llamados “chamanes” por poseer el poder de aliviar dolencias de diversos tipos, de las personas que los visitan. En este contexto, los “chamanes” suelen usar

ciertas plantas con frecuencia por las propiedades alucinógenas que tienen (entre otras), llamándose así “plantas maestras” o enteógenas (pues dicen producir la experiencia directa con lo divino) <sup>(34)</sup>. Estas plantas se denominan así porque se considera que tienen la capacidad de enseñar, abrir caminos, mostrar cosas a los que hacen uso de ellas, como las mismas propiedades medicinales o las intenciones de las personas. Es por eso que plantas como el “chuchuhuasi” son comunes en la práctica del chamanismo <sup>(5)</sup>.

De una forma u otra, es importante resaltar que si bien la modernidad se inclina más hacia la ciencia y no hacia las costumbres internas de los pueblos, muchas de las prácticas de medicina andina y de otros tipos tienen un fundamento científico. Parte de la flora del mundo ha sido identificada y caracterizada por sus propiedades, y algunas de esas características ya son respaldadas por estudios científicos.

### **1.2.2. Chuchuhuasi**

El Perú es considerado como el 5to en número de especies; y uno de los primeros en número de especies de plantas de propiedades conocidas y utilizadas por la población (4400 especies). La flora tiene aproximadamente 25000 especies, de las cuales el 30% son endémicas. El mayor porcentaje de estas está clasificado y tiene uso común en las poblaciones donde dichas plantas abundan, permitiéndose así el paso del conocimiento a través de generaciones.

Una de las plantas medicinales muy usada en la actualidad es *Maytenus macrocarpa*, (Ruiz & Pav.) Briq. coloquialmente conocida como “Chuchuhuasi”. Pertenece a la familia Celastraceae, género *Maytenus* y es nativa de la selva amazónica, de la cual tienen parte Perú, Brasil, Bolivia y Ecuador, principalmente. Específicamente en el Perú, se distribuye a lo largo de los departamentos de Amazonas, Huánuco, Loreto, Madre de Dios, San Martín y Ucayali. Sus características botánicas la describen como un árbol de hasta 35 m de altura, de tronco grueso, ramas abundantes, hojas oblongo-lanceoladas o elípticas de 10-20 cm de largo y flores blancas y pequeñas <sup>(2)</sup>.

La planta ofrece casi toda su estructura para aliviar distintos males, es así como se encuentra que tiene efectos analgésico, en la motilidad intestinal, en la temperatura, frecuencia respiratoria y frecuencia cardíaca <sup>(3)</sup>. La corteza de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. es utilizada para el reumatismo, la influenza, enfermedades gastrointestinales, fármaco antitumoral, etc. Llevarla a cocción es una práctica común para administrarla a quienes sufren de alguna dolencia, pero además se obtienen extractos etanólicos, jugos, etc <sup>(2)</sup>. Por otra parte, su raíz se utiliza principalmente para tratar el reumatismo. Se realiza una maceración alcohólica y se recomienda tomar en ayunas el aguardiente preparado <sup>(2)</sup>. El aspecto bioquímico de *M. macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. incluye elementos como fenoles, quinonas, saponinas y triterpenos, que han sido explicados mediante las extensivas investigaciones sobre esta planta <sup>(37)</sup>.

### 1.2.3. Antidepresivos

En la actualidad existen numerosas drogas antidepresivas de eficacia terapéutica demostrada, aún para las formas más graves de depresión. Se cuentan con agentes antidepresivos tricíclicos, los más antiguos pero aún no superados en eficacia específica, los tetracíclicos de reciente aparición, los inhibidores de la receptación de serotonina o 5-HT, cuya principal ventaja es la disminución de la incidencia de varios efectos adversos, los inhibidores de la MAO, algunos específicos de la MAO-B, de acción reversible, y las sales de litio de acción profiláctica o preventiva de los trastornos bipolares mixtos y de la depresión mayor o endógena. También tiene aplicación terapéutica la terapia electro convulsiva, que aunque muy limitada, posee indicaciones precisas. Finalmente debe considerarse especialmente a la psicoterapia como un arma terapéutica más. En la casi totalidad de los pacientes con depresión psíquica, la psicoterapia actúa sinérgicamente con las drogas antidepresivas <sup>(38)</sup>.

- Antidepresivos tricíclicos: Las drogas de este grupo son todas derivadas de la dibenzoacepina o iminodibencilo, núcleo heterocíclico con dos anillos bencénicos, semejante a la fenotiazina en el que se reemplaza el átomo de azufre de ésta por un puente de etileno en la estructura cíclica central. Al igual que las fenotiazinas el iminodibencilo tiene una cadena lateral ligada al nitrógeno, con 3 átomos de carbono y un nitrógeno terminal. La imipramina tiene 2 grupos metilos en el N terminal. Huhn describió en Suiza en el año 1957, que la imipramina



carece de efectos en la esquizofrenia, para la que originalmente fué sintetizada, pero en cambio resultó sumamente efectiva en el tratamiento de la depresión psíquica mayor, iniciando otra línea de avance terapéutico en psiquiatría de gran trascendencia.

Pequeñas modificaciones en la cadena lateral de la imipramina, que determinan cambios de tipo farmacocinético principalmente, dan lugar al resto de los componentes del grupo. El agregado de un Cl en posición 7, origina la mono-clorimipramina. La supresión de un metilo en la cadena lateral de la imipramina, demetilación, da origen a la desipramina. El agregado de un metilo en la cadena lateral da lugar a la trimipramina. El reemplazo en la molécula de la imipramina del puente de nitrógeno (N-CH<sub>2</sub>- ...), en posición 5 por un puente de carbono (C=H<sub>2</sub>-....), origina la amitriptilina y la demetilación de ésta la nortriptilina. Estos agentes son inhibidores de la recaptación axonal de NA y 5-HT que constituye el principal mecanismo de inactivación fisiológica de los neurotransmisores, con distinta potencia y selectividad. También son antagonistas de los receptores muscarínicos, de los Alfa 1 y de los histaminérgicos H1 y H2, con potencia de moderada a elevada <sup>(38)</sup>.

- Antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptación de 5-HT o Serotonina: Estos agentes carecen casi por completo de actividad sobre la recaptación de otros neurotransmisores aminérgicos. Tampoco tienen afinidad por adrenoceptores

postsinápticos, o receptores mus carínicos, histaminérgicos, GABAérgicos o de 5-HT. La fluoxetina fué el primer agente utilizado y el prototipo del grupo. También es un potente inhibidor de una enzima citocromo P- 450 hepática, conocida como CYP2D6, que metaboliza a los antidepresivos tricíclicos, algunos neurolépticos, antiarrítmicos y betabloquantes. Ello explica las conocidas interacciones de la fluoxetina con los tric íclicos cuando se los administra conjuntamente (aumento de los niveles plasmáticos de éstos y potenciación de sus acciones) y sugiere la posibilidad de otras interacciones. La fluoxetina se absorbe completamente por via oral pero su biodisponibilidad se reduce por su gran metabolización de primer paso por el hígado. Se metaboliza por oxidación y conjugación posterior. La vida media de la fluoxetina y de su metabolito norfluoxetina es prolongada, de 40 a 70 horas. Se ligan firmemente a proteínas tisulares, por lo que despues de suprimir su administración, la eliminación del organismo es muy prolongada <sup>(37)</sup>.

#### **1.2.4. Test de Irwin**

En 1968 Irwin describió el proceso de observación primaria (Test de Irwin) como una prueba para determinar los efectos generales de una droga (aprobada o en proceso de aprobación) sobre la actividad del sistema nervioso central (SNC) y la función fisiológica. Esta prueba se usa para estimar la mínima dosis letal de una sustancia en estudio, el rango de dosis para obtener respuestas en el SNC, y los efectos primarios en el comportamiento y funciones fisiológicas. Con la información obtenida,

también se puede determinar el riesgo asociado con el uso de dicha sustancia, el tiempo de duración del efecto, entre otros <sup>(17)</sup>. Para el procedimiento se pueden emplear ratas o ratones, a los que se le administra las dosis elegidas de la sustancia en estudio y pasan a observación hasta el día siguiente. Algunos de los comportamientos ya registrados y que se esperarían son:

- Neurotoxicidad: convulsiones y temblores
- Estimulación del SNC: excitación, cola de Straub, saltos, hipersensibilidad a estímulos externos, comportamiento agresivo
- Depresión del SNC: sedación, pérdida de equilibrio, pérdida de tracción, descoordinación motora, hiposensibilidad a estímulos externos, tono muscular disminuido, aquinesia, catalepsia, hipotermia.
- Funciones autonómicas: cambios en respiración, diámetro pupilar, temperatura corporal, salivación y defecación.

El protocolo elaborado para ratas evalúa respuestas a los 15, 30, 60, 120, y 180 minutos y 24 horas posteriores a la administración de la sustancia en estudio. Los animales deben ser colocados en cajas por grupos, con acceso libre a alimento y agua, en un ambiente de  $21^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , en un ciclo de luz/oscuridad con iluminación de 7 am a 7 pm. Los roedores deben llegar al laboratorio al menos 5 días antes del experimento. En el día de la experimentación, se retira el alimento y agua por lo menos una hora antes a la primera prueba. Luego, se le asigna a cada grupo de animales diferentes fases de la prueba. En la primera fase se recomienda evaluar

una dosis alta. Las dosis siguientes en el resto de fases dependen de la primera, pudiendo aumentar o disminuir la cantidad.

En la experimentación, los roedores reciben la dosis elegida de la sustancia y luego se valúan los síntomas de comportamiento y cambios fisiológicos previamente listados. Las recomendaciones indican que la observación sea de 15 minutos continuos inmediatamente después de la administración para registrar efectos (principalmente temblores, convulsiones o muerte). Los datos se deben registrar como presencia o ausencia del síntoma de comportamiento. Al culminar cada espacio de tiempo determinado, se deben realizar las mismas evaluaciones sobre la presencia o ausencia de cambios en el comportamiento o en fisiología. El protocolo adecuado para ratones es muy similar al anterior, presentando ventajas como el uso de una menor cantidad de sustancia en estudio y menor costo de los animales (comparando con las ratas) <sup>(17)</sup>.

#### **1.2.5. Prueba de Nado Forzado <sup>(13)</sup>**

La Prueba de Nado Forzado de Porsolt (Despair test) fue desarrollada en 1977-1978 para el estudio de fármacos antidepresivos sobre el comportamiento, para lo cual utilizaron roedores. Para este tipo de medicamentos, es necesaria una prueba sencilla sobre los animales antes de aplicar pruebas preclínicas y clínicas de mayor complejidad.

Esta prueba se ha usado y modificado por diversos autores (por ejemplo, Kauppila et al. (1991), van der Heyden et al. (1991)) <sup>(39)</sup>, por lo cual tiene un

procedimiento para ratas y otro para ratones, y ambos permiten una detección rápida y de bajo costo de sustancias con actividad antidepresiva potencial. Principalmente, la actividad antidepresiva se evidencia con la medida de su efecto sobre la inmovilidad de los roedores.

A pesar de que la aplicación de esta prueba es más empleada para verificar efectos antidepresivos, se ha realizado una investigación donde se evaluó el efecto neuroléptico (antipsicótico) de fármacos como Haloperidol en ratas con la prueba de Nado Forzado, lo cual indica que es posible obtener resultados adecuados en dichas circunstancias <sup>(14)</sup>.

Los roedores implicados en la prueba son introducidos en tanques de agua de donde no pueden escapar, por lo cual son obligados a nadar para sobrevivir. Los movimientos característicos inician con una gran actividad inicial y terminan con una posición inmóvil, con sólo los movimientos necesarios para mantener la cabeza de los roedores a flote. Es por eso que el factor "inmovilidad" se interpretó como rendición por parte de los roedores, aceptando que no podían escapar; caso contrario, con la aplicación de gran variedad de antidepresivos se observó que los roedores continuaban su movimiento sin rendirse. El procedimiento en las ratas se realiza en dos sesiones separadas por 24 horas, donde los roedores deben nadar en un tanque cilíndrico de agua que no tiene punto de escape. La primera sesión dura 15 minutos y es de aclimatación, esta no incluye aplicación de medicamentos ni registro del comportamiento.

Luego viene la separación entre las sesiones, en la cual se administran repetidas veces los medicamentos elegidos, generalmente dos a tres aplicaciones, a 24 horas, 4 horas, 60 o 30 minutos previos a la segunda sesión. El procedimiento sobre ratones es muy similar al anterior, pero tiene algunas ventajas. Por ejemplo, la cantidad de sustancia de prueba a utilizar es menor, y los ratones son considerablemente menos costosos que las ratas.

Autores del libro *Current Protocols in Pharmacology*, capítulo 38 <sup>(13)</sup>, refieren que los ratones han demostrado un nivel de inmovilidad suficiente después de una sola exposición a la prueba, y que una dosis de la sustancia en experimentación es suficiente para detectar alguna actividad de tipo antidepresiva. Por lo tanto, concluyen que el procedimiento en ratones es más adecuado como prueba primaria. Como parte de la experimentación, tanto a los ratones como a las ratas se les provee de acceso libre a comida y agua adecuada para roedores, temperatura de  $21^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{ C}$ , y un ciclo de luz/oscuridad con iluminación. Los ratones deben llegar al laboratorio al menos 5 días antes del experimento, el cual deberá llevarse a cabo durante la fase de luz del ciclo.

Los animales deben ser separados por cajas e identificados en sus colas con tinta indeleble. Además, se registra su peso y se administra la sustancia con la dosis elegida. El tiempo de espera entre la aplicación y el inicio de la prueba suele ser de 30 minutos para inyecciones intraperitoneales y subcutáneas, y de 60 minutos para administraciones

orales. Al iniciar la prueba, se observa el comportamiento registrado en los últimos 4 minutos del total de 6 minutos de duración de la prueba. Seguidamente se comparan resultados.

### **1.2.6. Interacciones Farmacológicas**

La administración de varios fármacos es más a menudo la regla que la excepción. Así cuando 2 fármacos se administran simultáneamente a un paciente pueden provocarse fenómenos de sinergismo o antagonismo, o pueden producirse modificaciones en su farmacocinética que llevan a un aumento o a una disminución de sus efectos.

#### **1.2.6.1 Antagonismo**

Anulación o disminución del efecto de una droga, por acción de otra droga. Por ejemplo, el uso de café como estimulante, pero si se toma alcohol, se anula el efecto y da paso al efecto depresor del alcohol en el sistema nervioso central.

- **Antagonismo competitivo:** Es cuando dos drogas, siendo de gran semejanza estructural molecular, una de ellas, se fija a los receptores donde se fija la droga activa o medicina, farmacológicamente, ya no dejando que haga su efecto benéfico, pues siempre la anterior no tiene efecto medicinal. Por ejemplo, si uso adrenalina pero dentro del organismo tengo la Dibenamina, está ya ocupando los lugares donde se fija la adrenalina. Por lo cual la adrenalina, ya no actúa, serían efectos anulados por ocupación de los receptores muscarínicos <sup>(40)</sup>.

- Antagonismo no competitivo o antagonismo fisiológico: Es el caso de dos sustancias que no tienen similitud química estructural, por ello ocupan receptores distintos en el cuerpo, pero da lugar a efectos que se anulan mutuamente. Por ejemplo la Histamina, droga vasodilatadora que actúa sobre los receptores vasculares histaminérgicos, y la adrenalina que actúa en los receptores adrenérgicos de los vasos. En este caso, uno no puede desplazar al otro, pues son receptores distintos <sup>(40)</sup>.
- Antagonismo químico o dualismo competitivo: Sucede, cuando hay una semejanza química entre dos compuestos, y ambos poseen la misma actividad farmacológica, pero uno de ambos es mucho más potente, entonces, se da la situación, cuando el producto menos potente, se aplica en pequeñas dosis, dando como resultado, que ocupa receptores, dando un efecto medicinal pequeño, y el otro que tiene efecto medicinal fuerte, ya no encuentra suficientes receptores, disminuyendo su respuesta en el organismo. Por ejemplo es el Dicloroisoproterenol y el Isoproterenol, donde el primero, es el que tiene la menor actividad medicinal, siendo entonces llamado agonista parcial <sup>(40)</sup>.

#### **1.2.6.2 Sinergismo**

Es el aumento de la acción farmacológica de una droga, potenciada por otra. Existen 3 casos:



- Sinergismo aditivo: Cuando las drogas utilizadas tienen el mismo efecto, como el uso de Aspirina y Fenacetina <sup>(40)</sup>.
- Sinergismo de potenciación: Dos drogas se usan simultáneamente, y su acción es mayor, que el uso de cada una por separado. Por ejemplo el uso de diurético, Cloruro de amonio, que potencia la acción de los diuréticos mercuriales <sup>(40)</sup>.
- Sinergismo de facilitación o supersensibilidad: Cuando una droga que es inactiva en un sentido, es capaz de aumentar la acción de una droga activa en dicho sentido. Por ejemplo el uso de Clorhidrato de cocaína por si sola, no es capaz de contraer la membrana nictitante del gato, pero si se agrega junto con Noradrenalina, aumenta considerablemente la acción de contracción de la membrana <sup>(40)</sup>.

### 1.3 Glosario de Términos

- Medicina tradicional: Según la OMS, la define como la suma total de conocimientos, prácticas y habilidades basadas en teorías, creencias y experiencias indígenas de diferentes culturas, que puedan explicarse o no, y que han sido usadas para mantener la salud y en la prevención, diagnóstico, mejoramiento o tratamiento de enfermedades físicas y mentales.

- Chuchuhuasi (*Maytenus Macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq.): Pertenece a la familia Celastraceae, género *Maytenus*. Es una planta nativa de la región occidental de la selva amazónica peruana, la cual posee efectos antiinflamatorios, analgésicos, antipiréticos, motilidad intestinal, frecuencia respiratoria y frecuencia cardíaca.
- Antipsicótico: Un neuroléptico o antipsicótico es un psicofármaco que comúnmente, aunque no exclusivamente, se usa para el tratamiento de las psicosis. Los neurolépticos ejercen modificaciones depresoras fundamentalmente en el SNC y pueden servir en casos de esquizofrenia para, hacer desaparecer las alucinaciones, y generalmente —en dosis terapéuticas— no presentan efectos hipnóticos.
- Test de Irwin: Es usado para evaluar los efectos de una nueva sustancia sobre el comportamiento y la función fisiológica. Los resultados obtenidos mediante el test son usados para determinar una toxicidad potencial y poder seleccionar dosis para una determinada actividad terapéutica. Además, permite identificar una aguda neurotoxicidad y algún efecto contrario que pueda presentar la sustancia evaluada.
- Prueba de nado forzado: Es uno de los modelos más ampliamente utilizados para detectar actividad antidepresiva en un gran número

de sustancias las cuales son aplicadas en animales de laboratorio. El instrumento que se utiliza para el ensayo con ratones, consiste en un cilindro de 35 cm de altura x 24 cm de diámetro, que contiene 13,5 cm de agua. La duración de la prueba es de 5 min y se registra el tiempo de latencia el cual corresponde al tiempo de nado del animal desde el momento en que se le coloca sobre la superficie del agua hasta que se queda inmóvil, y tiempo de inmovilidad.

## **2. Capítulo II HIPÓTESIS Y VARIABLES**

### **2.1 Hipótesis**

H<sub>1</sub>, Existen interacción de la corteza del *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. “chuchuhuasi” con los fármacos antidepresivos en las diferentes dosis empleadas.

H<sub>0</sub>, No Existen interacciones de la corteza del *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. “chuchuhuasi” con los fármacos antidepresivos en las diferentes dosis empleadas.

## 2.2 Operacionalización de Variables

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES						
VARIABLE	DEFINICIÓN	NATURALEZA	INSTRUMENTO Y PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	ESCALA DE MEDICIÓN	VALORES DE LAS CATEGORIAS	MEDIO DE VERIFICACIÓN
<b>Letalidad</b>	Muerte de sujetos	Cualitativa	Test de Irwin	Nominal	Presencia (+) Ausencia (-)	Doble toma de muestra
<b>Convulsiones</b>	Contracción y distensión repetida y temblorosa de uno o varios músculos de forma brusca y violenta	Cualitativa	Test de Irwin	Nominal	Presencia (+) Ausencia (-)	Doble toma de muestra
<b>Cola de Straub</b>	Cola en forma de S levantada debido a la contracción de un músculo de la cola	Cualitativa	Test de Irwin	Nominal	Presencia (+) Ausencia (-)	Doble toma de muestra
<b>Sedación</b>	Depresión del SNC manifiesto a modo de reposo o quietud	Cualitativa	Test de Irwin	Nominal	Presencia (+) Ausencia (-)	Doble toma de muestra
<b>Marcha anormal</b>	patrones inusuales e incontrolables al andar	Cualitativa	Test de Irwin	Nominal	Presencia (+) Ausencia (-)	Doble toma de muestra

<b>Saltos</b>	Movimiento que consiste en elevarse de una superficie con impulso para caer en el mismo lugar o en otro	Cualitativa	Test de Irwin	Nominal	Presencia (+) Ausencia (-)	Doble toma de muestra
<b>Incoordinación Motora</b>	Falta o pérdida de coordinación de la función motriz, Cruzamiento de las patas	Cualitativa	Test de Irwin	Nominal	Presencia (+) Ausencia (-)	Doble toma de muestra
<b>Retorcijones abdominales</b>	Estiramiento de los miembros inferiores posteriores con curvatura de los costados (movimientos abdominales visualmente aparentes)	Cualitativa	Test de Irwin	Nominal	Presencia (+) Ausencia (-)	Doble toma de muestra
<b>Piloerección</b>	Contracción del músculo erector ubicado en la base de los folículos pilosos, ocasionando que se levanten	Cualitativa	Test de Irwin	Nominal	Presencia (+) Ausencia (-)	Doble toma de muestra
<b>Estereotipias</b>	Repetición constante y automática de movimientos: oler, masticar.	Cualitativa	Test de Irwin	Nominal	Presencia (+) Ausencia (-)	Doble toma de muestra
<b>Sacudidas de cabeza</b>	Movimiento cervical en vaivén	Cualitativa	Test de Irwin	Nominal	Presencia (+) Ausencia (-)	Doble toma de muestra

<b>Rascarse</b>	Picor o quemazón manifiesta cuando el sujeto se rasca	Cualitativa	Test de Irwin	Nominal	Presencia (+) Ausencia (-)	Doble toma de muestra
<b>Alteración de la Respiración</b>	Aumento o disminución de la frecuencia respiratoria	Cualitativa	Test de Irwin	Nominal	Presencia (+) Ausencia (-)	Doble toma de muestra
<b>Tiempo Inmovil</b>	Cantidad de segundos que el ratón se encuentra inmóvil en el agua	cuantitativa	Test de nado forzado	Ordinal	0,1,2,3....a 240 segundos	Doble toma de muestra mediante video

### **3. CAPITULO III METODOLOGIA**

#### **3.1 Diseño Metodológico**

La siguiente tesis presenta el siguiente diseño metodológico,

Cuantitativo, Porque utilizó la medición exhaustiva y controlada, usando pruebas estadísticas.

Longitudinal, debido a que la evaluación se ha llevado a cabo en varios momentos en un lapso de tiempo determinado.

Cuasi-experimental, aunque el factor de exposición es manipulado por el investigador, los sujetos no son asignados de forma aleatoria.

#### **3.2 Diseño Muestral**

##### **3.2.1 Población Universo**

Ratones *Mus musculus* machos albinos, con un peso promedio de 25 gr., los cuales serán adquiridos en el Instituto Nacional de Salud.

##### **3.2.2 Población de estudio**

168 Ratones *Mus musculus* machos albinos, con un peso promedio de 25 gr., los cuales fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Salud.

### 3.2.3 Selección de la muestra

Se requirió 168 roedores albinos del Instituto Nacional de Salud, se realizó un muestreo probabilístico de aleatorización simple para que conformen los 21 grupos experimentales de 8 ratones cada uno (cada prueba tiene sus propios grupos controles positivo y negativo, siendo en total 21 grupos):

Grupo 1: Control-Blanco: no recibirá nada

Grupo 2: Placebo: recibirá agua destilada

Grupo 3: Amitriptilina 1: recibirá 10 mg/kg de Amitriptilina

Grupo 4: Amitriptilina 2: recibirá 15 mg/kg de Amitriptilina

Grupo 5: Fluoxetina 1: recibirá 10 mg/kg de Fluoxetina

Grupo 6: Fluoxetina 2: recibirá 20 mg/kg de Fluoxetina

Grupo 7: Chuchuhuasi 1: recibirá 500 mg/kg de extracto etanólico de la corteza de *M. macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq.

Grupo 8: Chuchuhuasi 2: recibirá 750 mg /kg de extracto etanólico de la corteza de *M. macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq.

Grupo 9: Chuchuhuasi 3: recibirá 1000 mg /kg de extracto etanólico de la corteza de *M. macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq.

Grupo 10: Interacción 1: Recibira *M. macrocarpa* 500 mg /kg + 10 mg/kg de Amitriptilina,

Grupo 11: Interacción 2: Recibira *M. macrocarpa* 750 mg /kg + 10 mg/kg de Amitriptilina,

Grupo 12: Interacción 3: Recibira *M. macrocarpa* 1000 mg /kg + 10 mg/kg de Amitriptilina,



Grupo 13: Interacción 4: Recibirá *M. macrocarpa* 500 mg /kg + 15 mg/kg de Amitriptilina,

Grupo 14: Interacción 5: Recibirá *M. macrocarpa* 750 mg /kg + 15 mg/kg de Amitriptilina,

Grupo 15: Interacción 6: Recibirá *M. macrocarpa* 1000 mg /kg + 15 mg/kg de Amitriptilina,

Grupo 16: Interacción 7: Recibirá *M. macrocarpa* 500 mg /kg + 10 mg/kg de Fluoxetina.

Grupo 17: Interacción 8: Recibirá *M. macrocarpa* 750 mg /kg + 10 mg/kg de Fluoxetina.

Grupo 18: Interacción 9: Recibirá *M. macrocarpa* 1000 mg /kg + 10 mg/kg de Fluoxetina.

Grupo 19: Interacción 10: Recibirá *M. macrocarpa* 500 mg /kg + 20 mg/kg de Fluoxetina.

Grupo 20: Interacción 11: Recibirá *M. macrocarpa* 750 mg /kg + 20 mg/kg de Fluoxetina.

Grupo 21: Interacción 12: Recibirá *M. macrocarpa* 1000 mg /kg + 20 mg/kg de Fluoxetina.

### **3.2.4 Criterios de selección**

#### **3.2.4.1 Criterios de inclusión**

- Ratonos *Mus musculus* machos albinos con peso promedio de 25 gr. del Instituto Nacional de Salud.

#### **3.2.4.2 Criterios de exclusión**

- Ratones no aclimatados en el bioterio de la Facultad de Medicina Humana de la USMP.

### **3.3 Técnica e instrumentos de recolección de datos**

#### **3.3.1 Procedimientos de la experimentación**

Muestra vegetal: Se empleó corteza de *M. macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq., recolectada en Iquitos (Loreto-Perú). La certificación taxonómica se realizó bajo los criterios del método de Cerrate, E.1969.

Muestra animal: Se usó 168 ratones albinos machos con peso de 25 g promedio por cada uno, procedentes del bioterio del Instituto Nacional de Salud (Lima-Perú). Se siguió los lineamientos éticos del International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animal; así, los roedores pasaron por un proceso de aclimatación, en el bioterio de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres, en condiciones de temperatura de 20-22°C, humedad entre 30 y 70%, ciclos de luz/oscuridad de 12 h y niveles de ruido menores que 70 db. Asimismo, fueron provistos de alimento balanceado para roedor medido por ración y agua ad libitum, otorgándole la misma cantidad a todos los ratones.

Extracto etanólico: Fue preparado a partir del material seco y molido de la

corteza de *M. macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. Esto se colocó a macerar durante una semana en etanol 70 %; posteriormente, la mixtura se filtró y el residuo obtenido fue secado en una estufa por un período de 48 h. La muestra ya seca fue molida hasta obtener un polvo muy fino que se almacenó en envases herméticos y en refrigeración hasta su uso posterior.

El día anterior al experimento, se pesaron a los animales e inmediatamente se procedió a colocar una marca de identificación en las colas de los animales con tinta indeleble, se preparó también el ambiente de experimentación como las condiciones ambientales, el alimento se retiró 12 horas antes de inicio de la experimentación del día siguiente.

En la mañana de la experimentación, se pasó a colocar los ratones en la sala de trabajo en jaulas de vidrio para su observación, 60 min antes del inicio del experimento, para luego administrar por vía oral la sustancia correspondiente a cada grupo experimental en un volumen de 10 ml / kg. La administración fue realizada a ciegas y contando con códigos, a fin de evitar sesgos en la evaluación del comportamiento animal.

Inmediatamente después de la administración de la sustancia experimental, se procedió a realizar el test de Irwin, observando por 1 hora en diferentes intervalos de tiempo la presencia o ausencia de los síntomas de comportamiento o cambios fisiológicos, en cada uno de los 21 grupos experimentales. Se anotó los datos en la tabla de recolección de datos (Anexo 1). Se observó a los ratones continuamente por 15 minutos

inmediatamente después de la administración de la sustancia. Las respuestas fueron evaluadas a los 15, 30, 45 y 60 minutos después de la administración. Los observadores de este test no tenían conocimiento a que grupo pertenecía los ratones evaluados para cumplir con el triple ciego.

Pasado los 60 minutos de evaluación del test de Irwin, se pasó a colocar al ratón en los cilindros individuales con el fin de iniciar la realización del test de nado forzado. Se trabajó con dos cilindros transparentes separados visualmente uno de otro por una pantalla opaca. Se observó el comportamiento de los últimos 4 minutos de la sesión de nado, que tuvo una duración total de 6 min. Esto es debido a que los animales muestran niveles más estables de la inmovilidad durante los últimos 4 minutos de la sesión, proporcionando así una base más adecuada para detectar la actividad antidepresiva. Se midió la duración de la movilidad sin medir el tiempo en el que el roedor permaneció inmóvil es decir, el tiempo no dedicado a explorar activamente el cilindro o tratando de escapar, así mismo se anotarán los movimientos menores estrictamente necesarios para mantener la cabeza del animal por encima de agua. Finalmente se realizó la fórmula para hallar el tiempo de inmovilidad ( $240 - \text{Tiempo de movilidad}$ ), para así comparar los datos de los grupos experimentales con los datos del grupo de control utilizando pruebas estadísticas. En este caso, igual que en el anterior, el evaluador no tenía conocimiento a que grupo experimental pertenecía el ratón observado durante el nado forzado.

### **3.3.2 Instrumento de recolección**

Se utilizó una ficha de recolección de datos validada y ya utilizada en el

“Currents protocols of pharmacology” como en investigaciones que utilizan el test de Irwin y el test de nado forzado <sup>(13, 28)</sup>. (Anexo 1).

### **3.4 Técnica para el procesamiento de datos**

#### **3.4.1 Procesamiento de datos**

Los datos fueron tabulados en Excel, con los resultados del test de nado forzado se realizó un control de calidad de datos realizando una segunda lectura ciega de los resultados, para que luego un tercer investigador analice los datos corroborando con una tercera lectura los resultados que difieran en +/- 3s, para verificar que estos estén correctamente codificados e introducidos en la tabla, de manera que vayan de acuerdo con la investigación y no existan discrepancias entre los resultados obtenidos.

#### **3.4.2 Análisis de datos**

Para el análisis de los datos se usó los programas estadísticos Graph Prism V.5.01 y SPSS V.23, analizando en primer lugar la distribución normal de los datos obtenidos para luego realizar el test de Anova y Tukey en el caso de los resultados obtenido del Test de nado Forzado, así mismo se realizaron múltiples pruebas de  $\chi^2$  (Chi cuadrado) para los resultados de la prueba de Irwin.

### **3.5 Aspectos Éticos**

La experimentación con ratones de laboratorio fue fundamental para llevar a cabo con éxito nuestra investigación. Para garantizar el aspecto ético en nuestro trabajo se tuvo en cuenta los lineamientos de la declaración de la asociación médica mundial sobre el uso de animales en la investigación

biomédica, adoptada por la 41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong (septiembre 1989) y revisada por la Asamblea General de la AMM, Pilanesberg, Sudáfrica (octubre 2006). Por lo tanto, se mantuvo un constante respeto según los siguientes principios, respaldados por la Asociación Médica Mundial:

- Si bien la investigación planificada y realizada adecuadamente que debe hacer uso de animales es necesaria para aumentar la atención médica de todas las personas, reconocemos también que se debe asegurar un trato humano de los animales en investigación. Se debe establecer una formación adecuada para todo el personal de investigación y se debe contar con una atención veterinaria apropiada. Los experimentos deben cumplir con las disposiciones o regulaciones que rigen el manejo humano, albergue, cuidado, trato y transporte de los animales.
- El trato compasivo de los animales usados en la investigación biomédica es esencial y los establecimientos de investigación deben cumplir con todas las normas que rigen el trato humano. Se debe proporcionar educación sobre estas normas a todos los investigadores en formación.

- Los animales sólo deben ser usados en investigación biomédica cuando está claro que su uso es necesario para lograr un resultado importante y cuando no se disponga de ningún otro método posible.
- La duplicación de experimentos con animales no debe producirse, a menos que sea justificado científicamente.

#### **4. CAPITULO IV. RESULTADOS**

Las medias de los tiempos de inmovilidad de los diferentes grupos experimentales se expresan en las figuras 1 y 2. El test de normalidad (kolmogorov-Smirnov) para el test de nado forzado resulto positivo para todos los grupos experimentales exceptuando al grupo blanco, Chuchuhuasi 750mg/kg + Fluoxetina 40mg/kg, Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 40mg/kg y Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg. En todos los grupos experimentales con distribución normal se realizó el test de ANOVA resultando  $p < 0.05$  y para todos los grupos experimentales con distribución no normal (no gaussiana) se realizó el test de Kruskal-Wallis resultando de igual forma.  $p < 0.05$ . Asimismo se ejecutó los test de Tukey y Dunn's entre los grupos experimentales con distribución gaussiana y no gaussiana respectivamente, con el fin de determinar diferencias estadísticas significativas entre ellos.

Se obtuvo  $p < 0.05$  en la comparación de los siguientes grupos experimentales: Blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg, Chuchuhuasi 500mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg, Chuchuhuasi 750mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg, Chuchuhuasi

500mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg, Blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg, Chuchuhuasi 500mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg y Chuchuhuasi 750mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg.

**Fig. 1.- Tiempo de inmovilidad de los grupos experimentales de la corteza de *M. macrocarpa* vs Fluoxetina**

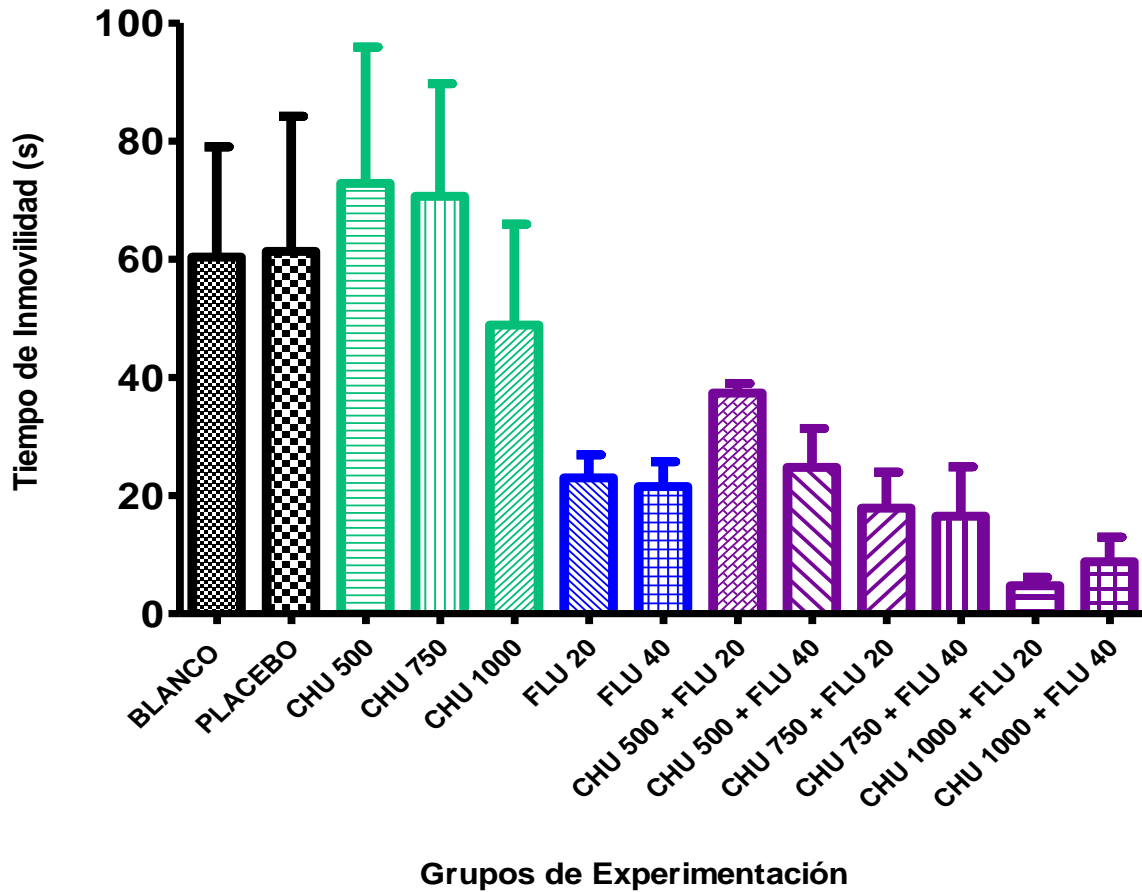
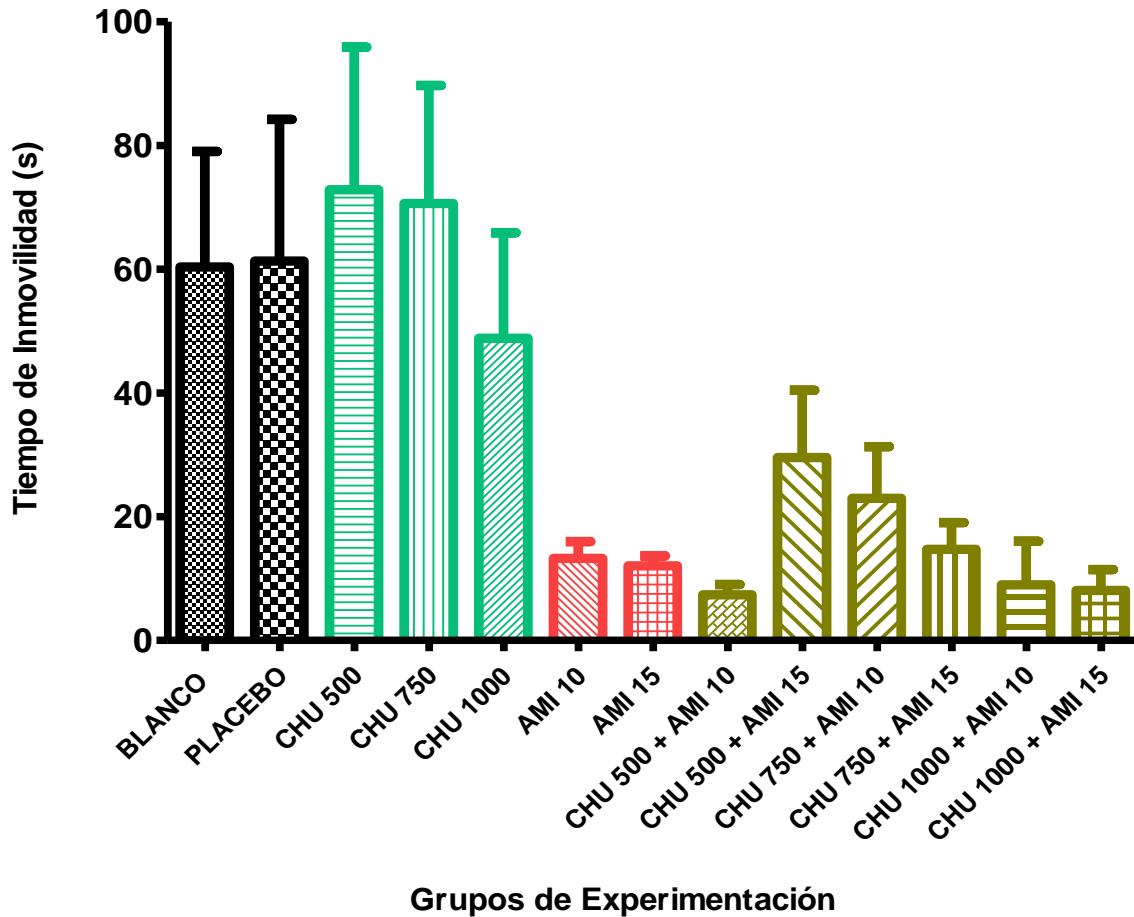




Fig. 2.- Tiempo de inmovilidad de los grupos experimentales de la corteza de *M. Macrocarpa* Vs Amitriptilina



Con respecto al análisis del test de Irwin, se observa la presencia o ausencia de las variables cualitativas de los diferentes grupos experimentales se expresan en las Tablas 1 y 2. Adicionalmente se realizaron 2940 tablas 2x2 para efectuar el test de Fisher en cada una de ellas y así determinar las variables cualitativas significativamente diferenciales según el grupo experimental, obteniendo múltiples diferencias significativas.

En el análisis de la sedación se presentó diferencia estadísticas ( $p < 0.05$ ) al minuto 45 de evaluación entre los grupos experimentales de blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg y Chuchuhuasi 1000mg/kg vs

Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg; Asimismo al minuto 60 de evaluación entre los grupos experimentales blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg, Chuchuhuasi 1000mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg y Amitriptilina 15mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg.

Por otro lado en el análisis de la excitación se presentó diferencia estadísticas ( $p < 0.05$ ) al minuto 15 de evaluación entre los grupos experimentales de blanco vs Amitriptilina 10mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 750mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg, Chuchuhuasi 750mg/kg vs Chuchuhuasi 750mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg, Amitriptilina 10mg/kg vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg; De igual forma al minuto 60 de evaluación entre los grupos experimentales Chuchuhuasi 1000mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg.

En el caso de la variable de marcha anormal se presentó diferencia estadísticas ( $p < 0.05$ ) al minuto 15 de evaluación entre los grupos experimentales blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg; En la evaluación del minuto 30 entre los grupos blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg, Chuchuhuasi 1000mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg y Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg; En la evaluación del minuto 45 entre los grupos blanco vs Fluoxetina 20mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg, Fluoxetina 20mg/kg vs Chuchuhuasi 750mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg; En la evaluación del minuto 60 entre los grupos blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi

500mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg y Chuchuhuasi 500mg/kg vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg.

Por otra parte la variable retorcijones abdominales presento diferencia estadísticas ( $p < 0.05$ ) al minuto 15 de evaluación entre los grupos experimentales, blanco vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 750mg/kg + Fluoxetina 40mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 750mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg, Chuchuhuasi 500mg/kg vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg, Fluoxetina 20mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg, Amitriptilina 10mg/kg vs Chuchuhuasi 750mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg y Amitriptilina 15mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg; en la evaluación del minuto 30 entre los grupos blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 40mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg, Chuchuhuasi 500mg/kg vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg, Chuchuhuasi 500mg/kg vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg, Fluoxetina 20mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg y Fluoxetina 40mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 40mg/kg; en la evaluación del minuto 45 entre los grupos blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 40mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg +

Amitriptilina 15mg/kg, Fluoxetina 20mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg y Amitriptilina 15mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg; en la evaluación del minuto 60 entre los grupos blanco vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Fluoxetina 40mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg, blanco vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg, Chuchuhuasi 500mg/kg vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Fluoxetina 40mg/kg, Chuchuhuasi 500mg/kg vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg, Fluoxetina 40mg/kg vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Fluoxetina 40mg/kg y Amitriptilina 15mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg.

Asimismo en la variable piloerección se encontró diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) al minuto 30 de evaluación entre los grupos Chuchuhuasi 500mg/kg vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg, Fluoxetina 40mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Fluoxetina 40mg/kg; al minuto 45 de la evaluación también se encontraron diferencias significativas entre los grupos Chuchuhuasi 500mg/kg vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Fluoxetina 20mg/kg y Amitriptilina 10mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 10mg/kg; en la evaluación del minuto 60 entre los grupos Amitriptilina 15mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg.

En la variable estereotipias solo se encontró diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) entre los grupos de Chuchuhuasi 1000mg/kg vs Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina 15 mg/kg y en la variable de rascarse entre los grupos experimentales Amitriptilina 15mg/kg vs Chuchuhuasi 750mg/kg + Amitriptilina 15mg/kg y Chuchuhuasi 500mg/kg vs Chuchuhuasi 500mg/kg + Amitriptilina

15mg/kg en las evaluaciones de los minutos 30 y 45 respectivamente.

**Tabla N°1.- Presencia o ausencia de las variables estudiadas en el test de Irwin (Grupos Fluoxetina vs controles)**

Variables	Blanco	CHU 500	CHU 750	CHU 1000	FLU 20	FLU 40	CHU 500 + FLU 20	CHU 500 + FLU 40	CHU 750 + FLU 20	CHU 750 + FLU 40	CHU 1000 + FLU 20	CHU 1000 + FLU 40
<b>sedación</b>	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si
<b>excitación</b>	si	si	si	si	si	si	si	si	no	si	si	si
<b>marcha anormal</b>	no	si	si	si*	si*	si	si*+	si	si###	si	si#	si
<b>retorcijones abdominales</b>	no	no	si	si*	no	si	si	si*+&	si	si*	si*##	si*&
<b>piloerección</b>	si	si	no	si	si	si	si+	si	si	si	si	si&
<b>estereotipias</b>	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si
<b>rascarse</b>	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si

Prueba estadística exacta de Fisher con  $p < 0,05$  en los siguientes casos; \* con blanco, + con CHU500, \$ con CHU750, # con CHU1000, ## con FLU20, & con FLU40, && con AMI10, ° con AMI 15.

**Tabla N°2.- Presencia o ausencia de las variables estudiadas en el test de Irwin (Grupos Amitriptilina vs controles)**

Variables	Blanco	CHU 500	CHU 750	CHU 1000	AMI 10	AMI 15	CHU 500 + AMI 10	CHU 500 + AMI 15	CHU 750 + AMI 10	CHU 750 + AMI 15	CHU 1000 + AMI 10	CHU 1000 + AMI 15
<b>sedación</b>	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si*#°
<b>excitación</b>	si	si	si	si	si*	si	si&&	no	si*	si\$	si	si#
<b>marcha anormal</b>	no	si	si	si*	si	si	si	si	si	si	si*	si#
<b>retorcijones abdominales</b>	no	no	si	si*	si	si	si*+	si*+	si*&&	si	si	si*°
<b>piloerección</b>	si	si	no	si	si	si	si+	si	si	si	si&&	si°
<b>estereotipias</b>	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si#
<b>rascarse</b>	si	si	si	si	si	si	si	si+	si	si°	si	si

Prueba estadística exacta de Fisher con  $p < 0,05$  en los siguientes casos; \* con blanco, + con CHU500, \$ con CHU750, # con CHU1000, ## con FLU20, & con FLU40, && con AMI10, ° con AMI 15.

## 5. CAPITULO V. DISCUSIÓN

Estudios previos de la corteza del *M. macrocarpa* han corroborado el efecto antipsicótico sobre el sistema nervioso y su relación con la dosis según el test de nado forzado, siendo mayor el efecto en dosis menores, en la presente investigación se reafirman ambos efectos <sup>(41)</sup>.

En contraste, un estudio de la raíz del *Maytenus obtusifolia* MART, demostró efecto antipsicótico en el modelo experimental de la catalepsia <sup>(4)</sup>, por lo que, este estudio podría ampliar la evidencia de la actividad neuroléptica a la especie *macrocarpa*, más precisamente, la corteza.

En este estudio se observó antagonismo sobre el efecto neurofarmacológico, tras la administración conjunta del *M. macrocarpa* 500mg/kg vs Fluoxetina (fig.1) y del *M. macrocarpa* 500mg/kg vs Amitriptilina (fig. 2), esto podría explicarse por la presencia de metabolitos secundarios del género *Maytenus*. Por ejemplo, la presencia de triterpénicos compuestos y un efecto depresor del sistema nervioso central, con un aún no definido mecanismo de acción <sup>(21)</sup>. Uno de los triterpenoides estudiados en diferentes plantas, que también es encontrado en nuestra muestra vegetal, fue linalool, capaz de inhibir la unión de glutamato a las membranas de la corteza cerebral <sup>(42)</sup>. Por eso, la liberación y absorción de glutamato se inhibe, lo que sugiere un efecto depresor sobre el sistema nervioso central <sup>(43)</sup>.

Considerando que la fluoxetina y amitriptilina aumentan el nivel de monoaminas en las interneuronas inhibitorias, excitatorias y de neuronas de proyección, tanto en la presinapsis como en la postsinapsis; y que en consecuencia, aumentan la inhibición provocada por los receptores gabaérgicos <sup>(44)</sup>; es posible plantear que el *M. macrocarpa* presente un mecanismo de acción de agonista/antagonista sobre la acción neurofarmacológico en la interacción, por acción de otros triterpenos como maytenina y pristimerina ha sido demostrado en el extracto de corteza de *Maytenus ilicifolia*, que mostraron actividad antioxidante <sup>(45)</sup>. Este efecto se expresa por la liberación de metabolitos de la dopamina, implicados en el daño de las neuronas <sup>(46)</sup>.

Por otra parte, la interacción entre *M. macrocarpa* 1000mg/kg vs Fluoxetina (fig.1) y del *M. macrocarpa* 500mg/kg vs Amitriptilina (fig. 2), resulto en un efecto de sinergismo, evento quizás esperado, considerando las investigaciones que demuestran una actividad antidepresiva en dosis altas del *M. macrocarpa* <sup>(41)</sup>.

Sin embargo, plantear una acción del *M. macrocarpa* sobre lo receptores de serotonina, sitio de acción de la fluoxetina y amitriptilina, es algo que se podría cuestionar considerando los efectos observados a dosis bajas del *M. macrocarpa* en este experimento. Por tanto, es probable que el efecto sinergismo observado pueda deberse a la acción de metabolitos secundarios presentes en el género *Maytenus* como los polifenoles <sup>(47)</sup>. Un estudio previo sobre los polifenoles del té verde demostró tener efecto antidepresivo sobre el comportamiento del ratón debido al eje hipotalámico-hipófisis-adrenal <sup>(48)</sup>. Otro estudio evaluó la capacidad de nadar de ratas que fueron alimentadas con polifenoles, obteniendo un aumento

significativo del tiempo de natación, debido a un glucógeno y ATP en los músculos de los roedores <sup>(49)</sup>. Hipótesis que deberán ser comprobadas en futuros trabajos de investigación.

Con respecto al test de Irwin un efecto importante que se registró en múltiples grupos experimentales fue la sedación (Tabla N°1 y N°2), observando una acción sinérgica entre el *M. macrocarpa* 1000mg/kg y la Amitriptilina 15mg/kg obteniendo inclusive una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) frente a sus controles, evento esperado considerando las investigaciones que demuestran un efecto sedante en respectivas dosis, tanto del *M. macrocarpa* como en el caso de la amitriptilina <sup>(41, 50)</sup>. Se podría plantear que el mecanismo probable de acción del *M. macrocarpa* sería interfiriendo con la neurotransmisión central de la dopamina coincidiendo con un estudio sobre el extracto de la corteza de *Maytenus obtusifolia*, que utilizó la toxicidad inducida por anfetamina prueba para verificar el valor protector de *Maytenus Obtusifolia* <sup>(4)</sup>. Además, un estudio preclínico demostró que los flavonoides como kaempferol, aislados de hojas de *Maytenus ilicifolia* producen un efecto ansiolítica debido a un enlace con los receptores GABAA <sup>(51)</sup>.

Se muestra un interesante resultado en la variable de marcha anormal presentándose un efecto sinérgico en las interacciones de la fluoxetina 20mg/kg frente a los grupos de *M. macrocarpa* y de Chuchuhuasi 1000mg/kg + Amitriptilina, con diferencias estadísticamente significativas frente a sus controles. Esto podría haber ocurrido debido a un flavonoide (hiperósido), que fue encontrado en hojas de *Maytenus ilicifolia* y *M. aquifolium* (Celastraceae). Este



flavonoide tiene actividad depresora del sistema nervioso central y al mismo tiempo actividad antidepresiva a través de las vías dopaminérgicas, observado en la prueba de nado forzado en ratas <sup>(52)</sup>. En el caso de la amitriptilina la incoordinación motora es un efecto extrapiramidal, debido a su acción sobre los receptores muscarínicos, mostrándose en el paciente en la alteración de la postura, tono muscular, equilibrio y coordinación <sup>(53)</sup>.

Una de las variables que predominó mostrando múltiples diferencias estadísticamente significativas fue la de retorcijones abdominales, observando un efecto sinérgico entre el *M. macrocarpa* frente a los fármacos antidepresivos usados en este estudio, esto se puede explicar por el efecto estimulante de la motilidad intestinal del *M. macrocarpa* ya reportado, donde se le atribuye probablemente una acción en receptores intestinales muscarínicos o dopaminérgicos, hipótesis que deberá ser comprobada en futuro trabajos <sup>(12, 54)</sup>.

Por último, se encontró un resultado significativo en la variable de estereotipias, mostrándose un efecto sinérgico entre el *M. Macrocarpa* frente a la amitriptilina, presentando un patrón de neuroestimulación como se reporta para la amitriptilina en dosis bajas, probablemente pueden estar mediados por vía adrenérgicas y serotoninérgicas <sup>(55)</sup>.

La limitación principal de nuestro estudio es que no puede delimitar la acción mecanismo o lugar. Además, se evaluaron los efectos de todo el extracto y no los efectos de cada metabolito secundario que perteneció a la corteza, por lo que se encontraron diferencias. Para estudios futuros, el examen de los efectos de los

metabolitos y el nivel de acción de cada uno debe hacerse.

## **6. CONCLUSIONES**

Se demuestra la interacción farmacológica de antagonismo de los fármacos antidepresivos estudiados vs *Maytenus Macrocarpa* 500mg/kg sobre el efecto neurofarmacológico en el roedor.

Se demuestra la interacción farmacológica de sinergismo de los fármacos antidepresivos estudiados vs *M. Macrocarpa* 1000mg/kg sobre el efecto neurofarmacológico y el efecto modificador de la conducta en el roedor.

## 7. RECOMENDACIONES

Este estudio, demuestra una interacción farmacológica sobre el neurofarmacológico, al combinar el *M. macrocarpa* con fluoxetina y amitriptilina; es recomendable, emplear como el aporte de estos resultados, su inmediata aplicación en la praxis clínica, sobre todo para alertar a la comunidad médica y al usuario de las plantas medicinales y los potenciales riesgos que podrían ocasionar tal práctica terapéutica.

Esta práctica terapéutica, se da ante la presunción de que es voluntaria, pero también que es ocultada por el paciente al momento de la consulta con el médico, o inclusive, cabe la posibilidad de que el médico recomiende también el consumo conjunto; así, sea cual sea la forma en que ocurra, se asume erróneamente, que la planta medicinal por provenir de la naturaleza es inocua.

## 8. FUENTES DE INFORMACIÓN

1. MINAGRI. Dirección General Forestal y de Fauna Silvestre. [Online].; 2013. Available from: <http://dgffs.minag.gob.pe/index.php/riqueza-y-biodiversidad-de-especies>.
2. Mejía K, Rengifo E. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana. Instituto de la Amazonía Peruana. 2nd ed. Lima; 2000.
3. Huaccho J. Efectos sobre la temperatura, frecuencia respiratoria, frecuencia cardiaca y electrocardiograma de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi). Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012 Julio-Septiembre; 17(3): p. 233-243.
4. De Sousa D, De Almeida R. Neuroleptic-like properties of the chloroform extract of *Maytenus obtusifolia* MART. roots. Biological & Pharmaceutical Bulletin. 2005; 28(2): p. 224-225.
5. Salazar A, Loja B, Rabanal A, Mestanza S, Heringman K, Pinedo D, Alvarado A, Castañeda Benjamin. Comparación de los usos del Chuchuhuasi (*Maytenus macrocarpa*) entre indígenas Bora-Bora de Loreto y chamanes de Lima (Perú).
6. Alguacil F, Alamo C, Iglesias V, 1996. Contribucion de los estudios preclínicos, los acontecimientos y terapéutica de la depresión. Psicothema. 8(3): 657-667.

7. Hodgkin D, Piazza M, Crisante M, Gallo C, Fiestas F. Disponibilidad de medicamentos psicotrópicos en establecimientos del Ministerio de Salud del Perú, 2011. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2014;31(4):660-8.
8. Instituto Nacional de Salud Mental. Estudio Epidemiológico de Salud Mental en Lima Metropolitana y Callao Replicación 2012. Informe General. Anales de Salud Mental Vol. XXIX. Año 2013, Suplemento 1. Lima.
9. Grunbaum J, Kann L, Kinchen S, Ross J et al. Youth risk behavior surveillance: United States, 2003, Morbidity and mortality weekly report. Surveillance Summaries 2004;53:1–96.
10. Hussin A. Adverse Effects of herbs and drug-herbal interactions. Malaysian Journal of Pharmacy. 2001; 1(2):39-44.
11. Basheeruddin Asdaq SM, Naseeruddin Inamdar M. Pharmacodynamic and pharmacokinetic interactions of propranolol with garlic (*Allium sativum*) in rats. J Evid Based Complementary Altern Med. 2010; 11(11):11.
12. Melendez S, Huaccho J, Santos F. Interacciones farmacológicas de las hojas de *Maytenus macrocarpa* o "chuchuhuasi" con fármacos inhibitorios y estimuladores de la motilidad intestinal. Acta Médica Peruana. 2013; 30(4): p. 114-119
13. Porsolt R, Pichon M, Jalfre M. 1977. Depression: a new model sensitive to the antidepressant treatment. Nature. 266: 730-2.

14. Bernoit P, Cheng F, Bourin M. 2005 Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. *Psychopharmacology*. (2005) 177: 245-255.
15. Castagné V, Moser P, Roux S, Porsolt R. Rodent Models of Depression: Forced Swim and Tail Suspension Behavioral Despair Tests in Rats and Mice. In *Current Protocols of Pharmacology*.; 2007. p. 5.8.1-5.8.11.
16. Weiner I, Schiller D, Gaisler-Salomon I. A comparison of drug effects in latent inhibition and the forced swim test differentiates between the typical antipsychotic haloperidol, the atypical antipsychotics clozapine and olanzapine, and the antidepressants imipramine and paroxetine. *Behavioural Pharmacology*. 2003; 14(3): p. 215-222.
17. Roux S, Sablé E, Porsolt R. Primary Observation (Irwin) Test in Rodents for Assessing Acute Toxicity of a Test Agent and its Effects on Behavior and Physiological Function. In *Current Protocols in Pharmacology*.; 2004. p. 10.10.1-10.10.23.
18. Raymundo T. Genotoxicity of the medicinal plant *Maytenus robusta* in mammalian cells in vivo. *Genetics and molecular research*. 2012; 11(3): p. 2847-2854.
19. Leme S, Prando T, Gasparotto F. Role of prostaglandin/cAMP pathway in the diuretic and hypotensive effects of purified fraction of *Maytenus ilicifolia* Mart ex Reissek (Celastraceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 2013; 150(1): p. 154-161.
20. Dos Santos V, Leite K, da Costa M. Antiprotozoal activity of quinonemethide triterpenes from *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae). *Molecules*. 2013; 18(1): p. 1053-1062.

21. Salazar D. Desarrollo de un medicamento analgésico tópico de *Maytenus laevis* Reissek (Chuchuguaso) [tesis doctoral]. 2013.
22. Shabbir M, Rashid M, Saeed N. Assessment of phytochemicals, antioxidant, anti-lipid peroxidation and anti-hemolytic activity of extract and various fractions of *Maytenus royleanus* leaves. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2013; 13: p. 143-156.
23. H.-H. Tsai, H.-W. Lin, A. Simon Pickard, H.-Y. Tsai, G. B. Mahady. Evaluation of documented drug interactions and contraindications associated with herbs and dietary supplements: a systematic literature review. *International Journal of Clinical Practice*. Volume 66, Issue 11, pages 1056–1078, November 2012
24. Mou-Ze Liu, Yue-Li Zhang, Mei-Zi Zeng, et al., “Pharmacogenomics and Herb-Drug Interactions: Merge of Future and Tradition,” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2015, Article ID 321091, 8 pages, 2015.
25. Alsanad S. M., Williamson E. M. and Howard R. L. (2014), Cancer Patients at Risk of Herb/Food Supplement–Drug Interactions: A Systematic Review, *Phytother. Res.*, 28, pages 1749–1755.
26. Moreale J, González T. Evaluación de las interacciones farmacológicas de las hierbas medicinales en Uruguay. *BIOMEDICINA*, 2011, 6 (2): 6 – 14. (30).
27. Chávez H et al. “Friedelane triterpenoids from *Maytenus macrocarpa*” *Journal of Natural products*. 1998; 61(1): 82-85.



28. Kloucek P, Syobodova B, Polesny Z, Langrova I. Antimicrobial activity of some medical barks used in Peruvian Amazon. *Journal of Ethno pharmacology*. 2007; 111(2): p. 427-429.
29. Salazar-Granara MFMG. Evaluación de la actividad hipotensora del *Maytenus krukovii* (chuchuhuasi) en rata consciente. *Revista Horizonte Médico*. 2008; 8(2): p. 41-47.
30. Acosta Barreto, Alarcón Ventura, et al. Efectos neurofarmacológicos de la hoja de *Maytenus macrocarpa* "chuchuhuasi" en *Mus musculus* mediante el Test de Irwin. En prensa 2013.
31. Láyonal G, Acosta ea. Efecto de *Maytenus macrocarpa* Chuchuhuasi en el sistema reproductor masculino del raton (*Mus musculus*). *Revista Peruana de Biología*. 2013; 20(3): p. 223-225.
32. Robles Pizarro, Tarqui Cabrera, Rodríguez Collazos, Morales Chau, de la Cruz Manyari, Rios Melgar, Rivera Cruzado, Rubio Gonzales, Santa Cruz Contreras, Velazco Curay, Loja Herrera, Alvarado Yarasca, Castañeda Castañeda, Salazar Granara. Efecto antinociceptivo del extracto etanólico de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. "chuchuhuasi" mediante la prueba de contorsiones abdominales en ratones. *Horizonte médico*. 2014; 14(1):6-10.
33. Melendez S, Huaccho J, Santos F. Interacciones farmacológicas de las hojas de *Maytenus macrocarpa* o "chuchuhuasi" con fármacos inhibitorios y estimuladores de la motilidad intestinal. *Acta Médica Peruana*. 2013; 30(4): p. 114-119.

34. Zavala-Flores, Ernesto et al. Dosis-respuesta sobre la motilidad intestinal y el sistema nervioso de la interacción entre *Jatropha curcas* L. y metoclopramida. *Acta méd. Peruana*. 2013, 30(3): 120-127.
35. OMS. Pautas generales para las metodologías de investigación y evaluación de la medicina tradicional. Ginebra; 2002.
36. Organization WH. General Guidelines for Methodologies on Geneva; 2000.
37. Taylor L. Raintree - Tropical Plant Database. [Online].; 1996. Available from: <http://www.rain-tree.com/chuchuhuasi.htm#.U67sP5R5OSo>.
38. Zoch C. Principios generales con el uso de psicofármacos. Universidad de Costa Rica; 2000.
39. Gerhard H. Despair Swim Test. In *Drug Discovery and Evaluation*. 2nd ed. p. 559-560.
40. Litter. *Compendio de Farmacología*. Editorial El Ateneo. 5ta Edición. Buenos Aires. 2007.
41. Santoyo C, Espinoza L, Puente R, Sánchez J, Quispe N, Medina C, et al.. Antipsychotic and behavior effect of the ethanolic extract from the bark of *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq.in mice. *Pharmacognosy Communications*. 2015;5(4):244-249.
42. Elisabetsky E, Silva Brum L, Souza D. Anticonvulsant properties of linalool on glutamate related seizure. *Phytomed*. 1995; 6(2): 113-9.
43. Silva Brum L, Emanuelli T, Souza D, et al. Effects of linalool glutamate release and uptake in mouse cortical synaptossomes. *Neurochemical Research* 2001; 26(3): 191-4.

44. Stahl SM. Depresión y trastorno bipolar: la psicofarmacología esencial de Stahl. Capítulo 3: Antidepresivos. 3.<sup>a</sup> ed. Barcelona, España: Aula Médica; 2010. p. 165-71.
45. Dos Santos V, et al. Evaluation of Antioxidant Capacity and Synergistic Associations of Quinonemethide Triterpenes and Phenolic Substances from *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae). *Molecules* 2010 October; 15(10): 6956-73.
46. Santiago López D, Rivas Arancibia S. Estrés oxidativo, metabolitos oxidados de dopamina y enfermedad de Parkinson. *Revista Facultad de Medicina UNAM*, 2008; 15(3):104-7.
47. Rengifo Salgado E. Contribución de la Etnomedicina-Plantas medicinales a la salud de la población en la Amazonía. Instituto de Investigaciones para la Amazonía peruana - IIAP; 2010.
48. Siddalinga Swamy M, Sivanna N, Tamatam, Khanum F. Effect of Poly Phenols in Enhancing the Swimming Capacity of Rats. *Functional Foods in Health and disease* 2011; 1(11): 482-91.
49. Zhu W, Shi H, Wei Y, Wang S, Sun C, Ding Z, et al. Green tea polyphenols produce antidepressant-like effects in adult mice. *Pharmacological Research* 2012; 65(1): 74-80.
50. Salazar-Granara AA, Arizanca-Callata CE, Cerón-Urbe EI, Custodio-Aguilar JR, Hernández-Luján AL, Munayco-Castro L, et al. Efecto antinociceptivo y sobre la neuroconducta de la amitriptilina en dosis escalonada en roedores. *Acta Med Per.* 2015;32(2):99-106.

51. Burgos-Moron E, Perez-Guerrero C, Lopez-Lazaro M, Calderon-Montano J. A Review on the Dietary Flavonoid Kaempferol. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2011 April; 11(4): 298-344.
52. Haas J, Stolz E, Betti A, Stein A, et al. The Anti-Immobility Effect of Hyperoside on the Forced Swimming Test in Rats is Mediated by the D2-Like Receptors Activation. *Planta Med.* 2011 March; 77(4): 334-9.
53. Heerlein A. Tratamientos farmacológicos antidepresivos. *Ver Chile Neuro-Psiquiatr.* 2002;40(Suppl 1):21-45.
54. Uscamaita AA, et al. "Acción del extracto etanólico de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz. Pav.) Briq. "chuchuhuasi" sobre la motilidad intestinal." *Horizonte Médico.* 2013; 13(2).
55. Sánchez-López A, Centurión D, Lozano-Cuenca J, Muñoz-Islas E, Cobos-Puc LE, Villalón CM. Receptores de la serotonina que inhiben el tono simpático vasopresor en la rata descerebrada y desmedulada. *Arch Cardiol Mex.* 2009;79(Supl 2):83-94.

## 9. ANEXOS

### Anexo 01- Instrumento de recolección de datos

Observación Primaria: Prueba de Irwin en Ratón // Prueba de Nado Forzado en Raton										
Raton:										
Parameters	Parámetros	15 min		30min		45 min		60 min		Tiempo de inmovilidad
		Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	
Lethality (presence or absence), noting the exact time	Letalidad									
Convulsions (presence or absence), noting the exact time	Convulsiones									
Straub tail (presence or absence)	Cola de Straub									
Sedation (presence or absence), without indication of intensity at this stage	Sedación									
Excitation (presence or absence), without indication of intensity at this stage	Excitación									
Abnormal gait (rolling or tip-toe) (presence or absence)	Marcha anormal (movil o de puntillas)									
Jumps (presence or absence)	Salta									
Motor incoordination (presence or absence)	Incoordinación motora									
Abdominal writhes (presence or absence)	Retorcijones abdominales									
Piloerection (presence or absence)	Piloerección									
Stereotypies (sniffing, chewing or head movements) (presence or absence)	Estereotipias (oler, misticar o movimientos de la cabeza)									
Head twitches (presence or absence)	Sacudidas de la Cabeza									
Scratching (presence or absence)	Rascarse									
Respiration (increase or decrease).	Respiración (aumento o disminución)									
	<b>Observaciones</b>									