

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Facultad de Ciencias

Escuela de Biología

ESTUDIO PRELIMINAR DE LAS ACCIONES CARDIOVASCULARES
DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LAS HOJAS DE CASIMIROA
EDULIS (LLAVE ET LEX) EN RATAS ALBINAS

Tesis para optar el grado de
Licenciatura en Biología

Mildred García González

1984

ESTUDIO PRELIMINAR DE LAS ACCIONES CARDIOVASCULARES
DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LAS HOJAS DE CASIMIROA
EDULIS (LLAVE ET LEX) EN RATAS ALBINAS

Mildred García González

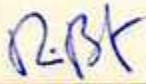
Tesis presentada en la Escuela de Biología
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Aprobada



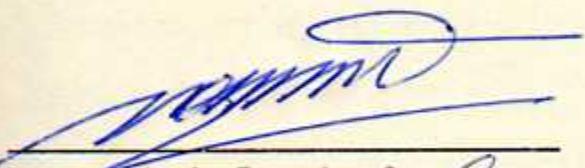
Dr. Orlando Morales M.

Director de Tesis



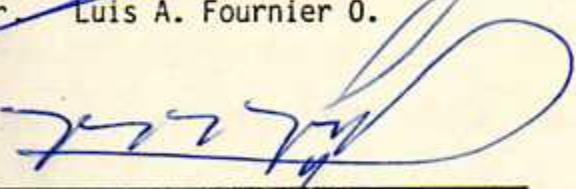
Dr. Ramiro Barrantes

Miembro del Tribunal



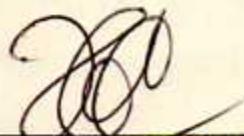
Dr. Luis A. Fournier O.

Miembro del Tribunal



Dr. José M. Jiménez S.

Miembro del Tribunal



Dr. José Guillermo Calzada A.

Miembro del Tribunal

DEDICATORIA

Quiero expresar mi agradecimiento al Dr. Orlando Morales y al Dr. Luis A. Fournier por haberme permitido realizar esta investigación en el transcurso de la misma.

Al Dr. José Miguel Jiménez y al Dr. Luis A. Fournier por haber formado parte de el tribunal examinador y por su acertada resolución de admitirme para convertirme en una presentadora científica.

A los profesores y personal administrativo de la Facultad de Psicología por la formación académica e intelectual que ellos me brindaron.

Al personal del Departamento de Fisiología por haber prestado en la elaboración del trabajo por su colaboración, en especial al Dr. José Rafael Briceo P., Director de dicho Departamento, por haber puesto a mi disposición el equipo y el laboratorio de Fisiología y al Dr. Manuel Méndez, quien a lo largo de esta investigación me ayudó a tener adelante. A la Dra. Patricia Elena Zamora quien de forma desinteresada me prestó su colaboración en este trabajo.

A la señorita Yelira Viquez, que gracias a la dedicación que puso en el cuidado de mis hijas, se pudo hacer el trabajo para la realización del presente estudio.

Porque también al reconocimiento a la señorita María Lorena por el trabajo mecanográfico, y al Prof. Luis Fournier que me brindó su apoyo y valores sobre el tema.

Milagro García González

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento al Dr. Orlando Morales M., quien además de darme la idea para realizar esta investigación, me guió en el transcurso de la misma.

Al Dr. José Miguel Jiménez y al Dr. Luis A. Fournier por aceptar formar parte de mi tribunal examinador y por su acertada revisión del manuscrito para convertirlo en una presentación científica.

A los profesores y personal administrativo de la Escuela de Biología por la formación académica e intelectual que ahora poseo.

Al personal del Departamento de Fisiología por la ayuda que me prestaron en la elaboración del trabajo práctico de la presente investigación, en especial al Dr. José Rafael Brenes B., Director de dicho Departamento, por haber puesto a mi disposición el equipo y el laboratorio de Fisiología y al Dr. Gabriel Sáenz, quien a lo largo de esta investigación me alentó a seguir adelante. A la Dra. María Elena Zamora quien de forma desinteresada me enseñó la técnica empleada en este trabajo.

A la señorita Yadira Víquez, que gracias a la dedicación que puso en el cuidado de mis hijas, me proporcionó el tiempo necesario para la realización del presente estudio.

Merecen también mi reconocimiento la señorita Merle García por el trabajo mecanográfico, y el Prof. Luis Poveda que me brindó informes muy valiosos sobre el tema.

Mildred García González

INDICE GENERAL

	Página
INTRODUCCION.....	1
1. REVISION DE LITERATURA	4
2. MATERIALES Y METODOS	15
2.1 Preparación de los animales	15
2.2 Técnica de registro	16
2.3 Preparación de los extractos	16
2.4 Pruebas de acetilcolina	17
2.5 Prueba de inferencia estadística	18
3. RESULTADOS	20
3.1 Presión arterial	20
3.2 Frecuencia cardíaca	22
3.3 Electrocardiograma	22
3.4 Pruebas de acetilcolina	23
4. DISCUSION	41
5. RESUMEN Y CONCLUSIONES	55
6. BIBLIOGRAFIA	57

INDICE DE CUADROS

Cuadro Nº		Página Nº
1	Presión arterial media de ratas albinas, obtenida por la administración del extracto acuoso de hojas de <u>Casimiroa edulis</u> (130 mOsm/l)	24
2	Frecuencia cardíaca de ratas albinas tratadas con extractos acuosos de las hojas de <u>C. edulis</u> (130 mOsm/l)	26
3	Presión arterial media de ratas albinas tratadas con un extracto acuoso de las hojas de <u>C. edulis</u> (220 mOsm/l)	29
4	Frecuencia cardíaca de ratas albinas tratadas con extractos acuosos de las hojas de <u>C. edulis</u> (220 mOsm/l)	31
5.	Presión arterial media de ratas albinas, tratadas con diferentes dosis de acetilcolina.	37

INDICE DE FIGURAS

Figura Nº		Página Nº
1.	Montaje general para el registro de presión, del extracto del electrocardiograma e infusión.	19
2.	Hipertensión producida por la administración del extracto acuoso de las hojas de <u>C. edulis</u> (130 mOsm/l)	25
3.	Taquicardia producida en ratas albinas tratadas con extractos acuosos de hojas de <u>C. edulis</u> (130 mOsm/l)	27
4.	Respuesta típica de la presión arterial y el electrocardiograma de una rata albina tratada endovenosamente con un extracto acuoso de las hojas de <u>C. edulis</u> (130 mOsm/l)	28
5.	Hipertensión producida en ratas albinas, por la administración del extracto acuoso de las hojas de <u>C. edulis</u> (220 mOsm/l)	30
6.	Bradycardia producida por la administración en ratas albinas de un extracto acuoso de las hojas de <u>C. edulis</u> (220 mOsm/l)	32
7.	Respuesta típica de la presión arterial y del electrocardiograma de una rata albina, tratada endovenosamente con un extracto acuoso de las hojas de <u>C. edulis</u> (220 mOsm/l)	33

8. Electrocardiograma normal y variaciones electrocardiográficas de la onda P, registradas en ratas albinas, tratadas con extractos acuosos de las hojas de C. edulis (220mOsm/l) 34
9. Variaciones del complejo QRS producidas por la administración del extracto acuoso de las hojas de C. edulis de 220 mOsm/l. 35
10. Anomalías electrocardiográficas de ratas albinas tratadas con un extracto acuoso de hojas de C. edulis de 220 mOsm/l/ 36
11. Curva dosis-respuesta de acetilcolina sobre la presión arterial media. 38
12. Respuesta típica de la presión arterial y del electrocardiograma de una rata albina tratada con dosis de 0,5 1 y 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de acetilcolina. 39
13. Respuesta típica de la presión arterial y electrocardiograma de una rata albina tratada con dosis de 4, 6 y 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de acetilcolina 40

RESUMEN

Se realizó un estudio sobre el posible efecto hipotensor del extracto acuoso de las hojas frescas de Casimiroa edulis (matasano o zapote blanco), en ratas albinas. Estas fueron anestesiadas con nembutal sódico al 0,75%, administrando en una dosis de 40 mg/kg de peso corporal, por vía intraperitoneal.

Luego se canularon la vena yugular externa y la arteria femoral; la primera con la finalidad de introducir el extracto preparado por vía endovenosa, y la segunda para obtener el registro de la presión arterial. En ambos casos se utilizaron catéteres de polietileno PE-50. Enseguida se colocaron electrodos de aguja en las 4 extremidades para obtener en la derivación electrocardiográfica D_{II} , un registro de la actividad eléctrica del corazón. De esta forma se pueden estudiar las variaciones en la frecuencia cardíaca y obtener información indirecta sobre un posible efecto central o periférico de los extractos.

Las vías canuladas se conectaron a un polígrafo fisiológico (Hewelett Packard, modelo N° 8805), en donde se logró obtener el registro correspondiente de la presión arterial y el electrocardiográfico.

Se prepararon dos extractos diferentes en cuanto a su concentración, correspondientes a 130 mOsm/l (baja concentración) y 220 mOsm/l (alta concentración).

También se realizaron pruebas con acetilcolina, con el propósito de tener un control de la metodología empleada, y de verificar que un hipotensor, produce un registro de caída de la presión arterial.

Se utilizó como prueba de inferencia estadística la "t de Student" (modalidad pareada), para comparar las diferencias entre los promedios de las mediciones de control y con las observaciones experimentales.

Al ser administrados los extractos acuosos de dicha planta, se observa un aumento abrupto de la presión arterial media, en el minuto que dura la inyección endovenosa de los 0,5 ml del extracto, siendo este fenómeno lo que caracteriza a esta investigación.

El efecto del extracto de 130 mOsm/l, consistió en la hipertensión transitoria mencionada, y luego seguida por una normalización de la presión media. Aunque la hipertensión registrada fue apreciable, no mostró diferencia significativa respecto al control.

Los valores de la frecuencia cardíaca en este caso, mostraron una ligera taquicardia que no mostró diferencias significativas. Además no fueron registradas anomalías electrocardiográficas.

Con el extracto de 220 mOsm/l, se observó una hipertensión muy manifiesta ($P < 0,01$), seguida de una hipotensión, ambos fenómenos estadísticamente significativos, en tres puntos del registro, a saber: 7, 10 y 15 minutos después de iniciada la administración del extracto.

La frecuencia cardíaca mostró una bradicardia notoria de corta

duración (P 0,01) a los 30 segundos después de ser administrado el extracto produjo a su vez, variaciones electrocardiográficas, tales como el comportamiento bifásico e invertido de la onda P, desaparición y forma de "eme" de la misma, complejos QRS en forma de "sierra", intervalos QRS irregulares, aumento de amplitud del complejo QRS, onda T aplanada y fibrilación atrial. De todas estas variaciones, se hizo la interpretación electrocardiográfica correspondiente.

INTRODUCCION

La elevada incidencia de la hipertensión arterial y las graves consecuencias del padecimiento, explican el prolongado interés que los investigadores han dedicado al estudio de este trastorno (71). Se habla de hipertensión arterial, cuando en estado de reposo, los valores de presión máxima o sistólica sobrepasan los 150 mmHg y los de presión mínima o diastólica sean mayores de 90 mmHg, en un adulto joven (60, 25).

La hipertensión arterial esencial está especialmente difundida en los países en que existe un alto nivel de vida y es mucho más escasa en aquellos que se encuentran en vías de desarrollo, por lo que se ha afirmado que es la "enfermedad de la civilización moderna" (61, 73). Curiosamente, en nuestro país, a pesar de estar en una etapa intermedia del desarrollo, la mayoría de las causas de muerte son por trastornos cardiovasculares y cáncer (54).

Es notorio que el tema de hipertensión no sea uno de los más sobresalientes en la bibliografía referente a plantas medicinales o a la medicina popular, y en muchas obras consultadas ni siquiera es mencionada. Esto podría ser la confirmación de que esta es una dolencia actual o consecuencia de la vida moderna o quizás no se le reconociera como

enfermedad, dado que su sintomatología no se presenta en los inicios del padecimiento, sino que con el tiempo lo que comienza a manifestarse con dolores de cabeza, mareos, insomnio, etc; síntomas fácilmente confundibles o asociados a otras enfermedades.

La literatura que menciona la hipertensión es actual, pero sin embargo, se debe asumir que la información sobre como tratarse dicha dolencia con plantas, debió surgir posiblemente de la tradición popular.

Dentro de las plantas que se utilizan para tratar la hipertensión son referidas en nuestro país las siguientes: Allium sativum (ajo), (3, 6, 10, 13, 61, 63, 77), Veratrum viridis y Veratrum album (veratrum) (1), Viscum album (muérdago) (1), Viscum album (muérdago) (1), Rauwolfia serpentina, R. heterophylla (1), R. hirsuta, R. sarapiquensis (ravolfia) (61) Hiptis suaveolens (chan) (61, 77), Linum usitatissimum (linaza) (77), Artocarpus commenius (fruta de pan) (76), Sechium edulis (chayote) (10, 61), Magnolia grandiflora (magnolia) (76), Sambucus mexicana, S. oreopola (sarico) (61), Hymenocallis coronata (guapinol) (61), Cymbopogon citratus (zacate de limón) (61) Persea americana (aguacate) (61), Lantana camara (cinco negritos) (61), Pithecolobium saman (cenízaro) (28) Zebrina pendula (manto del señor) (*)

* Comunicación personal Dr. Morales M, Orlando. Depto Fisiología. Universidad de Costa Rica.

Casimiroa edulis (matasano) (**), Clusia coclencis (***),
Pernetia coriacea (arrayán) (36).

De las plantas nombradas se ha escogido trabajar con Casimiroa edulis, la cual por comunicación personal del Sr. Luis Poveda del Herbario del Museo Nacional de Costa Rica, ha recogido la información popular de que tiene efecto hipotensor y que se ha recomendado a personas con problemas de hipertensión, quienes a su vez le ha comunicado buenos resultados.

De los trabajos hasta la fecha publicados de todas las partes de Casimiroa edulis, no se ha encontrado ninguno específico de sus hojas, si bien es cierto que algunos autores les atribuyen las mismas propiedades de las semillas afirman la existencia de un uso discriminado entre ambas (43).

Es presente trabajo, tien como objetivo principal el realizar un estudio preliminar de ensayos farmacológicos y fisiológicos de las hojas de C. edulis sobre la presión arterial en ratas albinas normotensas que han sido tratadas con un extracto acuoso administrado por vía endovenosa.

** Comunicación personal Prof. Poveda, Luis. Herbario, Museo Nacional de Costa Rica.

*** Comunicación personal Dr. Hasbun, Carlos. Dpto Química, Universidad Nacional Autónoma de Costa Rica.

1. REVISION DE LITERATURA

En América los indios han empleado las plantas medicinales, siendo el encargado de su preparación y administración el brujo, hechizero o chamán. En la medicina de la América precolombina, también estuvo presente la Teoría de la Signatura o Principio de la Semejanza (87), por lo tanto no debe esperarse encontrar principios activos en toda planta utilizada terapéuticamente por los indios de América (59).

Se utilizaron muchas plantas como las de los géneros Datura, con los mismos principios activos que sus congéneres europeos del género Atropa, como analgésico; entre otras plantas, se utilizaban varios del género Salix, en los que posteriormente se halló el ácido salicílico y el salicilato de sodio, base de la aspirina (59).

La farmacología del Nuevo Mundo ha sido un tema de interés permanente desde una perspectiva cultural, científica histórica y económica. La materia médica precolombina es interesante, por cuanto una gran parte de la población hispano-americana permanecerá fiel a la terapéutica indígena, siendo reforzadas por los hallazgos de drogas activas en la medicina y porque sólo en tierras americanas era posible obtener ciertas materias primas farmacéuticas

de consumo mundial.

Las fuentes literarias que se refieren a la medicina precolombina, al lado de la tradición oral, han alcanzado un elevado nivel, difícilmente comparado con otro tema de estudio. En Costa Rica, los aborígenes han desarrollado ampliamente el uso de plantas curativas, conocimientos que algunos conquistadores adquirieron y luego fueron olvidados. Sin embargo, algunos grupos de estos indios conservaron el conocimiento y la utilización de elementos del medio, que proviene de las experiencias del pasado y de la cultura de sus mayores. Así por ejemplo, los Boruca aún mastican una planta de la familia de los Piperáceas para suprimir el dolor y mitigar el hambre; además hacen uso de la fruta del Cedrón plauche, en forma de tisana para disminuir la fiebre, y utilizan algunos helechos para disminuir la presión arterial (86). Algunas creencias populares están basadas en las plantas medicinales utilizadas por los Bri-Bris. Tal es el caso del color de la savia, el cual es tomado como un indicador del uso medicinal de la planta la Machaerium floribundum tiene una savia color rojo sangre, por lo que es utilizada contra los calambres producidos por la menstruación, la palidez y la hemorragia nasal; la Pedilanthus tithymaloides que posee una savia blanca lechosa, es utilizada para que la puerca dé más leche (11). Esto viene a ser una aplicación de las

teoría de las firmas mencionada anteriormente.

Henri Pittier dio un gran aporte en nuestro país con este tema, recopilando información sobre las plantas usuales y proponiendo la investigación y uso de las mismas (65).

Este conocimiento sobre la utilización de las plantas medicinales ha trascendido nuestras fronteras y se realizan algunos cultivos de las más comunes en el país para ser exportadas al extranjero con fines comerciales (15).

Aunque a no todas las plantas se le han hallado hasta el momento, propiedades curativas con beneficio económico, a muchas se le han logrado obtener principios activos muy diferentes, por lo que se debe tomar presente que muchas de las plantas medicinales poseen realmente propiedades susceptibles de aplicación terapéutica (88, 59). En no pocos casos se ha demostrado que las propiedades que los antiguos atribuían a las plantas eran bien orientadas; otras no (5), por ejemplo: la Rauwolfia sp., con 4000 años de uso en la India, en los últimos 40 años ha revolucionado literalmente, la medicina occidental como agente tranquilizante e hipotensor, siendo su principal alcaloide la reserpina (87).

Considerando que sobre muchas plantas ha recaído una

experiencia curativa secular, que de esa experiencia del pueblo nació la farmacología, se ha conseguido por los medios actuales de análisis, determinar los principios curativos de las plantas (88), tales como: la morfina, del Papaver somniferum; la digitalina, de la Digitalis purpurea; la atropina, de la Atropa belladonna; la quinina, de la Cinchona sp; el curare de la Chondodendron tomentosum; la reserpina, de la Rauwolfia serpentina y otros más (5, 6), que son productos vegetales que se han incorporado a las farmacopeas.

A la par que se van realizando los ensayos biológicos y químicos que llevan a la confirmación de un efecto determinado, al aislamiento del principio activo y luego los experimentos terapéuticos correspondientes, muchas plantas irán desapareciendo de la medicina folclórica; existiendo la probabilidad de que se encuentren efectos curativos en algunas plantas, aún no estudiadas. Además, si todas las plantas tuvieran que considerarse inadecuadas para ser incorporadas a las farmacopeas oficiales, no por eso van a dejar de ser utilizadas en la medicina popular (65). Sin embargo, es necesario y meritorio definir de una vez por todas el efecto real o putativo de esas plantas.

La fitoquímica ha logrado extraer los principios activos (alcaloides y glucósidos principalmente) de las

plantas medicinales; sin embargo, muchas plantas son venenosas y peligrosas, por cuya causa sólo han sido usadas en dosis pequeñas. La diferencia entre una planta medicinal o venenosa no está aún bien establecida, en muchos casos; la dosis y la forma de aplicación decide si son las plantas tóxicas o curativas.

Si bien es cierto que la medicina vegetal por sí sola en muchas ocasiones no puede suprimir las causas de las enfermedades, también es cierto que no perjudica, ya que aplicadas debidamente no suelen ser tóxicas como lo son algunas drogas y además posee la ventaja de ser de fácil aplicación y evidente economía. Cada planta posee numerosas sustancias de propiedades diversas y específicas, razón por la cual se explica por qué con una planta se puede en ocasiones combatir enfermedades diversas (88).

Actualmente no se descarta la posibilidad de que especies afines en su clasificación tengan similares propiedades curativas (3).

Son varios los componentes que se han encontrado, aislado y utilizado de algunas especies de la familia Rutaceae (1, 3, 67, 58, 76, 64, 74), a la cual pertenece la especie Casimiroa edulis. Esta familia posee alrededor de 140 géneros, y 1.300 especies, está ampliamente

distribuida en las regiones tropicales y templadas. Se divide en 5 sub-familias, de las cuales *Todalioideae* caracterizada por su fruto como drupa, sin abas o sámara, acoge al género Casimiroa (55, 67, 70, 82 92) el cual hasta 1944 ha estado representado por siete especies: C. edulis (1824, Llave et Lex); C. sapota (1858, Oerst); C. pubescens (1896, Ram); C. pringlei (1896, Wats, Engler); C. Watsoni (1896, Engler); C. tetrameria (1898, Millsp); y C. emarginata (1944, Standl et Steyerms), basándose en los criterios taxonómicos de la variedad de sus frutos, hojas y semillas. Las especies sapota y tetrameria han sido motivo de gran confusión con la C. edulis, en especial la sapota, ya que su fruto es igualmente comestible y es popularmente conocido con el nombre de "matasano", nombre con el cual se designan los trabajos de C. edulis (12, 43, 61, 65). El fruto de C. edulis si bien es cierto que posee un sabor agradable, también ha adquirido la fama de ser soporífero, acción atribuida específicamente a sus semillas, propiedad además utilizable en la medicina popular. Existe también la creencia popular de que es dañino si se come demasiado y de ahí su nombre "matasano" (12, 32, 61, 85). También se dice que si la persona que come su fruto ha ingerido recientemente licor, se muere. Podría ser que su fruto contenga algún principio semejante al Disultiran conocido en el comercio como Antabuse, o algo similar que contenga el ancol (56).

Con el mismo nombre de "matasano" se conoce también en nuestro país una Sapotaceae, Lucuma lucentifolia Standl; uno de los nísperos silvestres de fruta grande, redonda y comestible. También se encuentra bajo el mismo género y especie de Linn, una Rosaceae de clima caliente, con madera y fruta rosada, que además produce chicle (72).

El conocimiento sobre las propiedades medicinales del zapote blanco matasano o Casimiroa edulis se origina en la tradición de la medicina náhuatl en el siglo XVI. De 1592 a 1947 se recogió información sobre su origen medicinal conocida como "Cochitzapotl" (cochi= sueño, tzapotl= fruta dulce), por los médicos aztecas (35).

Durante el siglo XVIII entre 1712 y 1780 se reporta nuevamente el uso de las semillas de zapote blanco como narcótico y soporífero (43). En 1893 se realiza el primer trabajo científico sobre el estudio químico de las semillas del Cochitzapotl; estableciéndose la presencia de alcaloides. En 1897 el Instituto Médico Nacional de México informa acerca de seis acciones fisiológicas atribuidas al extracto hidroalcohólico de las semillas: 1. Baja la temperatura corporal media hora después de su aplicación; 2. Aumenta las secreciones gastrointestinales y la micción; 3. Produce fuertes vómitos, evacuaciones y relajación de esfínteres; 4. Da disnea; 5. Disminuye la contracción

cardíaca, produce vasodilatación periférica y caída de la presión arterial; 6. Tienen poder sobre el sistema nervioso. Es en este estudio donde por primera vez se informa acerca de su acción hipotensora (43).

En 1934 De Lille, y en 1936 Méndez, aportan evidencias sobre efecto hipotensor en perros, efecto analgésico, depresión del sistema nervioso; paro respiratorio y muerte por sobredosis, al ser administrados dichos extractos por vía endovenosa (35, 45). En ese mismo año, Juan Roca del Instituto de Biología de México, administrando el extracto crudo de semillas a perros por vía endovenosa en dosis de 0,2 g/kg de peso corporal, obtuvo una considerable caída de la presión arterial, la cual se mantiene a lo largo de todo el período de observación (43).

Ramírez, E y Rivero, M. en 1938 corroboran nuevamente el efecto hipotensor del extracto de C. edulis y encuentran que el mismo es resistente a la atropina (43).

En la época comprendida entre las décadas 50-60 de esta centuria, una amplia investigación química al respecto, carentes sin embargo de ensayos farmacológicos (20, 49, 50, 57, 62, 80, 81).

Maximino Martínez en 1951, informa sobre la presencia

de un glucósido con propiedades soporíferas, y que el cocimiento de las hojas es empleado con fines somníferos y para abatir la presión arterial (43). En 1956 Arbelaez-Pérez reporta la existencia en C. edulis de alcaloides (3) y Kinel, Romo y otros (40) establecen los componentes del extracto alcohólico de las semillas, obteniendo una lista de quince sustancias: zapotina, zapotinina, zapoterina, edulina, casimiroedina y otras más.

En 1958, Major y Dürsch, sugieren la presencia en las semillas de un compuesto tipo histamínico, la "N, N-dimetilhistamina", al cual consideran como el principio hipotensor de la C. edulis (44, 47).

En 1964 Sáenz Renaud reporta que ni las hojas ni el tallo de C. edulis presentan alcaloides (75).

Lozoya y colaboradores, en 1977 corroboran la acción hipotensora de los extractos de semillas, la cual se produce en animales íntegros, tanto si el extracto es administrado en forma oral o endovenosa (44). Todavía más recientemente, en 1979, Bustamante, S.F, demuestra que ni los extractos acuosos ni los hidroalcohólicos de las semillas de C. edulis, que poseen efecto hipotensor producen alteraciones morfológicas (43).

Se ha visto, como a través de los años, el género Casimiroa ha ido despertando el interés de biólogos, fitoquímicos, fisiólogos, siguiendo la clave de la gente del pueblo; basándose en los beneficios comprobados, que dicho género ofrece.

Es notorio, a través de su historia, que la investigación de este género ha traído consigo un amplio aporte fitoquímico, fisiológico y terapéutico, abundante en contradicciones.

Lo relacionado a sus propiedades farmacológicas de todas las sustancias corroboradas de Casimiroa, la literatura científica es sumamente escasa (43).

¿Cómo llega el dato del efecto hipotensor del zapote blanco al dominio popular? Es una pregunta que seguramente no tiene respuesta acertada.

Se sabe que la ciencia médica necesita gastar drogas que en muchas ocasiones bien pueden ser producidas en nuestro país, como lo mencionó en 1944 el Lic. Mata Quirós (48) sugiriendo la investigación terapéutica de las drogas o remedios que usa el pueblo.

Además, ya en nuestro país se han realizado algunos

estudios fitoquímicos obteniendo los principios activos de las plantas (17, 18, 66).

En 1964, Sáenz Renauld (73) publicó un estudio fitoquímico de plantas costarricenses y en tres estudios fitoquímicos llevados a cabo, analizó un total de 169 especies vegetales, de las cuales un 27,2% presentaron algún tipo de alcaloide (73, 74, 75).

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 Preparación de los animales

Se utilizaron ratas albinas adultas de ambos sexos, tomadas al azar del Bioterio de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Costa Rica, con un peso que osciló entre 300 y 450 gramos.

Las ratas fueron anestesiadas con una solución de nembutal sódico al 0,75%, administrada en una dosis única de 40 mg/kg de peso animal, por vía intraperitoneal. Luego se colocaron en una posición de decúbito sobre una tabla de disección, para proceder a la canulación de la vena yugular externa y la arteria femoral, la primera con la finalidad de introducir el extracto por vía endovenosa y la segunda, para obtener el registro de la presión arterial. En ambos casos se utilizaron catéteres de polietileno, PE-50 (Clay Adams). Luego se colocaron electrodos de aguja en las 4 extremidades para obtener en la derivación electrocardiográfica D_{II} , un registro de la actividad eléctrica del corazón. De esta forma se pueden estudiar las variaciones en la frecuencia cardíaca y obtener información indirecta sobre un posible efecto central o periférico.

2.2. Técnica de registro

Las vías canuladas se conectaron a un polígrafo fisiológico (Hewlett Packard, modelo N° 8805 C), en donde se logró obtener el registro correspondiente de la presión arterial y el electrocardiográfico. El montaje general se aprecia en la Fig. 1.

En primera instancia se realizó un registro control de ambas variables, luego se procedió a la introducción por vía endovenosa del extracto. Dicha infusión se administró mediante una bomba (Gilford Instruments, Modelo 339). Las mediciones de control se realizaron durante 10 minutos y luego se procedió a la administración del extracto y se continuó registrando los efectos sobre la presión arterial y la actividad eléctrica del corazón, por espacio de veinte minutos. Pasado ese tiempo de registro del efecto, se procedió a sacrificar al animal.

2.3 Preparación de los extractos

Las muestras de Casimiroa edulis fueron recolectadas del jardín del Museo Nacional de Costa Rica, durante los meses de agosto y setiembre de 1983.

La preparación de los extractos se realizó en el

laboratorio de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Costa Rica. Se prepararon dos extractos de diferente concentración, correspondientes a 130 mOsm/l (baja concentración) y 220 mOsm/l (alta concentración), como a continuación se detalla.

Para obtener el extracto de baja concentración (130 mOsm/l) se tomaron 100 gramos de hojuelas frescas de la planta, se maceraron y se les agregó 700 ml de agua destilada, se pusieron a cocer y se les dejó en ebullición por espacio de 45 minutos; luego se procedió a filtrar el sobrenadante, al cual se le midió la osmolaridad.

Para preparar el extracto de alta concentración (220 mOsm/l), se tomó la misma cantidad de hojuelas frescas, agregándole al macerado 400 ml de agua destilada, dejándose en ebullición por el mismo tiempo, se filtró el sobrenadante y se le midió la osmolaridad.

2.4 Pruebas de acetilcolina

Esta prueba fue realizada con el propósito de tener un control de la técnica empleada, y de verificar que un hipotensor como la acetilcolina produce un registro de caída de la presión arterial.

Se pesaron 10 mg de acetilcolina y se llevó a un volumen final de 500 ml, con agua destilada. De esta forma se obtiene una solución madre de 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$, a partir de la cual se llevaron a cabo las diversas diluciones con solución salina, para obtener las concentraciones de 0,5; 1; 2; 4; 6 y 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso del animal.

2.5 Prueba estadística

Se utilizó como prueba de inferencia estadística la "t" de Student (modalidad pareada) (21) para comparar las diferencias entre los promedios de las observaciones de control (testigos) con las experimentales. Se escogió dicha prueba por considerarse la más apropiada, ya que no sólo se trabaja con muestras pequeñas, sino que es más sensible que la "t" usual.

Fig. 1. Montaje general para el registro de presión, medición de electrocardiograma e infusión del extracto.

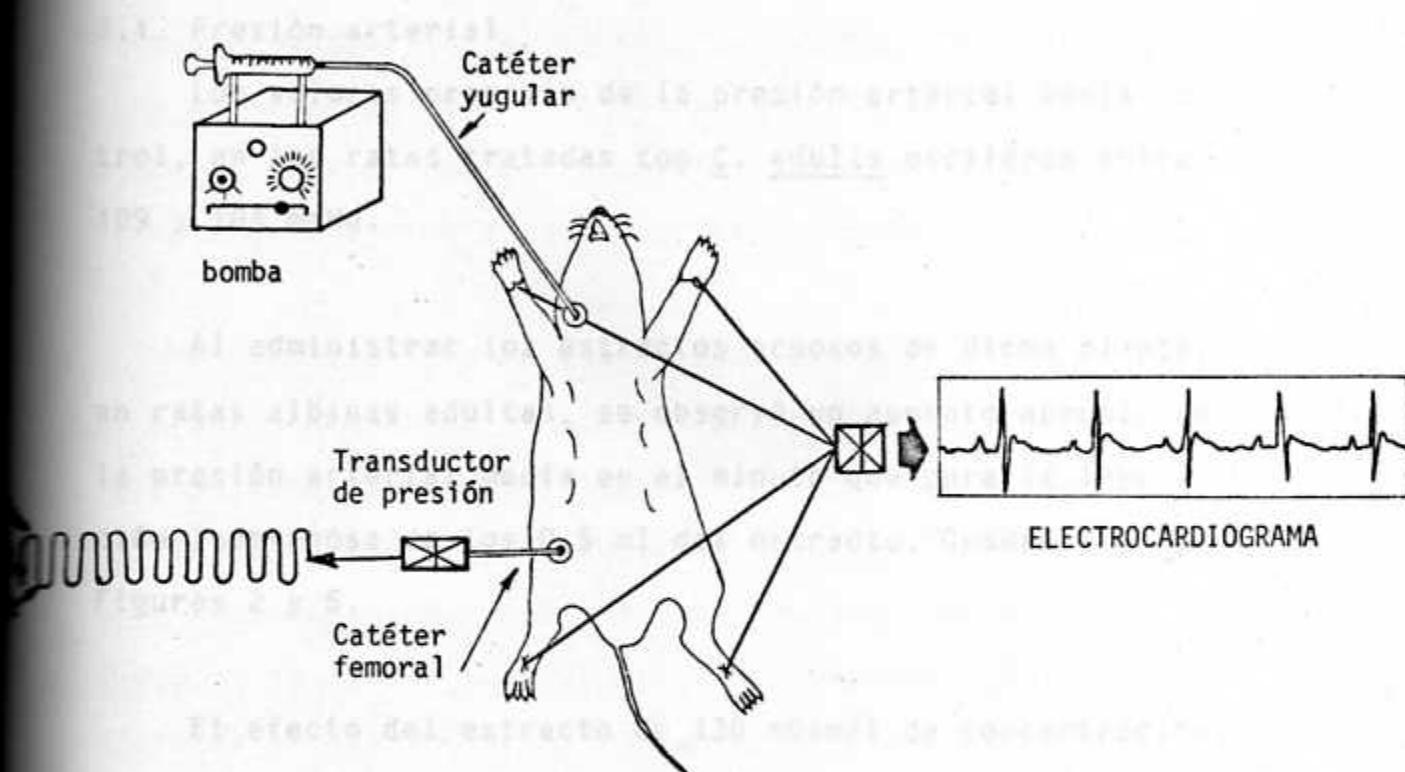


Fig.1. Montaje general para el registro de presión, medición de electrocardiograma e infusión del extracto.

Tomado de: Ramírez, F y Quiróz R. 1981
(Modificado)
Cita 68

3. RESULTADOS

El análisis de los registros dio abundante información, la cual se ha desglosado en, A) presión arterial; B) frecuencia cardíaca y C) pruebas de acetilcolina.

3.1 Presión arterial

Los valores promedio de la presión arterial media control, en las ratas tratadas con C. edulis oscilaron entre 109 y 104 mmHg.

Al administrar los extractos acuosos de dicha planta, en ratas albinas adultas, se observó un aumento abrupto de la presión arterial media en el minuto que dura la inyección indovenosa de los 0,5 ml del extracto, Cuadro 1 y 3, Figuras 2 y 5.

El efecto del extracto de 130 mOsm/l de concentración, sobre la presión arterial media consistió en una subida abrupta pero temporal de la presión, seguido por una normalización de la misma. La evolución temporal de los cambios fue la siguiente: el promedio de las observaciones control (testigos) fue de 106 mmHg; a los 30 segundos de iniciada la administración del extracto, el valor de la presión arterial media ascendió a 122 mmHg; medio minuto más tarde se registró una presión de 110 mmHg y un minuto

después disminuyó a 102,5 mmHg; para continuar durante los restantes veinte minutos de registro, en valores que oscilaban de 110 a 104 mmHg.

El pico de presión obtenido el medio minuto después de la administración del extracto acuoso de baja concentración (130 mOsm/l) de C. edulis, fué apreciable (Figs. 2 y 4), pero sin embargo no mostró una diferencia significativa respecto al control, ni se detectaron éstas en los diferentes tiempos de medición a lo largo del registro.

Con el extracto de alta concentración (220 mOsm/l), el brusco aumento de la presión arterial al principio de la inyección endovenosa, alcanzó un valor más alto, pero por lo demás mostró una evolución temporal similar al de baja concentración. Fue interesante, sin embargo, que luego de la administración del extracto, los valores promedio de la presión arterial media, permanecieron más bajos respecto al control (testigo).

Este extracto de 220 mOsm/l de concentración hizo subir la presión arterial media desde un valor promedio control de 108 mmHg, hasta un valor de 134,5 mmHg después de 30 segundos de ser administrado el extracto; medio minuto después, la presión alcanzó un valor máximo de 153 mmHg, siendo este un valor significativo respecto al control

($P < 0,01$), y a los dos minutos la presión ya había descendido a 115 mmHg, para continuar con valores que oscilaron entre 95 y 98 mmHg, (Cuadro 3 y Figs. 5 y 7).

3.2 Frecuencia cardíaca

El valor de frecuencia cardíaca control (testigo) al ser administrado el extracto de 130 mOsm/l, fue de 370 latidos por minuto. Al inicio de la inyección el valor promedio fue de 381 latidos por minuto, obteniéndose valores de 368 y 351 latidos por minuto a los 10 y 20 minutos de registro, respectivamente. La ligera taquicardia no fue significativamente diferente de los controles (Cuadro 2, Fig.3).

En el grupo de ratas que se administró el extracto de 220 mOsm/l se registró un control (testigo) promedio de frecuencia cardíaca de 364 latidos/min. En el momento de iniciarse la administración, la frecuencia cardíaca fue de 362 latidos/min. y al final de la misma, descendió a 291 latidos/min. ambos valores correspondientes a los promedios. A los 3 minutos post-administración del extracto, la frecuencia cardíaca ascendió a 245 latidos/min, y a los 20 minutos el valor fue de 347 latidos/min (Cuadro4, Fig.6).

3.3 Electrocardiograma

El registro electrocardiográfico de las ratas tratadas con el extracto de 130 mOsm/l no mostró ninguna

variación apreciable, salvo la leve taquicardia ya descrita. El extracto de 220 mOsm/l produjo en las ratas variaciones de la onda P, comportándose ésta de forma difásica e invertida, también fue apreciable un aumento del segmento comprendido entre la onda T y la onda P (Fig.8).

3.4 Pruebas de acetilcolina

Las ratas que fueron tratadas con diferentes dosis de acetilcolina, dieron un valor promedio control (testigo) para la presión arterial media de 116 mmHg y cuando se le administró la solución salina al 0,9%, el promedio de dicha variable se registró en 122 mmHg.

Los valores de la presión arterial media obtenidos con cada una de las dosis administradas de acetilcolina, se muestran en el Cuadro 5. La curva dosis-respuesta muestra una caída de la presión arterial media a las diversas concentraciones usadas. La caída de la presión fue inmediata, en el momento mismo en que se administraba la acetilcolina, (Figuras 9, 10, 11).

Antes de ensayar una dosis diferente a la anterior de acetilcolina, se esperó a que la presión arterial media recuperara su valor normal.

CUADRO 1

PRESION ARTERIAL MEDIA EN RATAS ALBINAS, OBTENIDA POR LA ADMINISTRACION DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE *Casimiroa edulis* (130 mOsm/l)

TIEMPO	-5	-4	-3	-2	-1	0	0,5	1	2	5	7	10	13	15	18	20
Animal																
1	119	119	119	119	119	112,5	144	106	106	119	112,5	119	119	112,5	112,5	100
2	106	106	106	106	106	109	150	106	106	106	106	106	106	106	106	103
3	114	114	114	114	114	114	123	104,5	104,5	109	104,5	109	109	114	109	109
4	78,5	78,5	78,5	78,5	78,5	76	105	71	105	76	81	88	86	86	90	90
5	114	114	114	100	100	109	123	104,5	104,5	104,5	109	100	109	109	100	100
6	104,5	104,5	104,5	104,5	104,5	104,5	145	136	109	100	109	114	109	109	104,5	109
7	109	109	109	109	109	109	68	100	100	114	114	109	109	109	109	109
8	104,5	104,5	104,5	104,5	100	118	100	132	95	100	104,5	91	107	107	107	102
9	104,5	104,5	104,5	104,5	109	100	136	145	100	100	95	86	91	91	95	91
10	109	109	109	109	104,5	104,5	127	91	95	95	95	91	91	91	91	91
\bar{X}	106	106	106	105	104	106	122	110	102,5	102	103	101	104	103	102	100
E.E.	3,46	3,46	3,46	3,39	3,43	3,67	7,96	7,04	1,51	3,71	3,17	3,71	3,33	3,19	2,52	2,39

El tiempo cero (0) indica el inicio de la administración del extracto. Dosis: 0,5 ml/rata por vfa endovenosa.

El tiempo se expresa en minutos y la presión arterial media en mmHg.

Se indica el promedio (\bar{X}) y el error estándar (E.E.)

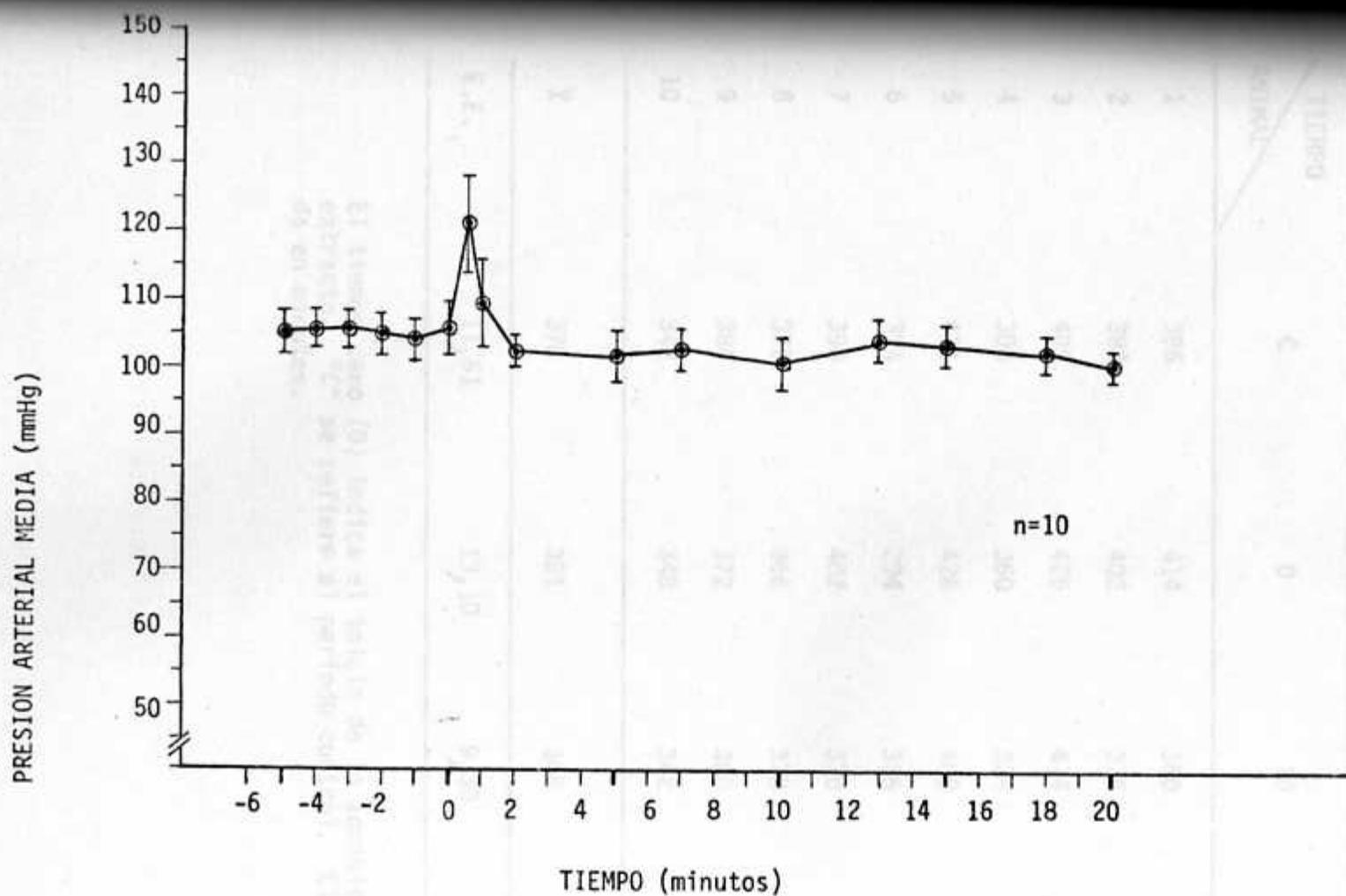


Fig.2. Hipertensión transitoria de la presión arterial media al ser administrado un extracto acuoso de las hojas de *Casimiroa edulis* (130mOsm/l) en ratas albinas. El punto cero (0) indica el momento de la administración del extracto. Dosis :0,5 ml/rata, vía endovenosa.

CUADRO 2

FRECUENCIA CARDIACA (LATIDOS/MINUTO) DE RATAS ALBINAS,
AL SER ADMINISTRADO EL EXTRACTO ACUOSO
DE *Casimiroa edulis* (130 mOm/l)

TIEMPO ANIMAL	C	0	10	20
1	396	414	360	342
2	382	402	378	390
3	402	426	414	432
4	300	360	324	330
5	411	426	408	378
6	324	294	336	276
7	390	402	378	378
8	372	366	378	378
9	384	372	360	324
10	342	348	342	312
\bar{X}	370	381	368	351
E.E.	11,51	13,10	9,30	14,13

El tiempo cero (0) indica el inicio de la administración del extracto. "C" se refiere al período control. El tiempo se da en minutos.

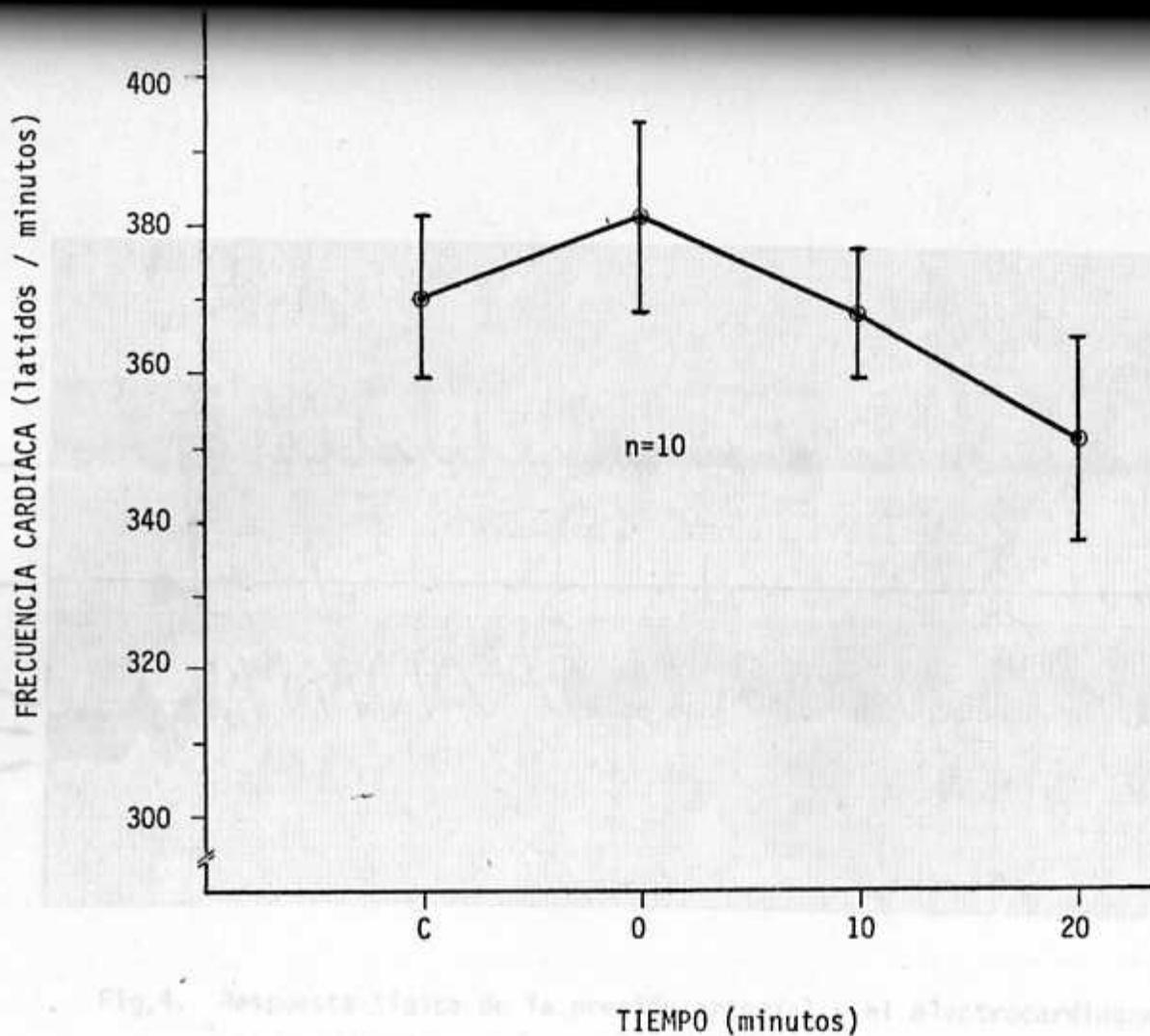


Fig. 3. Taquicardia producida por un extracto acuoso de los hojas de *Casimiroa edulis* (130 mOsm/L) administrado en ratas albinas. Los tiempos C y 0 indican el período de control y el inicio de la administración del extracto respectivamente.

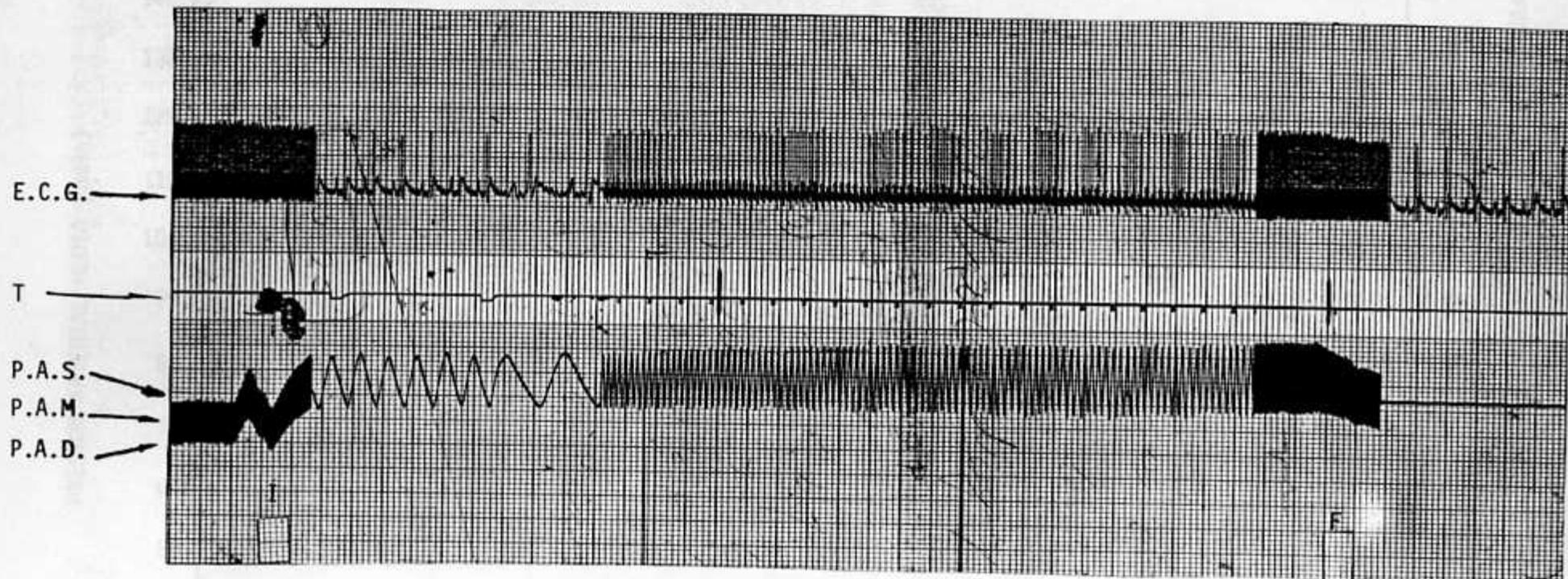


Fig.4. Respuesta típica de la presión arterial y el electrocardiograma de una rata albina, al ser administrada una dosis de 0,5 ml del extracto acuoso de *Caesalpinia esculapri* (130mOsm/l)

Simbología: ECG= electrocardiograma

PAS= presión arterial sistólica

PAM= presión arterial media

PAD= presión arterial diastólica

T= marcador de tiempo

I= inicio de la administración del extracto

F= final de la administración del extracto

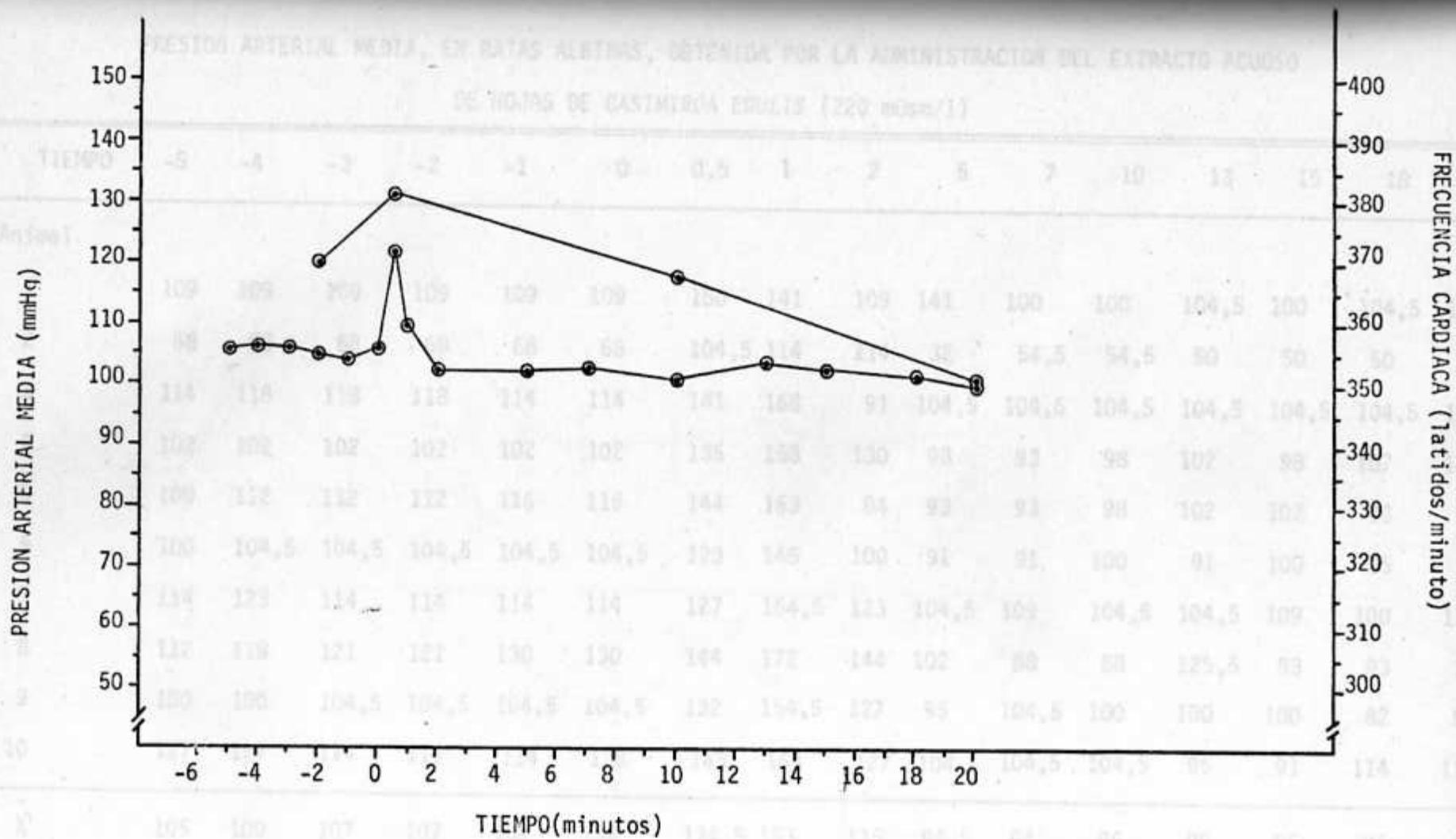


Fig.14. Cambios simultáneos de la presión arterial media y de la frecuencia cardíaca en ratas albinas anestesiadas, provocados por la administración de extractos acuosos de *Casimiroa edulis* (130 mOsm/l)

PRESION ARTERIAL MEDIA, EN RATAS ALBINAS, OBTENIDA POR LA ADMINISTRACION DEL EXTRACTO ACUOSO
DE HOJAS DE *CASIMIROA EDULIS* (220 mOsm/l)

TIEMPO	-5	-4	-3	-2	-1	0	0,5	1	2	5	7	10	13	15	18	20
Animal																
1	109	109	109	109	109	109	150	141	109	141	100	100	104,5	100	104,5	109
2	68	68	68	68	68	68	104,5	114	114	32	54,5	54,5	50	50	50	50
3	114	118	118	118	114	114	141	168	91	104,5	104,5	104,5	104,5	104,5	104,5	100
4	102	102	102	102	102	102	135	158	130	98	93	98	102	98	107	162
5	100	112	112	112	116	116	144	163	84	93	93	98	102	102	98	98
6	100	104,5	104,5	104,5	104,5	104,5	123	145	100	91	91	100	91	100	95	95
7	114	123	114	114	114	114	127	154,5	123	104,5	109	104,5	104,5	109	100	114
8	112	119	121	121	130	130	144	172	144	102	88	88	125,5	93	93	70
9	100	100	104,5	104,5	104,5	104,5	132	154,5	127	95	104,5	100	100	100	82	59
10	127	127	114	114	114	118	145	164	127	104,5	104,5	104,5	95	91	114	114
\bar{X}	105	109	107	107	108	108	134,5	153	115	96,5	94	95	98	95	95	97
E.E.	4,90	5,31	4,71	4,71	5,07	5,14	4,30	5,34	5,98	8,44	4,94	4,77	6,04	5,23	5,69	10,19

El tiempo cero (0) indica el inicio de la administración del extracto. Dosis: 0,5 ml/rata por vía endovenosa.
El tiempo se expresa en minutos y la presión arterial media en mmHg.
Se indica el promedio (\bar{X}) y el error estándar (E.E.).

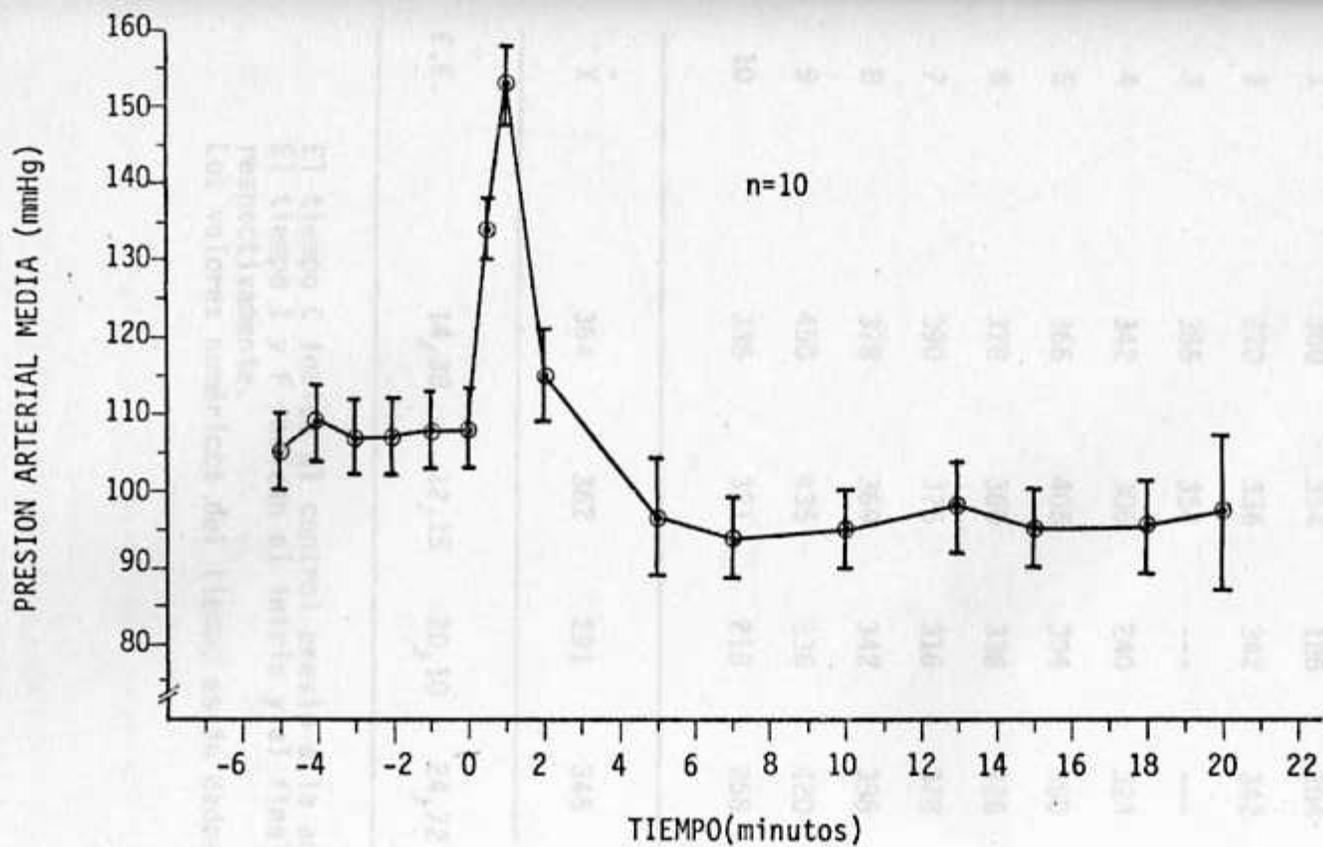


Fig. 5. Efecto de la administración del extracto acuoso de las hojas *Casimiroa edulis* (220 mOsm/L) sobre la presión arterial media en ratas albinas.

El punto cero (0) indica el momento de la administración del extracto-dosis 0,5 ml/rata, vía endovenosa.

CUADRO 4

FRECUENCIA CARDIACA (LATIDOS/MINUTO)
AL SER ADMINISTRADO EL EXTRACTO ACUOSO DE *CASIMIROA EDULIS*
(220 mOsm/l) en ratas albinas

TIEMPO ANIMAL	C	I	F	10	15	20
1	360	354	186	204	330	342
2	270	336	342	342	246	210
3	366	354	---	---	342	330
4	342	306	240	324	342	348
5	366	408	304	360	408	420
6	378	360	336	426	414	396
7	390	375	318	378	390	390
8	378	369	342	396	342	276
9	450	435	336	420	420	390
10	336	321	218	258	372	366
\bar{X}	364	362	291	345	361	347
E.E.	14,38	12,15	20,10	24,72	16,58	19,99

El tiempo C indica el control previo a la administración del extracto.
El tiempo I y F indican el inicio y el final de la administración respectivamente.
Los valores numéricos del tiempo están dados en minutos.

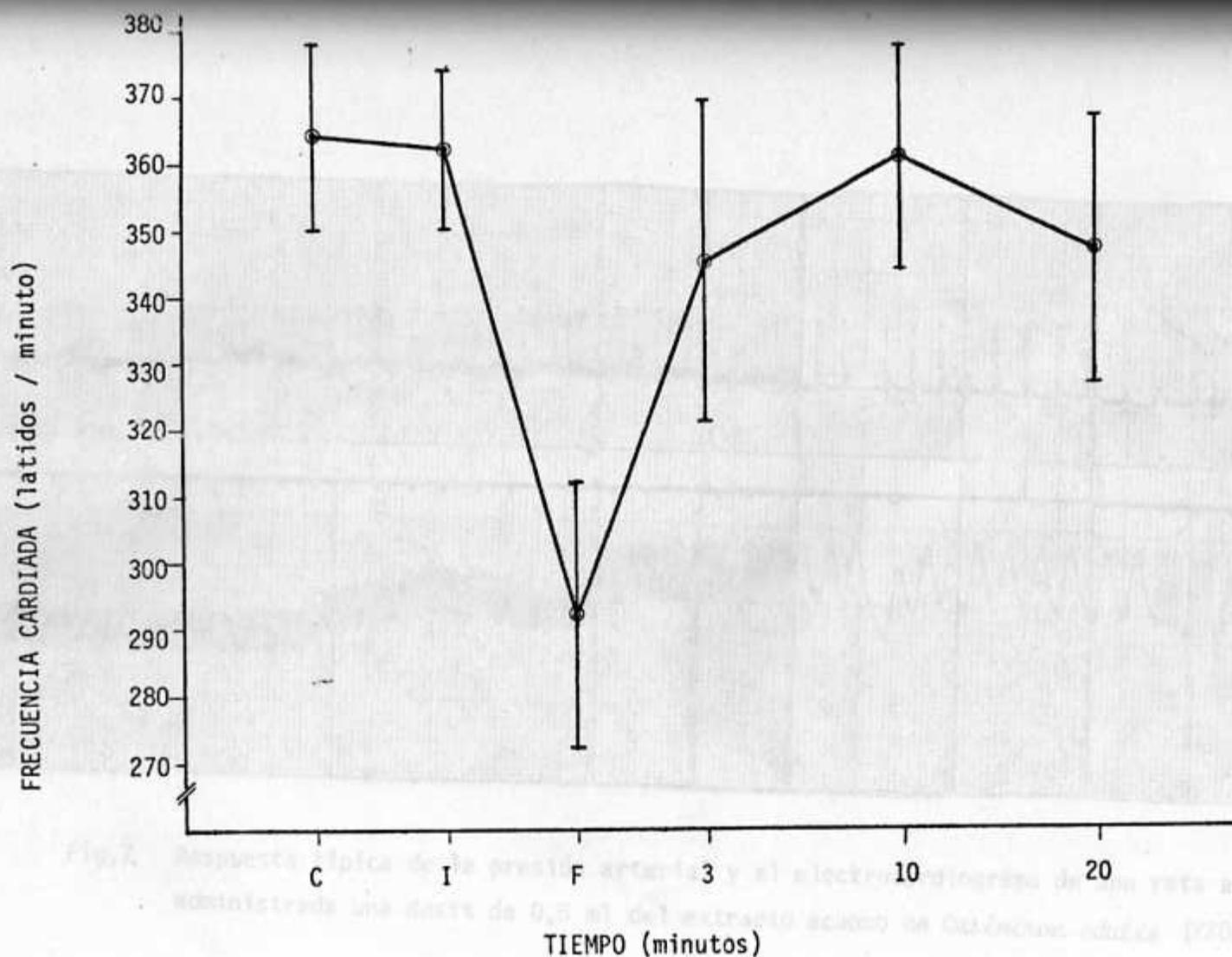


Fig.6. Bradicardia producida por un extracto acuoso de las hojas de *Casimiroa edulis* (220 mOsm/L) administrado en ratas albinas. El tiempo I indica el inicio de la administración, F el final de la misma y C el período control.

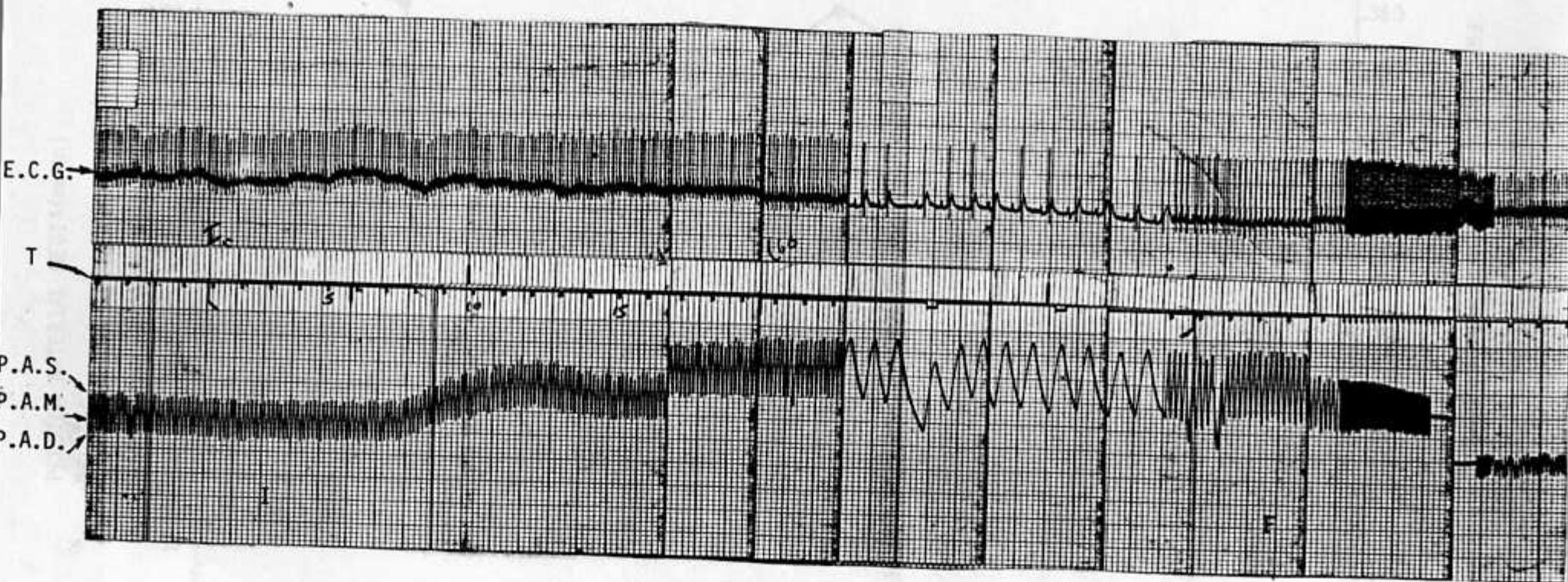


Fig.7. Respuesta típica de la presión arterial y el electrocardiograma de una rata albina al ser administrada una dosis de 0,5 ml del extracto acuoso de *Casimiroa edulis* (220 mOsm/l)

Simbología: ECG= electrocardiograma

PAS= presión arterial sistólica

PAM= presión arterial media

PAD= presión arterial diastólica

T= marcador de tiempo

I= inicio de la administración

F= final de la administración

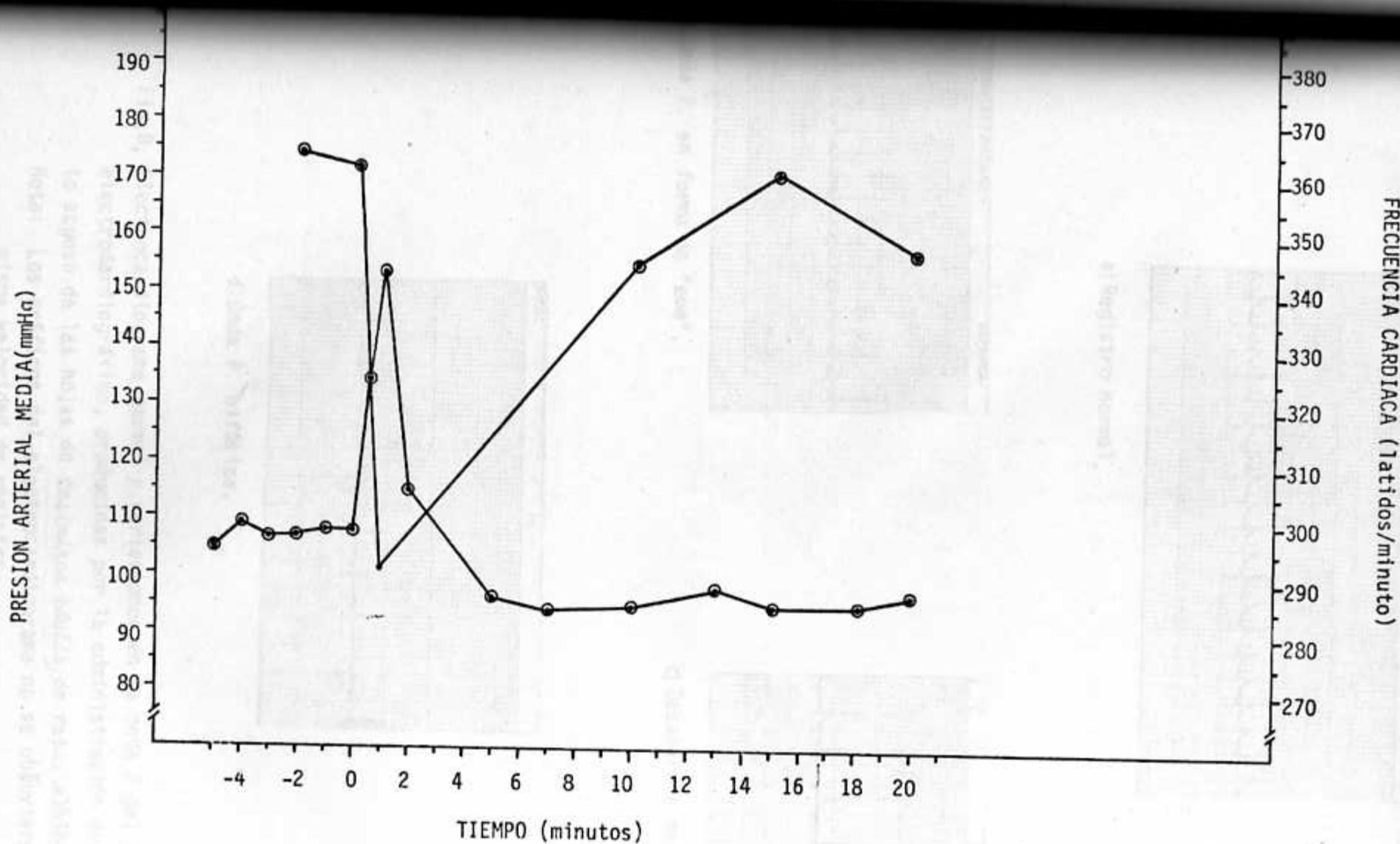
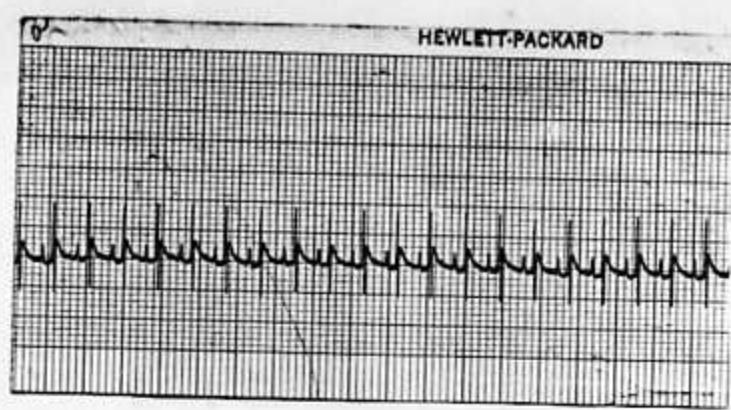
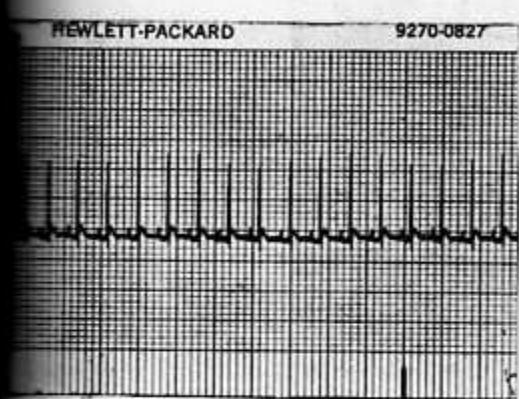


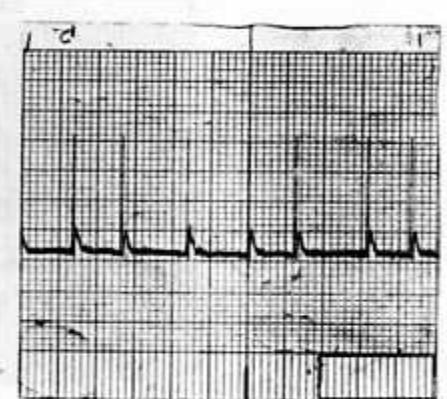
Fig.15. Cambios simultáneos de la presión arterial media y de la frecuencia cardíaca en ratas albinas anestesiadas, provocados por la administración de extractos acuosos de *Casimiroa edulis* (220 mOsm/l)



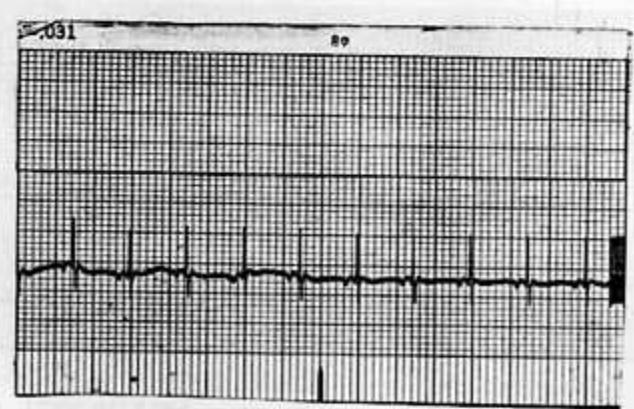
a) Registro normal.



b) Onda P. en forma de "eme".



c) Desaparece onda P.

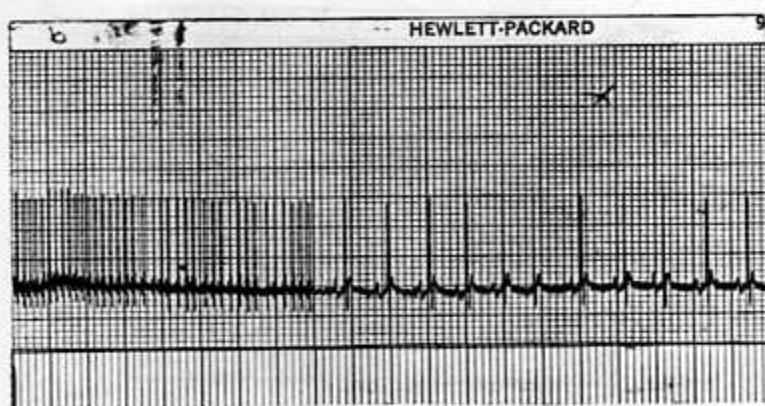


d) Onda P bifásica.

Fig.8, Electrocardiograma normal y variaciones en la onda P del trazado electrocardiográfico, producidas por la administración del extracto acuoso de las hojas de *Casimiroa edulis*, de ratas albinas 220 mOsm/l
 Nota: Los gráficos del electrocardiograma no se obtuvieron a la misma velocidad de registro.



a) Complejo Q R S en forma de "Sierra"



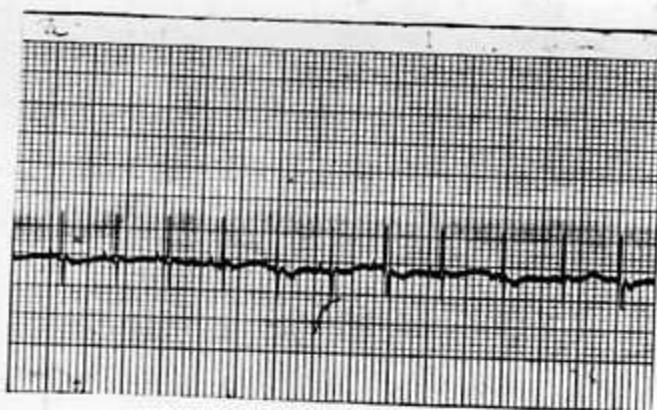
b) Aumento de amplitud del complejo Q R S



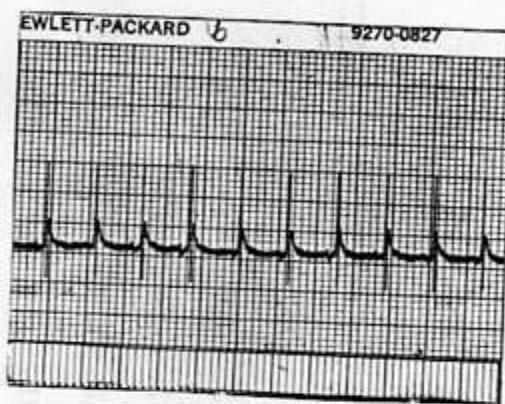
c) Intervalos Q R S irregulares

Fig.9. Variaciones electrocardiográficas del complejo Q R S , producidas por la inyección endovenosa de un extracto acuoso de las hojas de *Casimiroa edulis* de 220 mOsm/l.

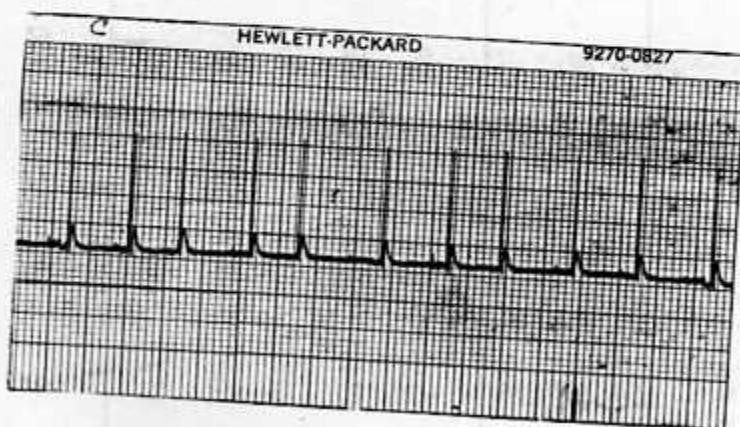
Nota: Los gráficos del electrocardiograma no se obtuvieron a la misma velocidad de registro.



a) Onda T aplanada



b) Onda P invertida



c) Fibrilación auricular

Fig.10. Anomalías electrocardiográficas producidas en ratas albinas, tratadas con un extracto acuoso de las hojas de *Casimiroa edulis* de 220 mOsm/l.

Nota: Los gráficos del electrocardiograma no se obtuvieron a la misma velocidad de registro.

CUADRO 5

PRESION ARTERIAL MEDIA, OBTENIDA POR LA ADMINISTRACION DE ACETILCOLINA
EN DOSIS DE 0,5 μ g/kg a 8 μ g/kg.

DOSIS ANIMAL	C	S	C	0,5	C	1,0	C	2,0	C	4,0	C	6,0	C	8,0	C
1	115	113,5	115	95	114	91	116	91	114	86	111	68	103	73	53
2	110	102	100	93	104	81	114	79	113	70	110	60	114	51	66
3	104,5	100	95	64	100	73	95,5	82	85	54,5	93	77	100	54.5	84
4	112	144	114	91	115	95	116	73	116	82	118	77	117	77	114
5	116	121	117,5	93	118	88	115	84	121	79	118,5	70	116	65	122
\bar{X}	111,5	109	108	87	110	86	111	82	110	74	110	70	110	64	88

La presión se da en mmHg.

S indica la administración de solución salina al 0,9% como control.

C indica los períodos de control respectivos.

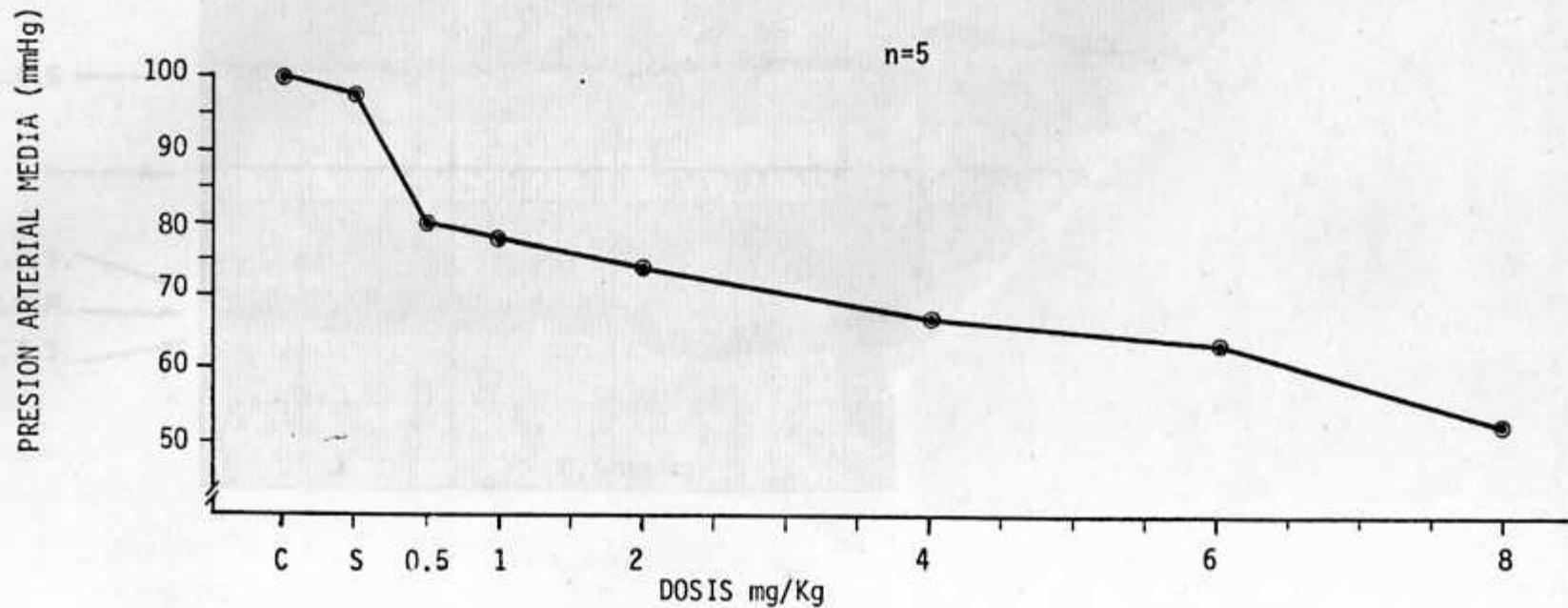


Fig.11. Curva dosis-respuesta de acetilcolina sobre la presión arterial media. Se muestra el decremento porcentual de la presión, por administración de dosis entre 0,5 y 8 μ g/Kg de acetilcolina. Los tiempos C y S indican el período control y la administración de solución salina respectivamente.



Fig.12. Respuesta típica de la presión arterial y del electrocardiograma de una rata albina, al ser administradas las dosis de 0,5-1 y 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de acetilcolina.

Simbología: ECG=electrocardiograma

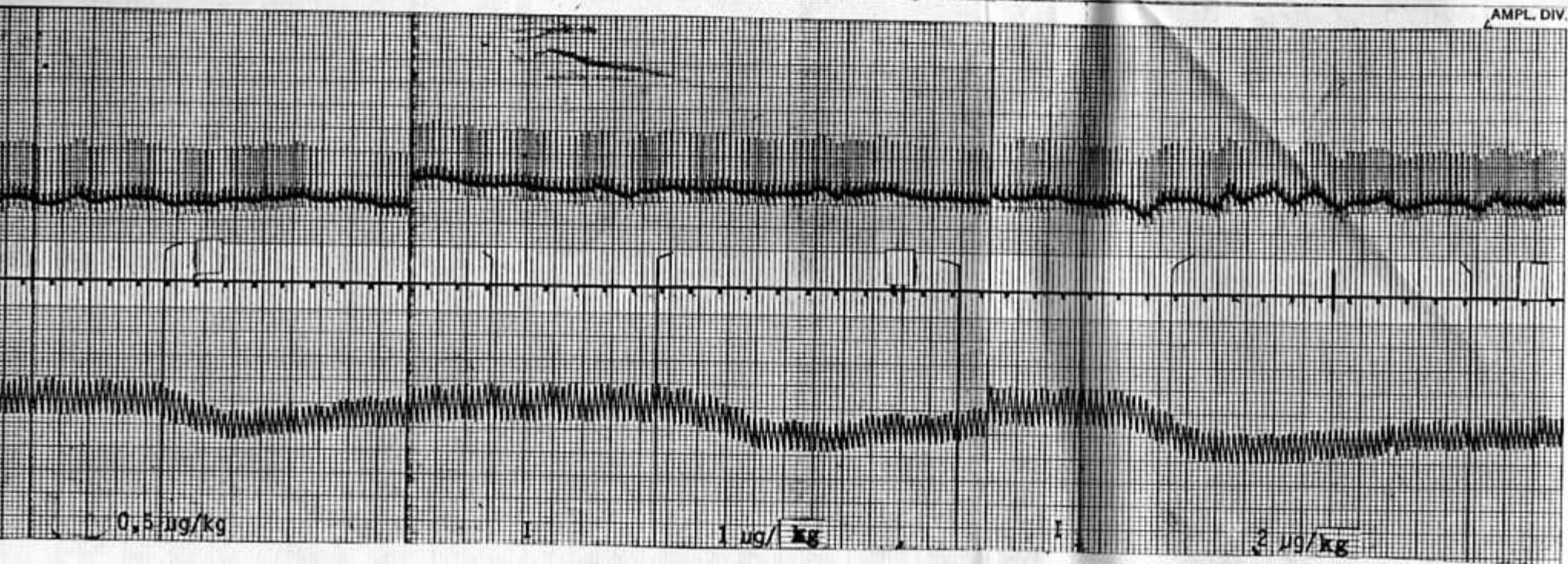
PAS= presión arterial sistólica

PAM= presión arterial media

PAD= presión arterial diastólica

T= marcado de tiempo

I= inicio de la administración respectiva



ta típica de la presión arterial y del electrocardiograma de una rata albina,
administradas las dosis de 0,5-1 y 2 µg/kg de acetilcolina.

gfa: ECG=electrocardiograma

PAM= presión arterial media

T= marcado de tiempo

PAS= presión arterial sistólica

PAD= presión arterial diastólica

I= inicio de la administración respectiva

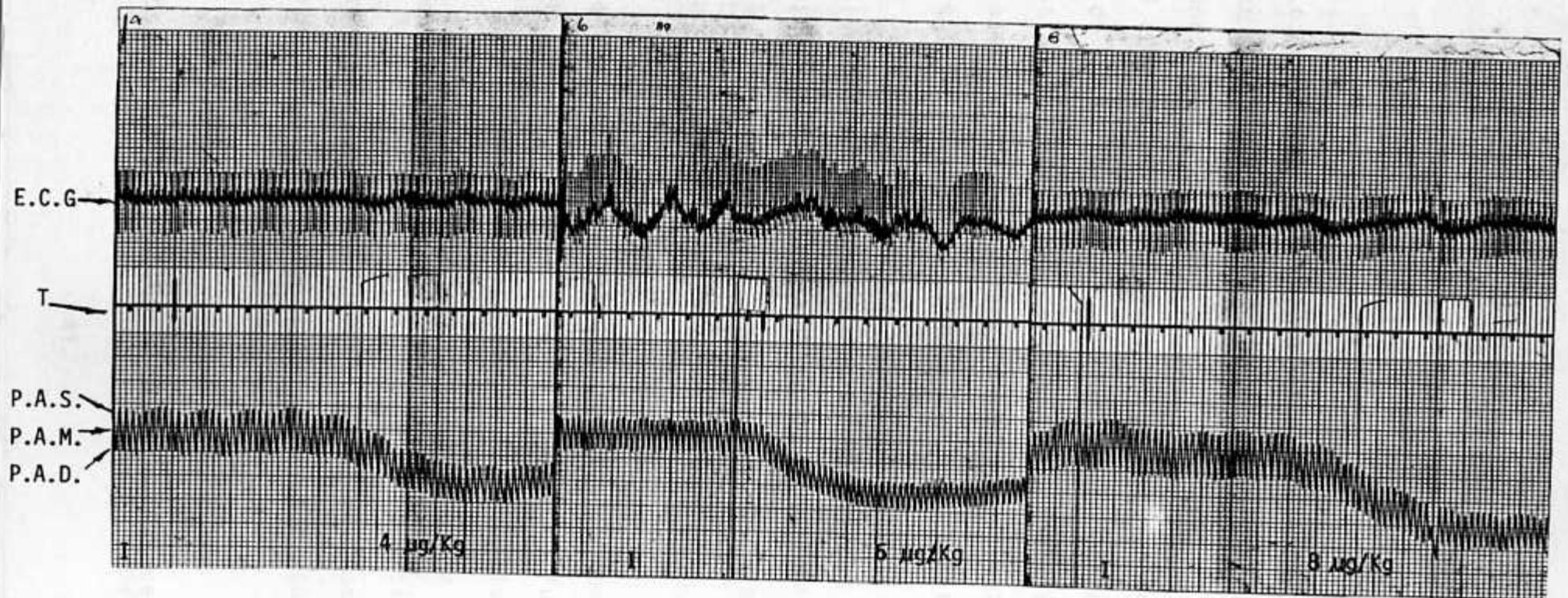


Fig.13. Respuesta típica de la presión arterial y del electrocardiograma de una rata albina, al ser administrado las dosis de 4,6 y 8 $\mu\text{g}/\text{g}$ de acetilcolina.

Simbología: ECG= electrocardiograma
 PAM= presión arterial media
 T= marcador de tiempo

PAS= presión arterial sistólica
 PAD= presión arterial diastólica
 I= inicio de la administración respectiva

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, contrastan por una parte, con los descritos sobre el mismo tema; aunque por otro lado los confirma (43, 44, 45). Se encontró como primera respuesta al extracto acuoso de las hojas de Casimiroa edulis, administrando en forma endovenosa, una súbita elevación de la presión arterial, la cual es pasajera y sólo se observa durante el minuto que dura la inyección del mismo. Esto llevó a pensar en un inicio que se daba, probablemente, como consecuencia del aumento del volumen perfundido, tomando en cuenta que el extracto se administra en la vena yugular, pero no fue observado en animales control (testigo) que recibieron la misma dosis de solución salina.

También, en otros trabajos realizados con la misma metodología (27), ese aumento de presión no fue observado, lo que puso en duda que ese efecto hipertensivo no fuera propio del extracto. Se procedió entonces, a realizar con la misma técnica, pruebas con una sustancia de efectos hipotensores conocidos, la acetilcolina, y los resultados mostraron más bien una caída de la presión súbita y acorde con la dosis administrada (Fig.11).

Los cambios de presión arterial media, registrados en

este trabajo, se dieron con la dosis alta y con la dosis baja, guardándose una relación directamente proporcional entre la dosis y el grado de hipertensión temporal. Sin embargo, en el caso de la concentración de 130 mOsm/l, después de pasada la hipertensión transitoria inicial, la presión arterial se mantuvo a lo largo del experimento en valores normales. Por el contrario, en las pruebas con la concentración de 220 mOsm/l, después del breve período hipertensivo que mostró ser significativo ($P < 0,01$), a los tiempos de 30 y 60 segundos, después de la administración del extracto, se dio una hipotensión significativa ($P < 0,05$) a los tiempos de 7, 10 y 15 minutos de registro post-administración del extracto (Fig 5). Esto viene a ser reforzado por Lozoya (43) al observar que el grado de hipotensión producido en animales con la infusión de C. edulis, varía según la dosis utilizada, lo que nos lleva a suponer que la dosis de 130 mOsm/l utilizada es baja y por lo tanto no es capaz de producir hipotensión, pero sin embargo es capaz de producir la hipertensión como se observó en algunos experimentos llevados a cabo por el IMEPLAN (Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales), han concluido que el extracto alcohólico de las semillas de esta especie posee una vigorosa actividad farmacológica sobre las especies animales estudiadas, siendo evidente el efecto hipotensor alcanzado con dosis bajas de 0,3 mg/kg de extracto crudo (35). En las dosis

utilizadas, la concentración es mayor, pero debe hacerse notar la gran diferencia entre el extracto a partir de materia seca usada por esos investigadores y el material fresco por nosotros empleado. Además sus resultados fueron obtenidos de extractos de semillas, que se conoce son un reservorio de sustancias de mucho mayor concentración que las hojas.

Para llevar a cabo el análisis de los cambios de presión producidos por la inyección endovenosa del extracto acuoso de las hojas frescas de C. edulis; debemos tener presente conceptos de fitoquímica, lo cual es sumamente importante en este tipo de investigaciones, por cuanto es un error considerar que las plantas son exactamente iguales en todo lugar, ya que la síntesis de sus productos varía de una zona geográfica a otra, como también de acuerdo a la estación del año o a las horas del día. A continuación se citan algunos ejemplos.

La producción de morfina de la adormidera (Papaver somniferum) a las nueve de la mañana, es a menudo cuatro veces la obtenida doce horas después. Idéntica variación diurna ha sido demostrada en varias otras plantas, incluyendo la atropina (Atropa belladonna). En otros casos el principio activo varía con el estado de germinación y a menudo la floración coincide con un aumento de principio

activo, pero en algunas plantas hay una disminución (87). De similar importancia es la variación de los constituyentes de la misma planta o especies en diferentes partes del mundo.

Otra posibilidad que explicaría la discrepancia de resultados estaría contemplada en la diferente técnica de obtener el extracto; en nuestro caso el material fue sometido a ebullición, en tanto que Lozoya et. al. (45), no utilizaron tratamiento térmico.

En nuestro país es la primera vez que se lleva a cabo un estudio fisio-farmacológico con esta especie, y la variación de los resultados de la presión arterial pueden tener su explicación en un nuevo componente producido por razones fito-geográficas. Si bien es cierto que C. edulis en los estudios realizados especialmente en México han dado resultados hipotensores muy evidentes, efecto producido aún en animales normales (45), en nuestro país, de acuerdo a los estudios fisiológicos realizados, produce una severa y abrupta hipertensión, que aunque sea pasajera, es de tener en consideración, ya que generalmente es recomendada a personas que padecen de hipertensión, lo cual agravaría transitoriamente el cuadro.

Tradicionalmente el zapote blanco se administra por

vía oral, en infusiones de semillas u hojas, lo que permite establecer que la o las substancias responsables del efecto hipotensor se absorben por la mucosa intestinal y pasan al torrente sanguíneo (44).

Debido a que en este trabajo se ha utilizado una técnica de administración intravenosa, se podría argumentar que, nuestros resultados no tienen relevancia para interpretar los posibles efectos del extracto acuoso de matasano, cuando es ingerido por vía oral; sin embargo, debemos tener en cuenta que en otros estudios se verificó que el extracto de semillas de C. edulis administrado por medio de una sonda al estómago tenía iguales efectos que cuando el mismo extracto fue administrado en forma endovenosa, con la sola diferencia que los intravenosos son inmediatos, mientras que en la aplicación intragástrica los efectos hipotensivos son mostrados a los 10-15 minutos después (43).

Creemos pues, que los efectos observados en esta investigación sobre la hipertensión deben ser tomados en cuenta.

Lozoya et al. (45) han analizado los efectos farmacológicos que producen los extractos de semilla de zapote blanco, administrados por vía endovenosa a gatos, perros

y cobayos, que a continuación se comentan. Sobre animales íntegros, la administración se realizó endovenosamente, y se dio una disminución en la presión arterial; manifestándose ésta de forma brusca, en los primeros 10 segundos; y sosteniéndose durante 40-50 minutos, para luego recuperarse totalmente a los 80-120 minutos. En preparaciones de "encéfalo aislado" la presión arterial disminuye ligeramente, recuperándose totalmente a los 15 minutos de aplicada la dosis de 0,3 mg/kg. En el citado trabajo los efectos producidos por el extracto alcohólico son similares a los del extracto acuoso, pero este último muestra una acción menos intensa que la producida por el extracto alcohólico.

En el presente estudio, con la dosis alta, fue observado en los animales un aumento en la frecuencia y la amplitud de la respiración, efecto también notado por investigadores del IMEPLAN, al ser administrado en perros extractos alcohólicos de semillas, en donde relatan que dichos extractos poseen un efecto sobre el sistema nervioso central a dosis altas, el cual va acompañado de cambios en la actividad respiratoria (45).

El efecto hipotensivo producido por extractos de semillas de C. edulis, propone el IMEPLAN, es fundamentalmente de características periféricas, afectando los

lechos mesentéricos, carotídeos y musculares (35). Sin embargo, es conveniente indicar que las evidencias de efecto central son claras: diferente respuesta en animales intactos y con cerebro y en el efecto respiratorio, el cual es controlado a nivel central.

En base al procedimiento de "circulación cruzada" se han obtenido también evidencias sobre el tipo de hipotensión, siendo ésta una dilatación de los vasos sanguíneos (43). Cabría también la posibilidad de utilizar un diseño experimental de pata aislada y corroborar así la hipotensión como una caída de la resistencia periférica.

Las variaciones electrocardiográficas y producidas por los extractos acuosos de las hojas del zapote blanco o matasano, difieren según sea la dosis baja o alta del presente estudio. Para la primera, el registro electrocardiográfico no mostró ningún tipo de anomalía, tan sólo un ligero aumento de la frecuencia cardíaca, pero sin ser dicho cambio significativo.

En parte, esto podría explicar un efecto estimulante, ya que si el gasto cardíaco depende del volumen de contracción y de la frecuencia cardíaca y, si la primera se mantiene invariable, un ligero aumento del segundo factor, producirá inevitablemente un ascenso de la presión

sanguínea (25, 31), tomando en cuenta que dicha taquicardia, se produjo en el momento mismo en que fue registrada la hipertensión. Otra posibilidad es una vasoconstricción transitoria, pero de ninguna de ellas se han realizado observaciones que permitan detectar la variable involucrada.

En el caso de la dosis de 220 mOsm/l, se observaron variaciones en el trazado electrocardiográfico, tales como las variaciones en la onda P, la cual apareció en algunos casos invertida (Fig. 10b). Como en la derivación D_{II} siempre es positiva, esto es compatible con la presencia de un ritmo nodal alto debido a un foco ectópico que produjo una extrasístole atrial. También se presentó en forma difásica, de "eme" y/o desapareció. (Figs. 8b, 8c, 8d). La forma difásica, es indicativa de una dilatación auricular izquierda, resultando de una sobrecarga de volumen o de presión en el atrio izquierdo.

El aumento en la amplitud de la onda R (Fig. 9b), es indicativo de una hipertrofia ventricular izquierda en casos crónicos, y del síndrome de preexcitación, caracterizado por la activación precoz de alguno de los ventrículos, en situaciones agudas.

Cuando se presentaron intervalos R-R de diferente duración (Fig. 9c), fue por la presencia de bloqueos

atrioventriculares, aunque la información recogida no permite discriminar el grado del mismo.

La presencia de un bloqueo de rama se caracterizó por la aparición de complejos QRS en forma de sierra (Fig.9a), y un aumento en la duración del complejo, indicado por la amplitud del mismo.

Finalmente, la disminución en la amplitud de la onda T, (Fig.10a) puede ser una variante normal según la posición del corazón, o deberse a un infarto del miocardio, en cuyo caso debería también esperarse una elevación del segmento ST, lo cual no se registró.

Los estudios que Lozoya ha realizado en el electrocardiograma, muestra bloqueo atrioventricular, extrasístoles ventriculares, y presencia de ritmo nodal, al administrar extractos alcohólicos de las semillas de C. edulis (45).

La frecuencia cardíaca con la dosis alta en la presente investigación, disminuyó en forma marcada y significativa ($P < 0,01$), al compararla con el control y la que se registró a los 30 segundos después de ser administrado el extracto. Esto podría explicarse por aumento de la estimulación vagal, ya que todo reflejo circulatorio que

estímulo el centro del vago, puede disminuir considerablemente la frecuencia cardíaca (31). Otra explicación fisiológica probable sería mediada por acción de los barorreceptores, los cuales al ser estimulados por un aumento de la presión que distiende las paredes de la arteria carótida interna y del cayado de la aorta, inician una serie de eventos que dan como resultado una bradicardia refleja, acompañada de disminución de la presión arterial, vasodilatación y disminución del gasto cardíaco (25).

En el mencionado trabajo de Lozoya et al. (45), dicho efecto se obtuvo también al ser administradas dosis altas de extractos de la semilla de matasano. También encontró que a dosis altas de 1,5-3 mg/kg se dan efectos tóxicos sobre el corazón como consecuencia de una descarga vagal severa que puede producir paro cardíaco con un abatimiento brusco de la presión arterial. La muerte por intoxicación ocurre por paro respiratorio y la recuperación de la presión arterial es a veces lograda mediante la inyección de adrenalina (35).

También ha sido registrada una lentificación del electroencefalograma, interpretado como una sedación debida a la sostenida disminución de la presión arterial (43).

Con extractos de semillas se hicieron estudios en

animal consciente en donde la inyección intravenosa de 0,5 mg/kg de peso producía una relajación de la musculatura, con sostenida hipotensión arterial, y que, sin llegar a producir sueño, los animales permanecieron en general hi-poactivos. Con dosis mayores de 10-30 mg/kg de peso, la presión arterial alcanzó valores de 50-20 mmHg, con trastornos en la respiración y en el electrocardiograma. En todos los estudios llevados a cabo con perros y gatos la recuperación fue total. Han propuesto que el fenómeno es esencialmente de orden vascular periférico, y no se acompaña de cambios en otros componentes del sistema. A dosis muy elevadas por vía endovenosa, la muerte ocurre durante el colapso de la presión arterial; básicamente, por paro respiratorio (45).

Es claro entonces, que a las dosis usadas o debido a la concentración del principio activo, presente en los extractos acuosos de las hojas de C. edulis del presente trabajo, debieron ser considerablemente menores, pues no se observaron estos cambios tan intensos.

Se han realizado otros estudios con las semillas de esta especie, realizando dos tipos de extractos: uno alcohólico (etanólico) y otro acuoso. La acción de dichos extractos sobre tejidos aislados de músculo liso de aorta, tráquea, vejiga, tenia coli, íleo terminal y útero; produjo

cambios en la contractilidad, efecto que se produjo de inmediato y de forma evidente, dándose un aumento tanto en la frecuencia como en la amplitud y el tono (43, 45). Llama la atención que la respuesta aórtica sea vasoconstrictora, en tanto que el efecto general depende de una vasodilatación.

Estas observaciones implican la presencia de sustancias biológicamente activas en las fracciones alcohólicas y acuosas de semillas de zapote blanco y sugieren un efecto fundamentalmente a nivel central, sobre el centro vasomotor, sin descartar cierto efecto sobre la musculatura lisa de los vasos sanguíneos (43). Esta información es contradictoria con aquella que indica que el efecto fundamental es sobre la resistencia periférica.

En 1978, se realizaron estudios farmacológicos con una sustancia aislada del extracto alcohólico de las semillas de C. edulis llegando a concluir que la sustancia responsable de causar los efectos tanto oxióticos, mencionados anteriormente e hipotensores en los animales de ensayo (perro y tejido aislado de cobayo), se trata de una sola sustancia que realiza los dos efectos (44).

Los estudios espectroscópicos, por ellos realizados (43), del producto aislado de la semilla, proponen la

presencia de un derivado tipo histamínico, demostrando que la actividad similar a la histamínica se localizaba en los extractos alcohólicos de tales preparados, ya que si el animal recibe previo al extracto una dosis de antihistamínico (clorfeniramina), la acción del zapote blanco no se produce y la presión arterial se sostiene en valores normales aún a grandes dosis por vía endovenosa. Lo cual demuestra la naturaleza histamino- semejante del principio activo del zapote blanco o matasano. Este informe, de nuevo, está a favor de un mecanismo de acción vascular periférico de efecto dilatador.

Es importante recalcar el hecho de que es la primera vez que se encuentra dimetilhistamina en el reino vegetal, lo cual no excluye que su presencia esté mayormente difundida en otros géneros botánicos (43).

Todo esto sugiere que, las propiedades hipnóticas, pueden ser la consecuencia de un efecto indirecto, resultado de una acción "de rebote" debida a la hipotensión sostenida, que al producir un efecto parasimpaticomimético propicia la aparición del sueño como respuesta fisiológica. También podría ser que la hipotensión, encubra alguna sustancia sedante (44).

La resistencia de los animales al zapote blanco es

creciente en este orden: perro, cuyo, palomo (43). Por lo tanto, cabría la posibilidad de que la rata, utilizada en la presente investigación, fuera aún más resistente y de ahí el menor efecto hipotensor obtenido.

En Casimiroa edulis también fue posible encontrar los compuestos furocumarínicos que, aunque no tienen actividad hipotensora, mostraron que poseían estructuras que no habían sido detectadas en el pasado, ya que probablemente sufrían descomposiciones durante la obtención de los extractos. Se desconocen los efectos globales de esos compuestos (43).

El registro electrocardiográfico muestra pocas variaciones al ser administrada la dosis de 210 mgm/l, y la frecuencia cardíaca sufre una significativa disminución a los 30 segundos después de administrado el extracto. Luego se recupera a los valores normales, mientras que en ratones a la dosis de 120 mgm/l, no se registró ninguna alteración electrocardiográfica y se observó una ligera taquicardia, no significativa estadísticamente.

Las pruebas realizadas con acetilcolina, son un

5. RESUMEN Y CONCLUSIONES

La administración endovenosa en ratas, de extractos acuosos de las hojas de Casimiroa edulis (matasano o zapote blanco), producen como primera reacción, una hipertensión súbita y transitoria, cuya amplitud es directamente proporcional a la dosis empleada.

La hipertensión es seguida, en el caso de dosis altas, de una hipotensión sostenida, estadísticamente significativa ($P < 0,05$) en los tiempos 7, 10 y 15 minutos post-administración del extracto. Para la dosis baja, la presión arterial se mantuvo en los niveles normales, durante los 20 minutos de duración del registro, después de aplicado el extracto.

El registro electrocardiográfico muestra pocas variaciones al ser administrada la dosis de 220 mOsm/l, y la frecuencia cardíaca sufre una significativa disminución a los 30 segundos después de administrado el extracto; luego se recupera a los valores normales, mientras que en respuesta a la dosis de 130 mOsm/l, no se registró ninguna alteración electrocardiográfica y se observó una ligera taquicardia, no significativa estadísticamente.

Las pruebas realizadas con acetilcolina, son un

indicador de que las respuestas hipertensivas, son propias del extracto y no artefacto de la técnica.

1. Albornoz, A. 1963. *Farmacognosia I Parte. Guía farmacognóstica de drogas vegetales y de plantas con interés económico de actualidad.* Caracas, Venezuela. 73 p.
2. Albornoz, A. 1963. *Guía Farmacognóstica de Drogas vegetales y de plantas con interés económico en la actualidad. Partes II, III, IV y V.* Depo. de publicaciones de la Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. Ciudad Universitaria, Caracas, Venezuela. 82 p.
3. Arboláez, E. 1956. *Plantas útiles de Colombia.* Sucesores de Rivadeneira (S.A.) Bogotá, Colombia. 631 p.
4. Atlas, P.O. 1950. *Plantas que curan y plantas que matan. Tratado teórico de botánica médica para la curación de todas las enfermedades.* México. 282 p.
5. Baber, H.S. 1968. *Las plantas y la civilización.* Centro Regional de Ayuda técnica. Agencia para el desarrollo interamericano (A.I.D.) México. 193 p.
6. Stanchard, P. 1942. *Tratado de farmacología vegetal o Fitofarmacología.* Talleres gráficos argentinos. L.J. Rosse. Buenos Aires, Argentina. 364 p.
7. Sigilone, N. 1971. *Medicina Popular.* Centro de Investigaciones Científicas. Medicina Popular. Serie Estudios y Documentos 6. República Argentina. Provincia de Río Negro, Argentina. 53 p.
8. Brenes, S. y V. Campos. 1964. *Compendio de la investigación científica realizada en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Costa Rica.* Inst. Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio", San José, Costa Rica. 82 p.

1. Albornoz, A. 1963. Farmacognosia I Parte. Guía farmacognóstica de drogas vegetales y de plantas con interés económico de actualidad. Caracas, Venezuela. 73 p.
2. Albornoz, A. 1963. Guía farmacognóstica de drogas vegetales y de plantas con interés económico en la actualidad. Partes II, III, IV y V. Depto. de publicaciones de la Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Ciudad Universitaria. Caracas. Venezuela. 82 p.
3. Arbelaez, E. 1956. Plantas útiles de Colombia. Sucesores de Rivadeneira (S.A.) Bogotá, Colombia. 831 p.
4. Apías, P.C. 1950. Plantas que curan y plantas que matan. Tratado teórico de botánica médica para la curación de todas las enfermedades. México. 292 p.
5. Baber, H.G. 1968. Las plantas y la civilización, Centro Regional de Ayuda técnica. Agencia para el desarrollo internacional (A.I.D.) México. 193 p.
6. Blanchard, P. 1942. Tratado de farmacología vegetal o farmacognosia. Talleres gráficos argentinos. L.J. Rosso. Buenos Aires. Argentina. 364 p.
7. Biglione, N. 1973. Medicina Popular. Centro de Investigaciones Científicas. Medicina Popular. Serie Estudios y Documentos 6. República Argentina. Provincia de Río Negro, Argentina. 53 p.
8. Brenes, S. y V. Campos. 1964. Compendio de la investigación científica realizada en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Costa Rica. Tesis. Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio". San José, Costa Rica. 82 p.

9. Brenes, A. I. 1948. Contribución al estudio de la tensión arterial en los cuatro miembros en estados normales y patológicos. Rev. Méd. de Costa Rica. 15 (168): 85-90
10. Burgos, M.A. 1968. Contenido alcaloidal de especies costarricenses de Datura stramonium L. (tapote). Facultad de Farmacia. Universidad de Costa Rica. Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio". San José. Costa Rica. 13 p.
11. Bulow, M. T. 1941. Medicina aborigen. Contribución a la prehistoria de la medicina en Costa Rica. Rev. Méd. de Costa Rica 7 I: 30.
12. Calderón, S. 1941. Flora Salvadoreña. Lista preliminar de plantas de el Salvador. 2º Edición. Imprenta Nacional. San Salvador. El Salvador. Centro América. 450 p.
13. Castro, A. y S. Sequeira. 1976. Acción inhibitoria de Allium sativum sobre Trichophyton rubrum, Epidermophyton floccosum y Microsporum cassisi. Investigación. Facultad de Farmacia. Universidad de Costa Rica. Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio". San José. Costa Rica. 35 p.
14. Castro, C.O. 1973. Estudio preliminar sobre la Verbena litoralis. Depto. de Química. Facultad de Ciencias y Letras. Universidad de Costa Rica. Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio". San José. Costa Rica. 20 p.
15. Chacón, S. y C. Arias. 1979. Plantas Medicinales. Escuela de Biología. Facultad de Ciencias. Introducción a la flora de Costa Rica. Monografía. Universidad de Costa Rica. San José. 5 p.
16. Centro de Comercio Internacional. 1974. Mercados de determinadas plantas medicinales y de sus derivados. Ginebra. 21 p.
17. Ciccio, J.F., J.G. Calzada, W. Montero y L.J. Poveda. 1978. Estudio fitoquímico preliminar de la familia Compositae de Costa Rica. I. Lactonas sesquiterpénicas. Rev. Biol. Trop. 26. (1) : 159-165.

18. Ciccio, J.F. y R.G. Chavarría. 1974. Estudio fitoquímico de Stemadenia glabra Benth. (Apocynaceae) I. Análisis Alcaloidad. Brenesia N° 4. 1-3 p.
19. Claus, E. 1968. Farmacognosia. Librería "El Ateneo". Editorial. Buenos Aires. Argentina. 533 p.
20. Dalta, S.C. y U.U. S. Murti y I.R. Seshadni. 1969. A new synthesis of zapotin, zapotinin and relate of flavones. Ind. J. Chem. Sec. B. 7 (8): 746-750.
21. Dixon, W.J. y F.J. Jr. Massey. 1957. Introduction to statistical analysis. Editorial Mc. Graw - Hill Book Co, Inc. 2º ed. 488 p.
22. Duke, S.J. 1972. Isthmian Ethnobotanical dictionary. Fulton, Maryland. 21 p.
23. Eberhardt, P.M. 1927. Las plantas medicinales et leurs propriétés. Encyclopédie pratique du naturaliste. X. Editeur Paul Lechevalier. 12 Rue de Tournon, 12. Paris VIº 136 p.
24. Font, P. 1962. Plantas medicinales. El Dioscórides Renovado. Labor, Madrid. España.
25. Ganong, W. Manual de Fisiología Médica. 6º edición. Editorial El Manual Moderno. México, D.F. México. 666 p.
26. García, C.E. 1941. Consideraciones de pronóstico de la Hipertensión arterial. Rev. Méd. de Costa Rica. 7 (81): 379-382.
27. García, M. 1982. Efectos de la fracción IV del veneno de Bothrops asper sobre la presión sanguínea y el electrocardiograma de ratas albinas. Investigación. Escuela de Biología. Facultad de Ciencias y Letras. Universidad de Costa Rica. Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio". San José. Costa Rica. 39 p.

28. Ginzburg, S. 1976. Medicinal plants used by the Bribí and Cabécar Indians of Costa Rica. Grinnell College. A.C.M. Field Program. 36 p.
29. Gómez, A. et al. 1914. Flora de Cuba (Datos para su estudio). Imprenta y Papelería de Ramblea, Bouza y Cfs. Habana, Cuba. 178 p.
30. Guerra, F. 1977. La evaluación farmacológica de las fuentes históricas sobre la medicina precolombina. Simposio Internazionale sulla medicina Indígena e Popolare. dell'América Latina. 9. "La Roma" 39-46 p.
31. Guyton, A. 1971. Tratado de fisiología Médica. 4ª edición. Nueva Editorial Interamericana. México D. F. México 1084 p.
32. Holdridge, L.R. y L.J. Poveda. Arboles de Costa Rica. I. Palmas, otras monocotiladógenas, arbóreas y árboles con hojas compuestas o lobuladas. Centro Científico Tropical. San José. Costa Rica. 546. p.
33. Hong, N., N. Gómez, y L. zúñiga. 1977. Análisis alcaloidal preliminar de Magnolia poasana (Magnoliaceae) Tesis. Facultad de Farmacia. Universidad de Costa Rica. 22 p.
34. Houssay, B. y otros. 1980. Fisiología Humana. 5ª ed. Librería "El Ateneo". Buenos Aires. Argentina. 972 p.
35. I.M.E.P.L.A.M. 1977. (Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales. Medicina Tradicional. Casimiroa edulis. Llave et Lex. Zapote blanco. I: (1): 1-3
36. Ingiana, J; L. Chaves y V. Campos. 1975. Estudios Farmacológicos de los extractos de hojas de Pernetia coriacea Klot (arrayán) en el perro anestesiado. Revista de Ciencias Farmacéuticas de Costa Rica. 13-37 p.
37. Iriarte, J. y otros. 1956. The constituents of Casimiroa edulis. Llave et Lex. Part II. The Bark J. Chem. Soc. 4170-4175.

38. I.T.C.O. 1976. Instituto de tierras y colonización. Las principales plantas medicinales de Costa Rica. Depto. de organización y capacitación campesina. Serie de divulgación campesina. Nº 8. San José. Costa Rica. 25 p.
39. Kaplan, N. 1980. Hipertensión Clínica. Editorial El Manual Moderno. S.A. México, D.F. México. 454 p.
40. Kincl, F.A. y otros. 1956. The constituents of *Casimiroa edulis*. Llave et Lex. part I. The Seed. J. Chem. Soc. 4163-4168.
41. León, A. G. 1964. Estudio de algunas especies botánicas conocidas en Nicaragua como medicinales. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Nicaragua. León, Nicaragua. Centro América. 58 p.
42. Lazaeta, A.M. 1979. La medicina natural al alcance de todos. 14ª ed. pax. México. Librería Carlos Césarman S.A. México, D.F.. México. 479 p.
43. Lozoya, X, y R. Enríquez. 1981. El zapote blanco, investigación sobre una planta medicinal mexicana. Consejo Nacional de ciencia y tecnología. Ciencia y desarrollo. México, D.F.: México. 134 p.
44. Lozoya, et al. 1978. Aislamiento de una sustancia hipotensora de la semilla de *Casimiroa edulis*, Arch. Inv. Méd (México) 9 (4): 565-573.
45. Lozoya, X. y otros. 1977. Farmacodinamia de los extractos acuoso y alcohólico de la semilla de *Casimiroa edulis*. Arch. Inv. Méd. (México) 8 (2): 145-154.
46. Lynch, S.J. 1943. The dade white-sapote. Florida, Agriculture. Exp. Sta. Press. Bulletin. 581: 1-4.
47. Mayor, T. and F. Dürsch. 1958. N,N - Dimethylhistamine, a Hypotensive principle in *Casimiroa edulis*. Llave et Lex. J. Org. Chem. 23 (7): 1564-1565.

48. Mata, A.C.L. 1945. Consideraciones y ensayos sobre la producción comercial de drogas botánicas en Costa Rica. Rev. Univ. de Costa Rica. 1-14
49. Mechoulam, R. y otros. 1961. The structure of zapotidine. J. Am. Chem. Soc. 83 (1): 2022-2023
50. Meisels, A. and F. Jondheimer. 1957. The constituents of *Casimiroa edulis*. Llave et Lex. III. The structure of Casimiroin. J. Chem. Soc. 79: 6328-6333.
51. Meneses, H. J. 1972. La hipertensión arterial II. *Semana Médica de Centroamérica y Panamá.* Vol XX (6): 134-137
52. Meneses, H.J. 1972. La hipertensión arterial V. *Semana Médica de Centroamérica y Panamá.* Vo XX (9): 228-232
53. Menger, F. y otros. 1976. *Química Orgánica.* Fondo educativo Interamericano. Bogotá. Colombia, 528 p.
54. Ministerio de Economía, Industria y Comercio. 1976. *Estadística Vital-1974.* Dirección General de Estadística y Censos. Departamento Estadísticas Sociales. Sección Estadística Vital. San José. Costa Rica. 88 p.
55. Montiel, M. 1980. *Introducción a la Flora de Costa Rica.* Editorial Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 246 p.
56. Moralses, W. 1973. *Algunas plantas medicinales costarricenses de uso popular en el Valle Central.* Facultad de Farmacia. Universidad de Costa Rica. San José. Costa Rica. 55 p.
57. Moss, G.P. y otros. 1979. Structure of the limonoid triperpene zapoterin. J. Chem. Soc. Org. 5: 694-695.
58. Mustard, M. 1952. Ascorbic acid content of some miscellaneous tropical and subtropical plants and plants product. Food Res. 17 (1): 31-35.

59. Naranjo, P. 1977. La Medicina Precolombina. Simposio Internazionale sulla Medicina Indígena e Popolare. dell' América Latina. 9 "La Roma". 27- 37
60. Noger, Reizzoli - Larousse. 1977. El gran Larousse de la Medicina, su médico en casa. 2. Editorial Noguer S.A. Barcelona. 342-346
61. Núñez, M.E. 1975. Plantas medicinales de Costa Rica y su folclore. Editorial Universitaria. Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio". San José, Costa Rica. 279 p.
62. Panzica, R. and Townsend, V. 1973. The total synthesis the alkaloid Casimiroedine, and Imidazole Nucleoside. J. Am. Chem. Soc. 95 (24): 8737-8740.
63. Pérez, C. R. 1938. Sinopsis de medicina vegetal. Conocimientos útiles de alcance de todas las plantas medicinales. Imprenta Borrásé Hns. San José, Costa Rica. 434 p.
64. Perrot, E. et Paris, R. 1971. Les plantes médicinales. 2. Presses Universitaires de France. Francia, 118 p.
65. Pittier, H. 1957. Ensayo sobre Plantas Ikuales de Costa Rica. 2º ed. Serie Ciencias Naturales Nº 2. Editorial Universitaria. San José, Costa Rica. 264 p.
66. Quirós, C.M. 1941. Plantas de nuestro país que podrían utilizarse para la obtención del Aceite de chaulmugra. Rev. Méd. de Costa Rica. 9 (90): 8-10.
67. Quirós, C. M. 1945. Botánica aplicada a la farmacia. (comprende las especies extranjeras y las plantas medicinales de Costa Rica, correspondientes a las familias aquí estudiadas). Escuela de Farmacia. Universidad de Costa Rica. Tomo II. San José, Costa Rica. Centro América. 211 p.

68. Ramírez, M.F. y R.J.L. Quirós. 1981. Estudio de las alteraciones fisiológicas provocadas por las fracciones de veneno de Bothrops asper. Universidad de Costa Rica. Facultad de Farmacia. Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio". San José, Costa Rica. 29 p.
69. Ramírez, J y G. Alcocer. 1902. Sinonimia vulgar y científica de las plantas mexicanas. Oficina tipográfica de al Secretaría de Fomento. México. 40 p.
70. Rivera, L.D.I. 1979. Guía de laboratorio para el curso de Introducción a la Flora de Costa Rica. Escuela de Biología. Universidad de Costa Rica. Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio". San José. Costa Rica. 205 p.
71. Rodríguez, A. 1962. Nuevos conceptos sobre la fisiopatología de la hipertensión esencial. Tesis Doctoral. Univesidad de El Salvador. Facultad de Medicina. San Salvador. El Salvador. Centro América. 47 p.
72. Roque, J.M. 1941. Flora medicoguatemalteca. Apuntes para la materia médica de la República de Guatemala. Tomo I. Guatemala. Centro América. 187 p.
73. Sáenz, J.A. 1964. Contribución al estudio fitoquímico de plantas costarricenses. I. Análisis alcaloidal. Rev. Biol. Trop. 12 (1): 67-70.
74. Sáenz, J.A. y M. Nassar. 1965. Phytochemical screening of Costa Rica plants: alkaloid analysis II. Rev. Biol. Trop. 13 (2): 207-210.
75. Sáenz J. A., y M. Nassar. 1967. Phytochemical screening of Costa Rican plants: Alkaloid Analysis III. Rev. Biol. Trop. 15 (1): 195.
76. Sarkis, S.A. y V.M. Campos. 1955. Medicamentos populares de la Meseta Central y la Zona Atlántica; comprendiendo medicina y costumbres indígenas y de los habitantes de color. Tesis. Facultad de Farmacia. Universidad de Costa Rica. 111pp.

77. Sarkis, S. y V.M. Campos. 1981. Curandismo tradicional costarricense. 2ª edición. Editorial Costa Rica. San José, Costa Rica. 176 p.
78. Schroeder, C.A. 1954. Fruit morphology and anatomy in the white-zapote. Botanical Gazette. 115 (3): 248-254.
79. Sievers, A.F. and E.C. Higkee. 1948 Plantas Medicinales de regiones tropicales y sub-tropicales. Publicación agrícola N° 154-158. Unión Panamericana. Washington.D.C. 80 p.
80. Sondheimer, F., A. Meisels and E. Kincl. 1959. Constituents of Casimiroa edulis. Llave et Lex. V. Identity of Casimiroliid and Obacunone. Org. Chem. 24 (1): 870
81. Sondheimer, F. And A. Meisels. 1958. The constituents of Casimiroa edulis. Llave et Lex. IV. Identificación of Edulein with 7 - Methoxy - 1 - methyl - 2 - phenyl 4 - quindone. Org. Chem. 23 (1): 762-763.
82. Standley, P.C. 1968. Flora of The Panama canal zone. Reprints of Us - floras. Edited by J. Cramer, Vol. 1. New York, E.U.A. 416 p.
83. Standley, P.C. 1937. Flora de Costa Rica. Fieldiana: Botany 18 (3).
84. Standley, P.C. y S. Calderón. 1944. Lista preliminar de las plantas de El Salvador. 2ª edición. Tipografía La Unión, Dutroz Hns. San Salvador. El Salvador 450 p.
85. Standley, P.C. y J. Steyermark. 1946. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24 Part V. Published by Chicago Natural History Museum. 398-404.
86. Stone, D. 1948. Costa Rica y sus indios. Boletín de la Unión Panamericana. Organización de los Estados Americanos. Secretaría General, Unión Panamericana. Volumen LXXII n° 9. Washigton, D.C. 502 p.
87. Thomson, W. 1980. Guía práctica ilustrada de las plantas medicinales. Editorial Blume. Barcelona. España. 220 p.

88. Vander, A. 1977. Plantas medicinales. Las enfermedades y su tratamiento por las plantas. Ediciones Adrian Vander Put. Editorial y Librería Sintés-Ronda Universitaria. 4. Barcelona, España. 254 p.
89. Velez, S.F. 1946. Importancia de las plantas medicinales para la terapéutica y la economía de Venezuela. Comité Ejecutivo. Tercera Conferencia Interamericana de Agricultura. Litografía y Tipografía Vargas. Caracas. Venezuela. 106 p.
90. Vezaga, F. Botánica Indígena. Biblioteca Aldean de Colombia. Selección Samper Ortega de Literatura Colombiana. Publicaciones del Ministerio de Educación Nacional. Editorial Minerva, S.A. Bogotá, Colombia. 158 p.
91. Wartak, J. 1977. Interpretación de electrocardiogramas. Nueva Editorial Interamericana. México D.F. México. 77 p.
92. Woodson, R., R. Schery and collaborators. 1979. Flora of Panamá. Family 89. Rutaceae. Ann. Miss. Bot. Gar. 66 (2) 123-124.