

26
m



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

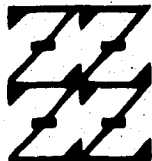
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIDIARREICA DE
DIFERENTES EXTRACTOS DE *Hamelia patens*,
Alternanthera repens Y *Waltheria americana*.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO · BIOLOGO
P R E S E N T A :
EDGAR HERNANDEZ ZAMORA

U N A M
F E S
Z A R A G O Z A



LO HUBIERO DADO
DE NUESTRA SOLUCION

MEXICO, D. F.

OCTUBRE 1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**Estudio de la actividad antidiarreica de diferentes
extractos de *Hamelia patens*, *Alternanthera repens* y**

***Waltheria americana*.**



JURADO

PRESIDENTE: M. en C. BENITA MENDIOLA GARCIA.
VOCAL: M. en Q. MIGUEL ANGEL ZAVALA SANCHEZ.
SECRETARIO: Q.F.B. YOLANDA FLORES CABRERA.
SUPLENTE: Q.F.B. ENRIQUETA CASTREJON RODRIGUEZ.
SUPLENTE: Q.F.I. ESTELA VALENCIA PLATA.

LUGAR DONDE SE DESARROLLO EL PROYECTO:

Laboratorio G-304
Departamento de Sistemas Biológicos
Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco.

SUSTENTANTE:

EDGAR HERNANDEZ ZAMORA

DIRECTOR:

M. en Q. MIGUEL ANGEL ZAVALA SANCHEZ.

ASESOR:

Q.F.B. YOLANDA FLORES CABRERA.

INDICE

	Pag.
Resumen	1
Introducción	2
Fundamentación teórica	4
Plantas motivo de este estudio	13
Planteamiento del problema	19
Hipótesis de trabajo	20
Objetivo	21
Objetivos particulares	21
Diagrama de flujo	22
Materiales y Métodos	23
Resultados y análisis	31
Conclusiones	47
Propuestas y/o recomendaciones	48
Referencias	49

INDICE DE TABLAS

	Pag.
Tabla 1. Resultados de la evaluación preliminar de la actividad antidiarreica de los extractos hexánico, clorofórmico, metanólico y acuoso (50 y 100 mg/kg) de <i>Waltheria americana</i> , <i>Hamelia patens</i> y <i>Alternanthera repens</i> sobre ratones con diarrea inducida por aceite de castor.	31
Tabla 2. Efecto de diferentes dosis de extracto metanólico (50 y 100 mg/kg) de <i>H. patens</i> sobre la defecación normal de ratones CD-1.	33
Tabla 3. Resultados de la actividad antidiarreica del extracto metanólico de <i>H. patens</i> en ratones CD-1 con diarrea inducida por aceite de castor 30 o 60 minutos antes del agente catártico.	34
Tabla 4. Resultados de la actividad antidiarreica del extracto metanólico de <i>H. patens</i> sobre ratones con diarrea inducida por sulfato de magnesio. El extracto se administró 30 o 60 minutos antes del inductor de diarrea.	36
Tabla 5. Efecto de diferentes dosis de extracto metanólico (50 y 100 mg/kg) de <i>A. repens</i> sobre la defecación normal de ratones CD-1.	40
Tabla 6. Actividad antidiarreica del extracto metanólico (12.5 a 100 mg/kg) de <i>A. repens</i> sobre ratones con diarrea inducida con aceite de castor.	41
Tabla 7. Actividad antidiarreica del extracto metanólico (12.5 a 100 mg/kg) de <i>A. repens</i> sobre ratones con diarrea inducida con sulfato de magnesio.	42

INDICE DE FIGURAS

	Pag.
<i>Hamelia patens</i> Jaq.	14
<i>Alternanthera repens</i> L.	16
<i>Waltheria americana</i> L.	18
Figura 1. Efecto inhibitorio del extracto metanólico de <i>H. patens</i> sobre el tránsito intestinal de ratas Wistar. El extracto se administró a dosis de 100 mg/kg.	37
Figura 2. Efecto del extracto metanólico de <i>H. patens</i> sobre íleon de rata Wistar. Las dosis usadas fueron de 0.5 a 8.0 mg/ml.	38
Figura 3. Resultados de la evaluación del extracto metanólico de <i>A. repens</i> a dosis de 50 mg/kg sobre el tránsito intestinal de ratas Wistar administradas con aceite de castor.	44
Figura 4. Resultados de la evaluación del extracto metanólico de <i>A. repens</i> sobre íleon de rata Wistar a dosis de 0.1 a 3.0 mg/ml.	45

*A Dios
Por guiar mi camino.*

*A mi madre
Por todo su amor.
A mi padre
Por ser importante para mi.*

*A Miguel Angel Zavala S.
Por tu guía, exigencia, ejemplo,
apoyo y comprensión.
A Yolanda Flores C.
Por tus observaciones y sugerencias,
tu sencillez y gran optimismo.
A la Dra. Salud Pérez G. por sus correcciones
y valorar mi trabajo.*

*A Lucy, Martha, Norma y Andres
Por su amistad y aliento.
A José Manuel Cruz C.
Siempre has sido un gran ejemplo,
por tu empeño, valor y espíritu de superación.*

*A todos mis profesores de la FES Zaragoza, en especial a:
Enriqueta Castrejon, por confiar en mi,
Gloria Peralta, Magdalena Ordoñez y Victor Corvera,
ustedes son un ejemplo por su dedicación y sencillez.*

*Y a alguien muy especial, por tu amor y estar a mi
lado en los momentos difíciles... te amo.*

GRACIAS.

RESUMEN

Las enfermedades gastrointestinales son frecuentes en países en desarrollo y se relacionan directamente con los casos de diarrea. Los fármacos antidiarreicos están indicados como medidas secundarias al uso de agentes específicos, aunque su empleo puede producir efectos adversos.

En la medicina tradicional se utilizan diferentes plantas para combatir la diarrea, sin embargo, muchas de ellas no se han evaluado farmacológicamente.

Con base en lo anterior se planteó como objetivo "Evaluar la actividad antidiarreica de los extractos de hexano, cloroformo, metanol y agua, de *Hamelia patens* Jaq., *Alternanthera repens* L. y *Waltheria americana* L." utilizando diferentes modelos farmacológicos, tanto *in vivo* como *in vitro*.

Los resultados obtenidos permiten afirmar que: *Waltheria americana* no posee actividad antidiarreica, los extractos metanólicos de *H. patens* y *A. repens*, disminuyen la diarrea inducida por aceite de castor o sulfato de magnesio de ratones cepa CD-1 y modifican la defecación normal de éstos, inhiben la actividad contráctil del intestino *in vitro* y disminuyen el tránsito intestinal en ratas Wistar.

Por lo anterior se concluye que *Hamelia patens* y *Alternanthera repens* poseen la actividad antidiarreica que se les atribuye en diferentes libros de medicina tradicional.

INTRODUCCION

En países en desarrollo, las enfermedades gastrointestinales son causa de un alto índice de morbilidad y mortalidad. En México, este tipo de enfermedades son muy frecuentes y se relacionan directamente con los casos de diarrea; la cual generalmente, está asociada a las condiciones sociales, económicas, biológicas y del medio ambiente.

En nuestro país, en el año de 1993 se reportaron 1 902 696 casos de infecciones gastrointestinales, de los cuales el 13 % correspondió al Distrito Federal.¹ En muchos casos la diarrea es el síntoma más peligroso de estas infecciones; ya que, involucra un cambio en el funcionamiento normal del intestino y además interrumpe las actividades normales del ser humano. Frecuentemente se hace necesario el confinamiento en cama y en casos severos se requiere de la hospitalización, principalmente para reponer la pérdida de líquidos y electrolitos.² Por las razones antes expuestas es necesario disminuir o aliviar la diarrea, sobre todo en aquellos casos en los cuales el síntoma es severo.

Los fármacos antidiarreicos sólo están indicados como medidas secundarias al uso de agentes específicos, generalmente de tipo antiinfeccioso, y sólo con el propósito de reducir las molestias del paciente. Para combatir la diarrea se usan opiáceos (difenoxilato) y derivados de estos (loperamida); sin embargo, el empleo de este tipo de medicamentos conlleva el riesgo de producir efectos secundarios no deseados como: depresión respiratoria, constipación, analgesia y en algunos casos adicción.³

Durante la primera mitad del siglo XX los productos naturales recibieron poca atención como fuentes potenciales de nuevos fármacos; sin embargo, desde 1952 cuando se aisló la reserpina

de *Rauwolfia serpentina* y se utilizó en el tratamiento de la hipertensión, se regresó al estudio de las plantas usadas en la medicina tradicional.

En la actualidad, las plantas se consideran como una fuente potencial para la obtención de nuevos fármacos.⁴

En la medicina tradicional se encuentra el uso de diferentes plantas para combatir problemas gastrointestinales como: la diarrea y la disentería. Aunque algunas de estas plantas han sido estudiadas ampliamente desde el punto de vista químico, muchas no han sido evaluadas farmacológicamente.

Con base a lo anterior, en el presente trabajo se propone evaluar la actividad antidiarreica de las plantas: *Hamelia patens* Jacq., *Alternanthera repens* L. y *Waltheria americana* L., en diferentes modelos farmacológicos, para determinar si estas plantas poseen la actividad biológica que se les atribuye en la medicina tradicional.

FUNDAMENTACION TEORICA**Diarrea**

La diarrea se relaciona con alteraciones de la función motora del intestino y se caracteriza por un aumento en la velocidad del tránsito intestinal, con disminución de la consistencia de la materia fecal en virtud del aumento de agua y restos de alimento que existen en el excremento.

Para que una evacuación sea considerada como un síntoma de diarrea, no debe tomarse en cuenta únicamente el número de estas, también se requiere que la función motora del intestino se encuentre alterada y por lo tanto, se debe encontrar un aumento en el peristaltismo, lo cual originará que los contenidos, gástrico o del intestino delgado que son de consistencia líquida, pasen prematuramente al colon, presentándose una expulsión más rápida de heces líquidas y pastosas.

La diarrea puede ser originada por diversos factores, como son:

a) Alteraciones del contenido intestinal; por ejemplo, ocasionadas por laxantes y purgantes, protozoarios, metazoarios, alimentos irritantes, alimentos mal masticados o mal digeridos en el estómago o en el intestino delgado, fermentaciones o putrefacciones exageradas, reacciones alérgicas a medicamentos o alimentos.

b) Alteraciones de la pared intestinal, como: procesos inflamatorios de causa infecciosa (local o general), parasitaria, tóxica o alérgica, estados carenciales, tales como, pelagra, anemia perniciosa, neoplasmas benignos o malignos, granulomas por sífilis, tuberculosis, micosis, enteritis regional, causas operatorias, tales como, gastroenterostomía, entero-enterostomía,

causas vasculares (embolias, trombosis, ateritis, aneurisma o arteroma), diverticulosis intestinal, fistulas no quirúrgicas gastro-yeyunal, gastro-cólica o yeyuno-cólica.

c) Por causas extracelulares ocasionadas por enfermedades de los anexos digestivos (hígado y páncreas), como: hepatitis aguda y crónica, cirrosis hepática, carcinoma del hígado, síndrome de Banti, pancreatitis aguda y crónica, carcinoma del páncreas, pyleflebitis agudas y crónicas, vías biliares, nerviosa, funcional (psiconeurosis) u orgánica, parálisis general o tumores nerviosos, endocrinas, intoxicaciones endógenas, por gota, obesidad, uremia o diabetes, cardín-vascular y renal, como, insuficiencia cardíaca, pericarditis, glomérulo-nefritis agudas y crónicas, hemática, tales como, púrpuras, leucemias y anemias lipo e hipercrómicas.

En resumen, el diagnóstico del estado agudo o crónico de la diarrea, se ha basado en su origen, el cual puede radicar en el tubo digestivo o sus anexos, hígado, vías biliares y páncreas, o bien fuera de él, en padecimientos generales como: tifoidea, paratifoidea, cólera, septicemias diversas y phloemias. En otros casos la diarrea constituye toda la enfermedad y aparece como el síntoma dominante.⁵

La diarrea no debe de ser tratada como un síntoma aislado el cual puede corregirse por medio de "taponés", más o menos efectivos, para su tratamiento es preferible atacar la causa que la origina; sin embargo, aún en la actualidad el médico general recurre a purgantes, laxantes, enemas y desinfectantes, cuya acción es más perjudicial que benéfica, ya que estos agentes originan un estado de irritación permanente del tubo digestivo que perpetúa las molestias en lugar de corregirlas. En los casos de diarrea aguda, la dieta rigurosa, la retidratación y el tratamiento con medicamentos es suficiente, en tanto que el intestino recupera su normalidad.⁵

El músculo liso

El músculo liso se divide de acuerdo a sus propiedades fisiológicas, en dos grupos, unitario y multiunitario; los músculos de las vísceras como el intestino y el útero son músculos unitarios, los músculos ciliares y la membrana del ojo, músculos multiunitarios.

El músculo unitario se caracteriza por presentar motilidad espontánea y por tener una alta sensibilidad al estiramiento. Generalmente la actividad espontánea está modificada y coordinada por el sistema nervioso autónomo, aún cuando la excitabilidad del músculo está influenciada solamente por el estiramiento, ya que las células del músculo liso unitario se comportan como receptores del estiramiento, actuando de manera similar al marcapaso cardíaco. Los estimulantes musculares como la acetilcolina aumentan su actividad muscular, mientras que otros como la epinefrina la inhiben.⁶

Intestino delgado

En el intestino delgado, se describen habitualmente tres tipos principales de movimientos:

a) Movimientos de segmentación rítmica.- En un fragmento inmóvil de intestino, se producen a intervalos regulares constricciones que lo dividen en pequeños segmentos ovoides. Cada uno de estos segmentos se divide en dos partes por una constricción que ocupa su región central, y desaparecen entonces las constricciones primitivas. Este proceso se repite varias veces a razón de 6 a 10 veces por minuto en el hombre, no tiene efecto traslatorio, ya que los alimentos permanecen en el mismo sector del intestino. Pero en cambio favorecen la mezcla del contenido intestinal con los jugos gástricos; facilitan el contacto de dicho contenido con las vellosidades de la mucosa intestinal, y exprimen la linfa y la sangre venosa de las paredes

intestinales, promoviendo su circulación. Estos movimientos no dependen del sistema nervioso, ocurren en el intestino completamente desnervado o en trozos musculares desprovistos de plexos nerviosos, y se producen sin modificación después de la aplicación local de cocaína o nicotina, fármacos que paralizan la acción nerviosa. Las contracciones rítmicas parecen ser miógenas.

b) Movimientos peristálticos.- Estos movimientos son ondas de constricción que corren a lo largo del esófago, el estómago y el intestino. Estas son de dos tipos: 1) Ondas lentas, que viajan a razón de 1 a 2 cm por minuto y que sólo recorren una porción limitada del intestino delgado, y 2) Ondas rápidas (hasta 25 cm por segundo) que recorren sin detenerse porciones muy largas del intestino, y a veces todo el trayecto intestinal.

Las ondas lentas se originan por un reflejo iniciado por el bolo alimenticio y con participación del plexo de Auerbach cuyo efecto es la contracción de la porción del intestino inmediatamente por arriba del bolo y la relajación de la porción distal (reflejo mientérico). Ambas fases de contracción y relajación constituyen una onda que recorre una breve porción del intestino. La excitación de un sector de intestino (por aplicación de una fuerza, por ejemplo) determina una contracción por encima y una relajación por debajo del punto excitado; este reflejo se produce aun en el intestino privado de sus conexiones nerviosas con el resto del organismo, pero desaparece con la aplicación local de cocaína o de nicotina. La consecuencia de las ondas peristálticas del intestino es la progresión del bolo alimenticio y se ha demostrado que el avance se hace en forma de espiral, quizá debido a la disposición de las fibras longitudinales.

Las ondas peristálticas rápidas son más frecuentes y recorren más camino cuando es mayor el estado de actividad del intestino. Se ha demostrado que la mejor manera de iniciar estas ondas

es la administración de líquidos; y a veces el acto de deglución basta para iniciarlas. Parece ser que este tipo de contracción peristáltica es reflejo.

Cuando el intestino se vacía, cesan los movimientos peristálticos y se establecen largos periodos de reposo que alternan con fases de actividad (estado basal). Si se impide la propulsión del contenido por una obstrucción, aumenta la violencia de la contracción peristáltica.

c) Movimientos pendulares.- Se han descrito movimientos pendulares que consisten en alargamiento y acortamientos rítmicos de cortos segmentos del intestino. Estos movimientos, que se producen unas 10 o 20 veces por minuto, no hacen progresar el contenido intestinal, sino que contribuyen a su mejor mezcla con los jugos gástricos y a un mayor contacto con las vellosidades intestinales.⁷

Agentes catárticos

Los agentes catárticos son sustancias que, administrados por vía oral, aceleran el paso del contenido intestinal a lo largo del tubo digestivo, algunos aceites esenciales, como el aceite de ricino o de castor se han usado desde hace muchos años como agentes catárticos o laxantes.

La judía castor (*Ricinus communis*) es la fuente de la cual se obtiene el aceite de castor, el cual es utilizado como laxante.⁴ La digestión del aceite de castor por la acción de las lipasas intestinales libera el ácido ricinoléico, altamente irritante, el cual estimula directamente la actividad peristáltica en el intestino delgado. El contenido intestinal es impulsado tan rápidamente hacia el colon que no tiene lugar la absorción normal de líquido. Una dosis

terapéutica de aceite de castor usualmente produce el paso de heces líquidas en el término de unas pocas horas.⁸

El sulfato de magnesio, así como otras sales inorgánicas, también han sido usadas como agentes catárticos durante cientos de años. Este tipo de sales actúan entre 1 y 2 horas después de su administración por vía oral sobre el estómago vacío. Aunque inicialmente se creyó que este tipo de compuestos actuaban únicamente como "purgantes osmóticos", los cuales provocan que los iones sean poco absorbidos, absorban el agua en el lumen del intestino por osmosis y produzcan evacuaciones más blandas y voluminosas, se ha demostrado que este tipo de sales ocasionan una compleja serie de acciones, tanto a nivel motor como secretorio sobre el tránsito intestinal, los cuales no pueden ser explicados en base a un simple efecto osmótico.

Los efectos conocidos del sulfato de magnesio están estrechamente relacionados con los efectos reportados de la hormona colecistoquinipancroezimina, esta hormona es liberada de la mucosa intestinal en respuesta al sulfato de magnesio y otras sales, y tiene efectos importantes sobre el funcionamiento motor y secretor del tracto gastrointestinal.

En general se ha descrito el siguiente mecanismo de acción del sulfato de magnesio y se ha extendido a otras sales. Las sales provocan la liberación de la colecistoquinipancroezimina, la hormona a su vez estimula la secreción del intestino delgado y pancreática; al mismo tiempo disminuye la reabsorción de cloruro de sodio y agua, lo que da como resultado un incremento en el volumen del contenido intestinal. Como resultado del efecto motor de la hormona, el gran volumen de fluido atraviesa rápidamente el intestino delgado hasta el colon. La gran velocidad en el tránsito intestinal impide también la reabsorción, esto da como origen un cuadro sintomático de diarrea.⁹

Estudio de la actividad antidiarreica de diferentes extractos de Hamelia patens, Alternanthera repens y Waltheria americana. ⁹

Fármacos antidiarreicos.

Muchos fármacos presentan actividad constipante en el humano, sin embargo, para el tratamiento efectivo de la diarrea tradicionalmente se han elegido fármacos opiáceos. Este tipo de fármacos pueden cambiar los patrones de motilidad en todas las partes del intestino, lo cual ocasiona una disminución en la expulsión del contenido intestinal.

Se ha comprobado farmacológicamente, que el difenoxilato en combinación con bajas dosis de atropina es efectivo en el tratamiento de la diarrea. Sin embargo, a mayores dosis de las recomendadas, esta asociación de fármacos producen actividades del tipo opiáceo sobre el Sistema Nervioso Central (SNC), y una sobredosis, especialmente en niños, puede llevar a consecuencias fatales.¹⁰

Estudios realizados sobre diarrea inducida por aceite de castor han demostrado que el difenoxilato a dosis de 0.63 mg/kg inhibe completamente la diarrea en un periodo de 1 hora; sin embargo, para lograr un efecto más prolongado es necesario aumentar la dosis del fármaco hasta 40 mg/kg, dosis que logra un efecto antidiarreico de entre 4 y 8 horas. Se ha encontrado que la DE50 del difenoxilato depende del tiempo de efectividad deseado; para un efecto de 1 hora la DE50 es de 0.15 mg/kg y para un efecto de 8 horas la DE50 es de 4.77 mg/kg. Aunque existe un amplio margen de seguridad en el uso de este fármaco por vía oral, durante su metabolismo se transforma en difenoxin, compuesto que es 5 veces más potente que el difenoxilato; por lo que una sobredosis de este último puede ocasionar un efecto constipante debido a la formación del difenoxin.

Durante el periodo comprendido entre 1956 y 1969 se investigaron cientos de compuestos derivados del difenoxilato para encontrar fármacos más seguros y eficaces. De los más

importantes por su actividad antidiarreica son la loperamida y sus derivados. La loperamida demostró ser más potente y tener un efecto más prolongado que el difenoxilato, a dosis de 1.81 mg/kg la loperamida mostró una actividad antidiarreica durante 8 horas con una alta especificidad.³

Existen otros tipos de fármacos con actividad antidiarreica, como: anticolinérgicos, (atropina e isopropamida), inhibidores de la biosíntesis de las prostaglandinas (indometacina y suprofen), amidinouras (clonidina y lidamidina); sin embargo, los agentes antimuscarínicos inducen midriasis a dosis mucho menores de las que protegen contra la diarrea. En el caso de los inhibidores de la síntesis de las prostaglandinas, se ha demostrado que se requieren dosis altas; por ejemplo, en el caso de la indometacina se requieren dosis poco menores a la dosis letal.³

Plantas usadas en la Medicina Tradicional como agentes antidiarreicos

El hombre, a lo largo de su historia ha tratado de encontrar remedios contra las enfermedades que lo aquejan. Antiguamente las enfermedades se relacionaban con poderes divinos y su cura estaba dada por ritos especiales en los cuáles usaban plantas, animales y minerales para alejar al "espíritu maligno" que las originaba. Posteriormente, se encontraron de manera empírica, plantas a las cuáles se les atribuyeron propiedades medicinales y que se empleaban en forma de extractos, lociones, cataplasmas, infusiones, etc. Sin embargo, en ocasiones estas no tenían el efecto deseado y en algunos casos su efecto resultaba tóxico.

En países como Honduras, Chile, Perú, México y en general en toda Latinoamérica, se emplea una gran cantidad de plantas dentro de la medicina tradicional de cada región y en muchos casos es la única fuente de fármacos, principalmente en la población de bajos recursos.

En libros de medicina tradicional, se mencionan plantas con actividad astringente, constipante y antidiarreica; en la bibliografía especializada también se encuentran estudios realizados sobre algunas de las plantas a las cuales se les atribuye actividad antidiarreica. Entre la gran variedad de plantas usadas para aliviar la diarrea, disentería e infecciones gastrointestinales se encuentran; el arrayán (*Mirtus cimmunis* Lin.), membrillo (*Cydonia vulgaris* Pers.), nispero (*Eriobotra japonica* Lin.), zarzamora (*Rubus fruticosus*),¹¹ malva del monte (*Waltheria americana* L.),^{12,13} cirian (*Crescentia alata* H.B.K.),¹² patita de paloma (*Hamelia patens* Jaq.),¹⁴ tianguispetla (*Alternanthera repens* L.),^{13,15} entre otras, la mayoría de las cuáles no se han evaluado farmacológicamente.

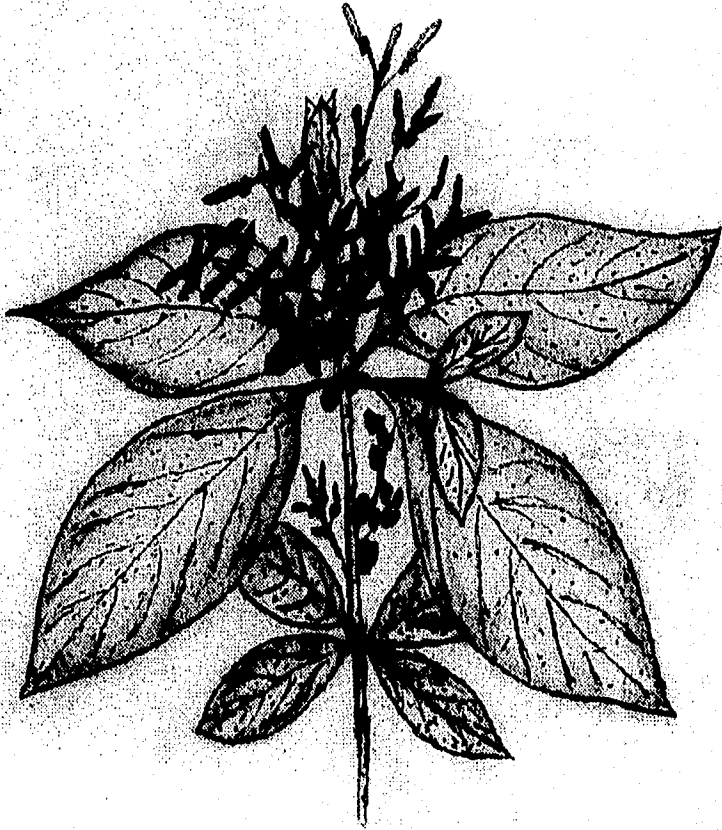
PLANTAS MOTIVO DE ESTE ESTUDIO***Hamelia patens* Jaq.**

Hamelia patens Jaq.; pertenece a la familia Rubiaceae, es un arbusto de aproximadamente metro y medio de alto. Sus hojas son ovaladas de 5 a 20 cm de longitud, su flor es anaranjado-rojiza y su fruto es pequeño, de color rojizo. Se localiza en zonas tropicales, en México, se encuentra en los estados de Veracruz, Hidalgo, Puebla, Oaxaca, Chiapas, Tabasco, Quintana Roo, Campeche, Yucatán y San Luis Potosí.

Hamelia patens es comúnmente conocida con los nombres de Patita de paloma, Coral, Valletilla, Cacaahuapaxtle, Coyolillo (México), zorrillo real (Costa Rica).

En la medicina tradicional se reporta el uso de las hojas y de la planta completa para preparar lociones que alivian los dolores y la inflamación de las piernas, las hojas trituradas se aplican en cortaduras y golpes, ya que tienen efecto antimicrobiano y antiinflamatorio, la planta completa se utiliza para combatir la diarrea hemorrágica (disentería).¹⁴

De las hojas de *H. patens*, se han aislado alcaloides¹⁶⁻²⁰ y flavonoides²¹; sin embargo, en la literatura no se encuentran estudios de su posible actividad biológica.



Hamelia patens

***Alternanthera repens* L.**

Alternanthera repens (L.) Kuntze; esta clasificada dentro de la familia Amaranaceae, se describe como una hierba rastrera, con tallos ramificados, de 10 a 50 cm de longitud. Sus hojas son enteras, de peciolo corto, de forma oval o elíptica y carnosas. Sus flores son blanquecinas o pajizas. El fruto es membranoso con una sola semilla, oval, oscura y lustrosa.^{13,15}

Es una planta nativa de América tropical y subtropical, se extiende desde el sureste de Estados Unidos hasta Argentina. Se encuentra ampliamente distribuida en México, principalmente en Chihuahua, Tamaulipas, Durango, Jalisco, Michoacán, San Luis Potosí, Hidalgo, Estado de México, Distrito Federal, Puebla, Oaxaca y Chiapas.

Kabak-xtes (en maya) es como era conocida la *A. repens* en México desde la época prehispánica, actualmente es llamada Tianguispepetla (Morelos, Hidalgo) y Rosa de Castilla cimarrona (España).

Los antiguos mexicanos usaban infusiones de la planta en gargarismos y buches para las anginas, úlceras en la boca y encías inflamadas, como fomentos en llagas de los genitales externos, como lavativas contra las hemorroides y en cocimientos en casos de disenteria y para aliviar los "ardores de la orina". Actualmente se utiliza la planta completa como antidiarreico, diurético, sudorífico y febrífugo principalmente.²²

En la literatura especializada no se encontraron estudios sobre la actividad farmacológica que se le atribuye en la medicina tradicional.



Alternanthera repens

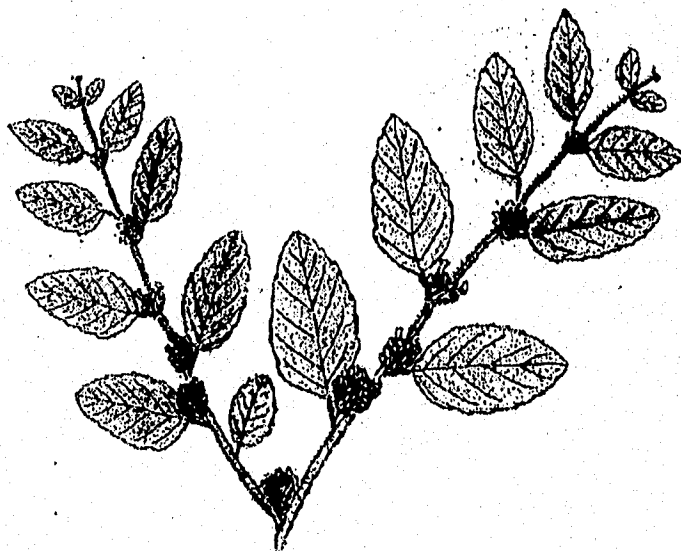
***Waltheria americana* L.**

Waltheria americana; familia Sterculiaceae. Hierba o arbusto de 1 a 2.5 m de altura con hojas alternadas ovadas, de 4 a 6 cm de largo y ápice obtuso o redondeado. Presenta flores amarillas y fruto en forma de cápsula, bivalvada, con 1 a 2 semillas. Esta planta es nativa de México, crece en lugares de clima cálido o semi-cálido, se encuentra dispersa en todo el país.¹²

En algunas regiones de la República Mexicana la *W. americana* es conocida comúnmente como: Tapa cola (D.F. y Guerrero), Malva del monte (Yucatán y Tamaulipas), Hierba del soldado o Hierba del pasmo (Sinaloa).

Se reporta en libros de herbolaria el uso de las hojas y de la planta completa para preparar infusiones con propiedades febrifugas y depurativas. En Tamaulipas se emplea el cocimiento contra enfermedades de la piel, y en Colima para lavar heridas. En el Distrito Federal se utiliza contra diarreas rebeldes.¹³

De la *Waltheria americana* se han aislado algunos alcaloides,²³⁻²⁶ sin embargo no se encontraron estudios de su evaluación biológica.



Waltheria americana

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades gastrointestinales son frecuentes en la población mexicana, las diarreas infecciosas, de origen alimentario, por medicamentos o por intervenciones quirúrgicas previas son muy comunes, por ello la necesidad de descubrir nuevos agentes que reduzcan las molestias y los efectos adversos de este síntoma. Los medicamentos de uso comercial que se emplean actualmente para combatir la diarrea, espasmos estomacales y cólicos entre otros trastornos intestinales, producen efectos adversos debido a que algunos de estos contienen, principios activos que actúan directamente sobre el sistema nervioso, o inducen otros efectos a dosis mucho menores a las que protegen contra la diarrea y ocasionalmente algunos de éstos requieren dosis ligeramente menores a la dosis letal.

En la medicina tradicional se encuentran una diversidad de plantas, a las cuales se les atribuye efectos: astringente, constípante, antiespasmódico o antidiarreico, las cuáles son usadas comúnmente por la población mexicana y por lo tanto deben ser estudiadas formalmente para confirmar o refutar su acción. Por otro lado, en la actualidad se ha incrementado la búsqueda de nuevos fármacos con actividad farmacológica, que presenten menos efectos colaterales y las plantas que poseen actividad biológica son fuentes potenciales para la obtención de este tipo de compuestos.

HIPOTESIS DE TRABAJO

Si las plantas: *Hamelia patens* Jacq., *Alternanthera repens* L. y *Waltheria americana* L., usadas en la medicina tradicional como astringentes, constipantes o antidiarreicas, poseen la actividad terapéutica que se les atribuye, entonces su efecto farmacológico podrá ser evaluado y cuantificado tanto *in vivo*, como *in vitro* en modelos farmacológicos.

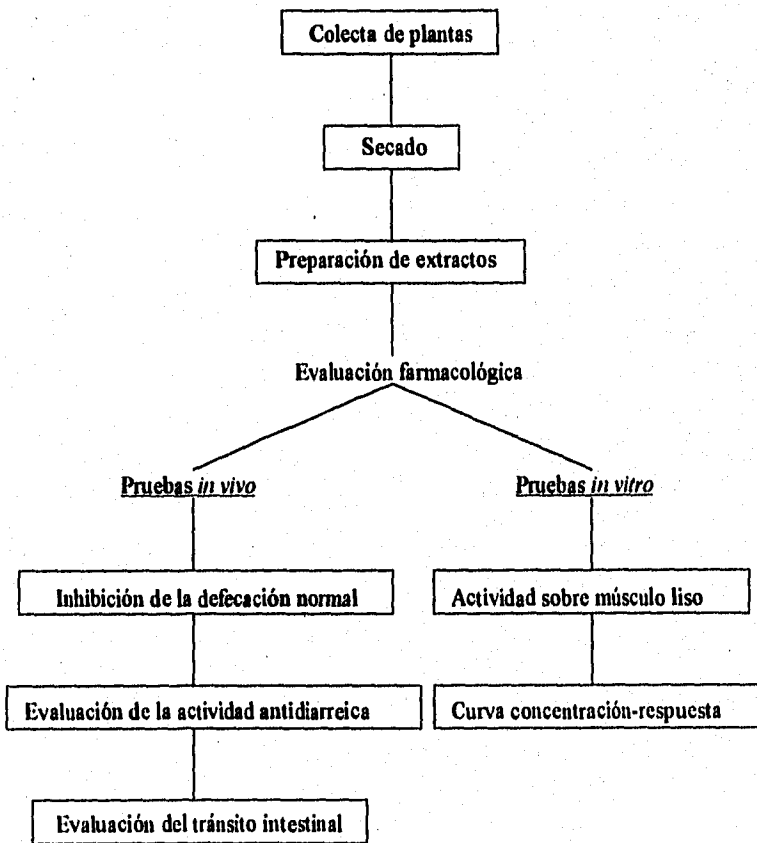
OBJETIVO

Evaluar la actividad antidiarreica de los extractos de hexano, cloroformo, metanol y agua, de *Hamelia patens* Jaq., *Alternanthera repens* L. y *Waltheria americana* L. en diferentes modelos farmacológicos, tanto *in vivo* como *in vitro*.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener los extractos de hexano, cloroformo, metanol y agua, de las plantas *Hamelia patens* Jaq., *Alternanthera repens* L. y *Waltheria americana* L.
- Determinar el efecto de los diferentes extractos en ratones cepa CD-1, con diarrea inducida con aceite de castor y sulfato de magnesio.
- Determinar el efecto de los diferentes extractos sobre la defecación normal en ratones cepa CD-1.
- Estudiar el efecto de los extractos que presenten actividad antidiarreica sobre el tránsito intestinal de rata Wistar.
- Evaluar la actividad de los extractos que presenten efecto antidiarreico, sobre músculo liso (ileon) de rata Wistar.
- Realizar la curva concentración-respuesta de los extractos que presenten actividad sobre músculo liso.

DIAGRAMA DE FLUJO



MATERIALES Y METODOS

Material biológico

Animales: Se usaron ratas Wistar machos (150-200 g) y ratones albinos machos, cepa CD-1 (20-25 g), los cuáles fueron mantenidos en condiciones constantes de: temperatura (21°C), humedad (50%) y ciclos de luz-obscuridad (12 por 12 horas), provistos de comida (alimento para roedores "Purina") y agua *ad libitum*.

Antes de cada experimento los animales se privaron de alimento de 12 a 18 horas y provistos de agua *ad libitum*.

Plantas: La patita de paloma (*Hamelia patens* Jaq.) se colectó en los alrededores de Papantla, estado de Veracruz. El tianguispepetla (*Alternanthera repens* L.) y la hierba del soldado (*Waltheria americana* L.) se compraron en el mercado de Sonora. Las plantas fueron autenticadas por la M. en C. Aurora Chimal, del Departamento del Hombre y su Ambiente de la UAM-X. Las plantas se secaron a la sombra y se molieron.

Materiales

Matraz balón 500 ml (Pyrex).

Refrigerante (Pyrex).

Canastilla de calentamiento (Glas-col apparatus co.).

Cámara para órganos aislados, de vidrio, de doble pared (Pyrex).

Termómetro -10 a 50°C (Taylor).

Jeringas o pipetas Pasteur (Comercial).

Probeta 100 ml (Pyrex).

Vasos de precipitado de 600 ml (Pyrex).
Cajas de Petri (Pyrex).
Cajas de polietileno (Comercial).
Rejillas (tapas) (Comercial).
Papel filtro de filtración rápida (Comercial).
Jeringas de 3 ml (Plastipak).
Sondas para administración oral (Comercial).
Estuche de disección (Comercial).
Charola de disección (Comercial).
Regla (Comercial).

Reactivos

Agua destilada.
Hexano (Merck).
Cloroformo (Merck).
Metanol RA (Merck).
NaCl (Merck).
KCl (Merck).
KH₂PO₄ (Merck).
MgSO₄ (Merck).
NaHCO₃ (Merck).
CaCl₂ (Merck).
Glucosa (Merck).
Tinta india (Winsor & Newton).
Agar bacteriológico (Difco).
Polivinilpirrolidona (Sigma).
Aceite de castor (Comercial).
Goma arábica (Merck).

UNAM

JES-Zamora

Equipo

Evaporador rotatorio Brinkmann-Büchi, mod. R110.

Estufa de vacío GCA/Precision Scientific, mod. 19.

Fisiógrafo Narco Bio-Systems, inc. mod. 7070.

Transductor F60.

MÉTODOS

Preparación de extractos.

En un matraz balón de 500 ml provisto de un refrigerante en posición de reflujo, se colocaron 100 g de planta seca y molida, y 300 ml de disolvente (hexano, cloroformo, metanol o agua), la mezcla se calentó a temperatura de reflujo durante 4 horas, se filtró y el disolvente se eliminó en un evaporador rotatorio a presión reducida. Se obtuvo una cantidad aproximada de 3 a 5 g de cada extracto crudo y seco.

Pruebas *in vivo*

Inhibición de la defecación normal.

Se usó el procedimiento general descrito por Melo y colaboradores.²⁷

Se tomaron 4 lotes de cinco ratones cepa CD-1, los cuales se colocaron en cajas de polietileno provistas con papel filtro en el fondo. A uno de los grupos se les administró por vía oral, una dosis de 50 mg por Kg de peso y a otro 100 mg/Kg de peso del extracto a probar. El tercer lote sirvió como testigo y se administró el mismo volumen del vehículo, polivinilpirrolidona (PVP 5%). Al cuarto lote se le administró difenoxilato a una dosis de 2.5 mg/kg de peso. Después de la administración, se contaron el número de heces de cada grupo durante cuatro horas. La reducción en el porcentaje del número de heces de los grupos tratados en comparación con el grupo testigo fue calculada para cada grupo de animales.

Evaluación de la actividad antidiarreica.

Para la evaluación de la actividad antidiarreica de los extractos se uso la técnica descrita por Megens y Niemegeers.²⁸

A grupos de cinco ratones macho, se les administró por vía oral dosis de 12.5, 25, 50 y 100 mg/kg de peso del extracto a probar. 30 o 60 minutos después de la administración del extracto, se administraron, también por vía oral 0.1 ml de aceite de castor ó 2.0 g/kg de peso de sulfato de magnesio. Se utilizó un grupo testigo; al cuál se le administró el volumen necesario del vehículo (PVP 5%), y un grupo que se administró con difenoxilato a dosis de 2.5 mg/kg, ambas administraciones por vía oral, posteriormente estos lotes fueron tratados de igual manera que los grupos administrados con el extracto. Después de la administración los grupos de animales se colocaron en cajas de polietileno provistas con papel filtro en el fondo. Cada hora, durante 4 horas, se evaluó el número de heces duras, blandas y diarreicas. Los resultados se reportaron en porciento de disminución, comparando el número de heces diarreicas de cada uno de los lotes con el grupo testigo.

Evaluación del transito intestinal.

Para evaluar el efecto de los extractos sobre el transito intestinal se siguió el procedimiento general descrito por Vischer & Casals-Stenzel.²⁹

A dos grupos de quince ratas Wistar cada uno se les administraron por vía oral 1 ml de vehículo (goma arábica al 5%), a un tercer lote se le administró 1 ml del extracto a probar disuelto en el vehículo a una concentración de 50 o 100 mg/Kg; después de 60 minutos, el primer grupo de ratas (testigo negativo) se le administró por vía oral, 1.5 ml de una suspensión

de grafito (tinta india 4%) en agar al 1.5 %, al segundo y tercer grupo se les administro por vía oral 1.5 ml de la suspensión de grafito junto con 1 ml de aceite de castor.

A los 30, 60 y 90 minutos después de la última administración, se sacrificaron por dislocación cervical cinco ratas de cada grupo. Inmediatamente después se extrajo el intestino delgado. Una vez limpio de mesenterio, el intestino se colocó en solución salina (NaCl 0.85 %) sobre una charola de disección en donde se le extendió sin estirarlo, midiendo la longitud total del intestino y la longitud recorrida por la suspensión de grafito. Los resultados se reportaron en porcentaje de recorrido intestinal en cada caso, tomando como 100 % la longitud total del intestino.

Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos de la actividad antidiarreica y de la defecación normal, fueron analizados usando la prueba de Kruskal-Wallis. Los resultados del transito intestinal fueron sometidos a una prueba de t-student y las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey.³⁰

Pruebas in vitro

Actividad sobre músculo liso.

La evaluación de la actividad farmacológica sobre ileon, de los extractos hexánico, clorofórmico, metanólico y acuoso, de *H. patens*, *A. repens* y *W. americana*, se realizó de acuerdo al método descrito a continuación:

Se sacrificó una rata Wistar (150-200 g) por dislocación cervical. Se extrajo el intestino desde el duodeno tomándolo por el mesenterio y se cortó separándolo hasta el ileon, enseguida se depositó en un vaso de precipitado con solución Krebs-Hansseleit a pH 7.6 (composición mM: NaCl 118.0, KCl 4.69, MgSO₄ 1.18, CaCl₂ 2.5, KH₂PO₄ 1.18, NaHCO₃ 25.0, glucosa 11.1), con un sistema de burbujeo de carbógeno (mezcla 5% CO₂ y 95% O₂).³¹ El ileon se cortó en fragmentos de aproximadamente 1 cm de longitud. La preparación se colocó en una cámara para órganos aislados, con solución Krebs-Hansseleit, mantenida a 37°C y con burbujeo de carbógeno, Un extremo del músculo se sujetó a un transductor y el otro al fondo de la cámara sin ocasionar tensión sobre el músculo.

Para la evaluación de la actividad se prepararon suspensiones de cada extracto en solución Krebs con PVP como co-disolvente en una proporción 1:2 con relación al soluto. Una vez que se obtuvo una actividad regular del músculo durante 3 minutos, se agregó a la cámara de órganos aislados el volumen de extracto necesario para tener una concentración final de 1 mg de extracto/ml, registrándose el efecto durante 3 minutos. El registro de la actividad se realizó en un fisiógrafo (Narco Bio-Systems mod. 7070), por medio de un transductor de tensión F60.

Curva dosis-respuesta.

De los extractos metanólicos de *H. patens* y *A. repens* se prepararon soluciones stock a una concentración de 100 mg/ml. De cada solución se tomó una alícuota y se adicionó a la cámara de órganos aislados, la concentración de cada solución en la cámara se incrementó de acuerdo a la respuesta contractil del músculo, hasta alcanzar el mayor efecto inhibitorio. Las concentraciones en la cámara fueron: para *H. patens* 0.5, 1.0 2.0, 4.0, 6.0 y 8 mg/ml y para *A.*

repens 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 1.5 y 3.0 mg/ml, antes de cada adición el músculo se lavó y se dejó que regresara a su actividad normal. Las respuestas se registraron durante 3 minutos. Los resultados se reportan en porciento de área, tomando como 100% el área del registro de la actividad regular.

RESULTADOS Y ANALISIS

En el estudio preliminar se evaluó la actividad antidiarreica de los extractos de hexano, cloroformo, metanol y agua a dosis de 50 y 100 mg/kg de peso, de las plantas *Waltheria americana*, *Hamelia patens* y *Alternanthera repens*, en ratones cepa CD-1 con diarrea inducida por aceite de castor, (tabla 1).

Los resultados obtenidos muestran que únicamente los extractos metanólico y acuoso de *Hamelia patens* y *Alternanthera repens*, disminuyeron significativamente la diarrea a las dosis usadas. Los extractos de hexano y cloroformo de estas plantas no presentaron actividad antidiarreica.

En la evaluación farmacológica preliminar de *Waltheria americana*, se encontró que ninguno de los extractos probados presentó actividad antidiarreica (tabla 1).

TABLA I

Resultados de la evaluación preliminar de la actividad antidiarreica de los extractos hexánico, cloroformico, metanólico y acuoso (50 y 100 mg/kg) de *Waltheria americana*, *Hamelia patens* y *Alternanthera repens* sobre ratones con diarrea inducida por aceite de castor.

DOSIS mg/ml	HEXANO		CLOROFORMO		METANOL		AGUA	
	50	100	50	100	50	100	50	100
<i>H. patens</i>	0	0	0	0	88.9***	100***	38*	43*
<i>A. repens</i>	0	0	4.0 ^{NS}	9.3 ^{NS}	58.2***	42.4***	34*	49**
<i>W. americana</i>	0	0	0	0	17 ^{NS}	19 ^{NS}	0	0

Los resultados se presentan en porcentaje de inhibición y son el promedio de 4 experimentos. Se encontró diferencia significativa respecto al grupo testigo *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001. NS= No se encontró diferencia significativa.

Considerando que: a) no se encontraron diferencias significativas entre las respuestas farmacológicas del extracto metanólico de *A. repens* con respecto al acuoso y que el extracto metanólico de *H. patens* presentó mayor efecto antidiarreico que el extracto acuoso; b) el metanol es un disolvente más fácil de eliminar y por lo tanto, no es necesario someter al extracto a tratamientos técnicos excesivos; y c) en agua se disuelven una gran cantidad de compuestos inorgánicos como sales y algunas de estas pueden provocar irritación del tracto intestinal, lo cual podría enmascarar el efecto antidiarreico del extracto probado; se decidió realizar el estudio de la actividad antidiarreica de los extractos metanólicos de *H. patens* y *A. repens*.

Hamelia patens

Los resultados del extracto metanólico de *H. patens* sobre la defecación normal de ratones cepa CD-1 se muestran en la tabla 2. Se observa que a las dosis usadas (50 y 100 mg/kg de peso), el extracto metanólico de esta planta disminuyó significativamente la defecación normal (50 y 61.1 % respectivamente) en un promedio de 3 horas. Durante la cuarta hora ninguno de los lotes usados mostró heces, por lo que el efecto no pudo ser evaluado.

El mayor efecto inhibitorio del extracto metanólico de *H. patens* (50 y 100 mg/kg), se observó durante la segunda hora del periodo de evaluación, en la cual no se encontraron heces en los lotes administrados con el extracto; sin embargo, durante la tercer hora del periodo de evaluación, el número de heces de los lotes tratados aumentó de tal manera que prácticamente fue igual al del lote testigo.

El difenoxilato mostró un efecto inhibitorio mayor (83.3%) y más prolongado ya que solo durante la primera hora después de la administración del compuesto se encontraron heces en este lote.

Tabla 2

Efecto de diferentes dosis de extracto metanólico (50 y 100 mg/kg) de *H. patens* sobre la defecación normal de ratones CD-1.

Vehículo	0.00
Extracto metanólico 50 mg/Kg	50.00±4.23**
Extracto metanólico 100 mg/Kg	61.10±3.12**
Difenoxilato 2.5 mg/Kg	83.33±4.53***

Los resultados son el promedio de 4 experimentos ± error estándar.

Los resultados son significativamente diferentes respecto al lote testigo **P < 0.01, ***P < 0.001.

Los resultados de la evaluación de la actividad antidiarreica del extracto metanólico de *H. patens* en ratones CD-1 con diarrea inducida por aceite de castor se presentan en la tabla 3.

El aceite de castor presentó su mayor efecto durante las primeras dos horas después de su administración, el efecto del agente catártico disminuyó durante las dos horas siguientes y después de cuatro horas no se observó diarrea significativa en los animales.

Los resultados obtenidos (tabla 3) muestran que el extracto metanólico de *H. patens* en ratones con diarrea inducida por aceite de castor administrado 30 o 60 minutos antes del inductor de diarrea, disminuyó significativamente el número de heces líquidas a las dosis usadas y que la respuesta es dosis-dependiente en el intervalo de 12.5 a 100 mg/kg. También se

puede observar que con la dosis de 100 mg/kg del extracto metanólico de *H. patens* administrado 30 o 60 minutos antes de aceite de castor, la respuesta inhibitoria es muy semejante a la presentada con el difenoxilato (100 % de inhibición), ya que no se encontraron diferencias significativas entre la respuesta de estos 2 lotes.

El mayor efecto antidiarreico del extracto se observó durante las dos primeras horas después de la administración del agente catártico, durante las cuales se observó un aumento en el número de heces duras.

Tabla 3

Resultados de la actividad antidiarreica del extracto metanólico de *H. patens* en ratones CD-1 con diarrea inducida por aceite de castor administrado 30 o 60 minutos antes del agente catártico.

		30 min	60 min
Aceite de castor	Vehículo	0.00	0.00
	Extracto 12.5 mg/Kg	31.25±1.01**	21.02±0.81**
	Extracto 25 mg/Kg	41.57±0.87***	49.1±4.16***
	Extracto 50 mg/Kg	87.00±4.37***	88.9±0.91***
	Extracto 100 mg/Kg	99.93±0.40***	100.00***
	Difenoxilato 2.5 mg/Kg	100.00	100.00

Los resultados son el promedio de 4 experimentos ± el error estándar.

Las diferencias respecto al grupo control fueron significativas a **P < 0.01, ***P < 0.001

En la tabla 4 se presentan los resultados obtenidos con el extracto metanólico de *H. patens* administrado 30 o 60 minutos antes de la administración del $MgSO_4$ (agente catártico) en ratones CD-1.

En esta tabla se puede observar que el extracto metanólico de *H. patens*, presentó actividad antidiarreica en este modelo farmacológico a las dosis usadas y que la respuesta fue ligeramente menor cuando el extracto se administró 60 minutos antes del agente catártico. Con la dosis de 12.5 mg/kg administrada 60 minutos antes del agente catártico, se encontró una inhibición del 14.7 % resultado que no fue significativamente diferente al del lote testigo, sin embargo con esta dosis administrada 30 minutos antes del sulfato de magnesio se observó una diferencia significativa respecto al control (35.4 %; $P < 0.01$). Con las dosis de 25 a 100 mg/kg, no se encontró diferencia significativa a un nivel de confianza del 95 %, con respecto al tiempo de administración (30 o 60 minutos). En la tabla 4 también se puede observar que la respuesta en ambos experimentos es dosis-dependiente, al igual que la observada en la evaluación del extracto sobre diarrea inducida con aceite de castor.

El mayor efecto del extracto se encontró con la dosis de 100 mg/kg administrada 30 o 60 minutos antes del $MgSO_4$, los resultados obtenidos en ambos experimentos con esta dosis no presentan diferencia significativa (90.47 % y 89.48 % respectivamente) y este efecto es comparable al observado con el difenoxilato (2.5 mg/kg) con el cual se observó una inhibición del 100 % cuando el fármaco se administró 30 minutos antes del inductor de diarrea y 98 % cuando éste se administró 60 minutos antes.

Cuando el extracto se administró a dosis de 100 mg/kg 60 minutos antes del agente catártico no se observaron heces líquidas durante las dos primeras horas.

Tabla 4

Resultados de la actividad antidiarreica del extracto metanólico de *H. patens* sobre ratones con diarrea inducida por sulfato de magnesio. El extracto se administró 30 o 60 minutos antes del inductor de diarrea.

		30 min	60 min
Sulfato de magnesio	Vehículo	0.00	0.00
	Extracto 12.5 mg/Kg	35.4±0.96**	14.7±1.82 ^{NS}
	Extracto 25 mg/Kg	55.5±1.98**	41.2±1.56**
	Extracto 50 mg/Kg	80.95±2.59***	76.68±6.47***
	Extracto 100 mg/Kg	90.47±0.33***	89.48±3.89***
	Difenoxilato 2.5 mg/Kg	100.00	98.0±1.71**

Los resultados son el promedio de 4 experimentos ± el error estándar.

NS = No se encontró diferencia significativa.

Los resultados mostraron diferencia significativa respecto al lote testigo. **P < 0.01; ***P < 0.001

Para la evaluación de la actividad del extracto metanólico de *H. patens* sobre el tránsito intestinal de rata Wistar, se utilizó la dosis de 100 mg/kg ya que con esta dosis se encontró el mayor efecto antidiarreico, los resultados se muestran en la figura 1.

En la figura se puede observar que la administración del aceite de castor aumentó apreciablemente la velocidad del recorrido del marcador usado (tinta india y agar).

A los 30 minutos, el extracto a la dosis usada (100 mg/kg) disminuyó el recorrido intestinal en un 15 % respecto al lote administrado únicamente con aceite de castor, en la figura se puede observar que los valores son comparables a los observados en el lote testigo. Cuando el

recorrido intestinal se evaluó a los 60 minutos se encontró que el efecto del extracto fue menor; sin embargo, se encontró diferencia significativa entre el lote administrado únicamente con aceite de castor y el lote previamente administrado con el extracto metanólico de *H. patens*.

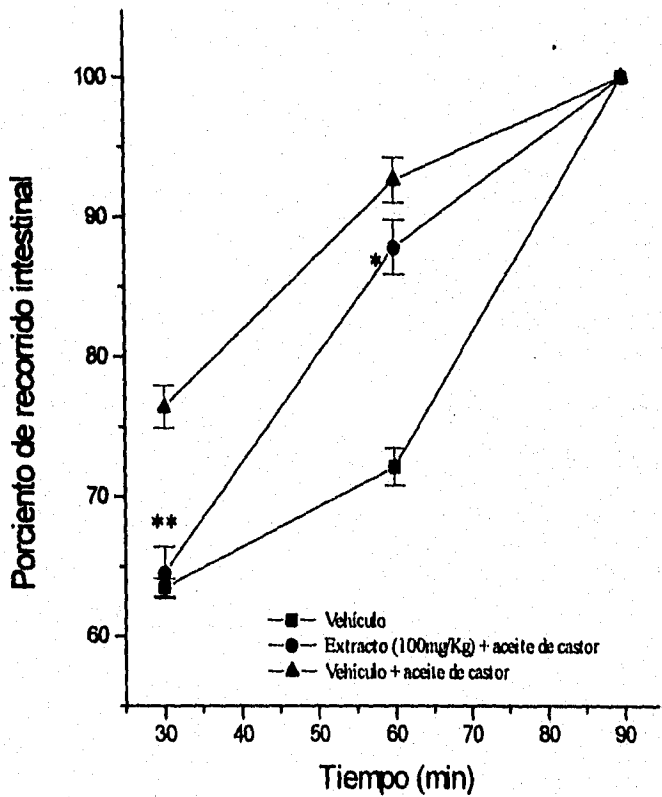


Figura 1. Efecto inhibitorio del extracto metanólico de *H. patens* sobre el tránsito intestinal de ratas Wistar. El extracto se administró a dosis de 100 mg/kg. Los resultados son el promedio de 5 animales \pm error estándar. El análisis de varianza fue significativo con respecto al grupo administrado con aceite de castor. ** $P < 0.01$; * $P < 0.05$.

Los resultados de la evaluación del efecto del extracto metanólico de *H. patens* sobre el ileon de rata Wistar se presentan en la figura 2, donde se puede observar que el extracto metanólico disminuyó la amplitud de la contracción del ileon; sin embargo también se observó que dicho extracto no alteró la frecuencia del músculo. El efecto inhibitorio del extracto metanólico de *H. patens* sobre la amplitud de la respuesta del intestino es dosis-dependiente en el intervalo de 0.5 a 8.0 mg/ml, figura. 2.

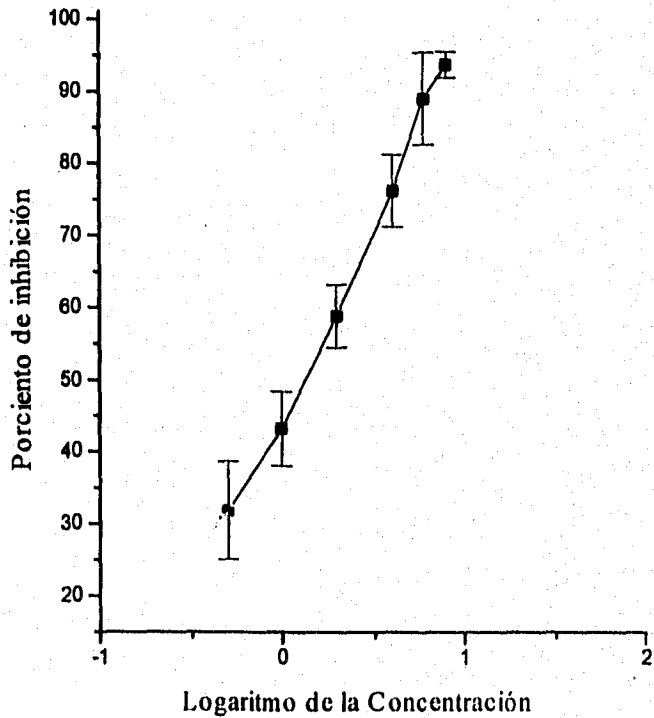


Figura 2. Efecto del extracto metanólico de *H. patens* sobre ileon de rata Wistar. Las dosis usadas fueron de 0.5 a 8.0 mg/ml. Los resultados son el promedio de 4 determinaciones \pm error estándar.

Los resultados presentados anteriormente permiten decir que el extracto metanólico de *H. patens* presenta actividad antidiarreica y que también tiene efecto sobre las condiciones normales del tracto gastrointestinal ya que el extracto presentó efecto sobre animales sanos.

La actividad antidiarreica del extracto metanólico de *H. patens* puede atribuirse, a un efecto inhibitorio sobre la liberación de prostaglandinas ya que el aceite de castor, así como otros agentes catárticos incrementan la actividad peristáltica del intestino y producen cambios en la permeabilidad de la mucosa y estos efectos están directamente relacionados con la liberación de prostaglandinas,³⁶ las cuales contribuyen a las condiciones fisio-patológicas del tracto gastrointestinal, o a otros factores que contribuyen a la función del tracto gastrointestinal como pueden ser los factores colinérgicos, adrenérgicos, y aún posiblemente sobre receptores α 2-adrenérgicos.³⁷

Alternanthera repens

Los resultados del extracto metanólico de *A. repens* sobre la defecación normal de ratones cepa CD-1 se muestran en la tabla 5. A las dosis usadas (50 y 100 mg/kg de peso), el extracto metanólico de esta planta disminuyó significativamente ($P < 0.01$) la defecación normal de los ratones (49.99 y 59.61 % respectivamente) en un promedio de 4 horas, respecto al grupo testigo.

Con la dosis de 50 mg/kg la mayor actividad del extracto se encontró durante la primera hora después de la administración de éste, la inhibición de heces durante este periodo fue del 43%.

Con la dosis de 100 mg/kg el mayor efecto inhibitorio se observó durante las dos horas posteriores a la administración del extracto durante las cuales se determinó una inhibición del 60 y 69%, respectivamente.

El difenoxilato presentó una inhibición del 83,3% durante el período de evaluación; sin embargo solo durante las dos primeras horas se observaron heces en el lote usado.

Tabla 5

Efecto de diferentes dosis de extracto metanólico (50 y 100 mg/kg) de *A. repens* sobre la defecación normal de ratones CD-1.

Vehículo	0,00
Extracto metanólico 50 mg/Kg	49.99±9.42**
Extracto metanólico 100 mg/Kg	59.61±3.18**
Difenoxilato 2.5 mg/Kg	83.33±4.53***

Los resultados son el promedio de 4 experimentos ± error estándar
Se encontró diferencia significativa respecto al grupo control **P< 0.01, ***P<0.001

Los resultados obtenidos en la evaluación del extracto metanólico de *A. repens* en ratones con diarrea inducida por aceite de castor, administrado 30 o 60 minutos después del extracto se presentan en la tabla 6, en esta tabla se puede observar que el extracto disminuyó significativamente el número de heces líquidas independientemente del tiempo de administración, sin embargo, el mayor efecto se encontró cuando éste se administró 30 minutos antes del agente catártico.

Los resultados obtenidos muestran una respuesta dosis-dependiente en el intervalo de 12.5 a 50 mg/kg. Con esta última dosis administrada 30 minutos antes del aceite de castor, se

encontró el mayor efecto farmacológico (58.2% de inhibición). Cuando el extracto se administró a dosis de 100 mg/kg se observó una disminución significativa de la actividad antidiarreica (42% de inhibición). Este hecho puede ser atribuido a la presencia de otros compuestos en el extracto metanólico de *A. repens* que a dosis más altas presenten un efecto que antagonice la actividad antidiarreica.

Tabla 6

Actividad antidiarreica del extracto metanólico (12.5 a 100 mg/kg) de *A. repens* sobre ratones con diarrea inducida con aceite de castor.

		30 min	60 min
Aceite de castor	Vehículo	0.0	0.0
	Extracto 12.5 mg/Kg	21.4±2.27*	10.9±2.63 ^{NS}
	Extracto 25 mg/Kg	34.4±2.07**	24.5±1.47*
	Extracto 50 mg/Kg	58.2±4.60***	37.9±0.75**
	Extracto 100 mg/Kg	42.4±3.53**	33.1±6.28**
	Difenoxilato 2.5 mg/Kg	100.0	100.0

Los resultados son el promedio de 4 experimentos ± el error estándar.

NS= No se encontró diferencia significativa.

Los resultados mostraron diferencia significativa * P< 0.05, **P < 0.01; ***P< 0.001.

En la tabla 7, se muestran los resultados de la evaluación del efecto antidiarreico del extracto metanólico de *A. repens* en ratones con diarrea inducida por MgSO₄.

En este caso se observó que el extracto metanólico causó una mayor disminución en el número de heces líquidas, en comparación con el obtenido cuando se usó aceite de castor como inductor de diarrea. En esta tabla, también se puede observar que no hubo diferencia entre las respuestas farmacológicas obtenidas cuando el extracto se administró 30 o 60 minutos antes del agente catártico.

El mayor efecto antidiarreico se observó con la dosis de 50 mg/kg (71% y 75%). Se encontró que la respuesta es dosis-dependiente en el rango 12.5 a 50 mg/kg y que a dosis de 100 mg/kg se presentó el mismo efecto que cuando se usó como inductor de diarrea el aceite de castor, es decir, una disminución en la respuesta farmacológica.

Tabla 7

Actividad antidiarreica del extracto metanólico (12.5 a 100 mg/kg) de *A. repens* sobre ratones con diarrea inducida con sulfato de magnesio.

		30 min	60 min
Sulfato de magnesio	Vehículo	0.0	0.0
	Extracto 12.5 mg/Kg	5.77±0.15 ^{NS}	7.7±0.69 ^{NS}
	Extracto 25 mg/Kg	21.87±3.99*	22.0±4.07*
	Extracto 50 mg/Kg	71.87±5.97***	75.93±7.94***
	Extracto 100 mg/Kg	55.37±4.21**	58.7±7.7**
	Difenoxilato 2.5 mg/Kg	100.0	100.0

Los resultados son el promedio de 4 experimentos ± el error estándar.

NS= No se encontró diferencia significativa.

Los resultados fueron significativos *P < 0.05; **P < 0.01, ***P < 0.001

Los resultados de la evaluación del extracto metanólico de *A. repens* (50 mg/kg), sobre el tránsito intestinal de ratas Wistar se muestran en la figura 3. Para la evaluación de este efecto, se determinó usar la dosis de 50 mg/kg y hacer la administración del extracto 60 minutos antes del agente catártico, ya que a estas condiciones se observó el mayor efecto antidiarreico.

En la figura 3 se puede observar que el extracto administrado 60 minutos antes del aceite de castor disminuyó significativamente el tránsito intestinal, 33.3 % con respecto al grupo administrado con aceite de castor y 23% respecto al grupo usado como testigo a los 30 minutos después de la administración del agente catártico.

A los 60 minutos del periodo de evaluación se encontró que el grupo administrado con el extracto metanólico, presentó el mismo recorrido intestinal que el observado para el grupo testigo, al cual solo se le administró un volumen igual del vehículo utilizado.

En comparación con el grupo administrado únicamente con aceite de castor la inhibición fue del 26% ($P < 0.001$).

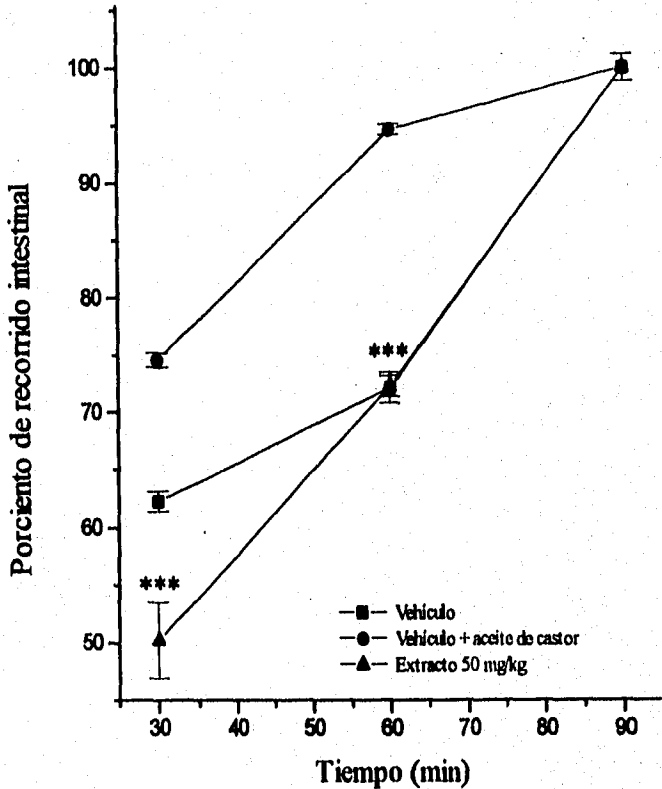


Figura 3. Resultados de la evaluación del extracto metanólico de *A. repens* a dosis de 50 mg/kg sobre el tránsito intestinal de ratas Wistar administradas con aceite de castor. Los resultados son el promedio de 5 determinaciones \pm error estándar
 *** $P < 0.001$

Los resultados de la evaluación del extracto metanólico de *A. repens* sobre ileon de rata Wistar (figura 4), muestran que este extracto inhibió la amplitud de la respuesta de la contracción del ileon y no presentó efecto alguno sobre la frecuencia de las contracciones; es decir que presentó el mismo efecto sobre ileon de rata Wistar que el observado con el extracto metanólico de *H. patens*, sin embargo las dosis usadas para obtener el mayor efecto, en el caso

del extracto metanólico de *A. repens*, fueron mucho menores en comparación a las usadas con *H. patens*. Se determinó que la respuesta es dosis-dependiente en el intervalo de 0.1 a 3.0 mg/ml (figura 4).

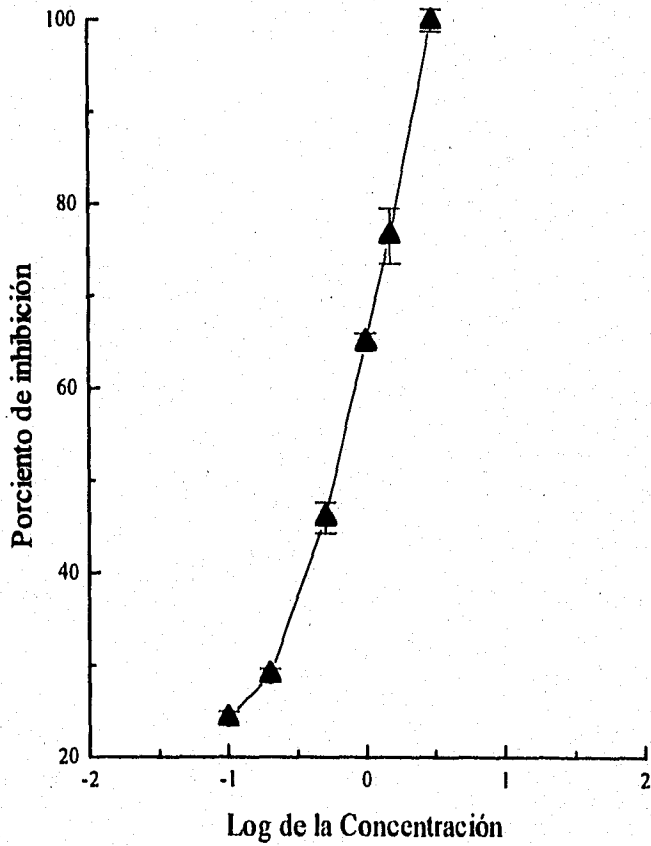


Figura 4. Resultados de la evaluación del extracto metanólico de *A. repens* sobre ileon de rata Wistar a dosis de 0.1 a 3.0 mg/ml.

Los resultados son el promedio de 4 determinaciones \pm error estándar.

Considerando los resultados obtenidos, la actividad antidiarreica del extracto metanólico de *A. repens*, se puede atribuir a que dicho extracto actúa tanto a nivel motor, como secretor del tracto gastrointestinal, lo anterior, considerando que el extracto metanólico presentó un efecto antidiarreico mayor sobre el modelo de inducción de diarrea con $MgSO_4$ y el efecto de este tipo de agentes catárticos, especialmente el del antes mencionado, está relacionado con la liberación de colesistoquinimpancreozimina y ésta hormona afecta el funcionamiento motor y secretor del tracto gástrico.⁹

Además de los hechos anteriores, también se debe considerar que el efecto antidiarreico de dicho extracto pueda deberse a la acción de éste sobre sistemas adrenérgicos, colinérgicos y posiblemente sobre la liberación de prostaglandinas, tomando en cuenta que también se encontró actividad antidiarreica sobre el modelo de inducción con aceite de castor³⁶.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos durante el desarrollo del presente trabajo se puede concluir que:

1. *Waltheria americana* no tiene la actividad antidiarreica que se le atribuye en la medicina tradicional.
2. *Hamelia patens* y *Alternanthera repens* poseen la actividad antidiarreica que se les atribuye en diferentes libros de medicina tradicional.
3. Los extractos metanólicos de ambas plantas presentaron actividad antidiarreica sobre los modelos farmacológicos usados en este estudio.
4. La actividad antidiarreica del extracto metanólico de *H. patens* es dosis-dependiente entre 12.5 y 100 mg/kg y el mayor efecto se observó con la dosis de 100 mg/kg.
5. El extracto metanólico de *A. repens* presentó actividad antidiarreica dosis-dependiente en el rango de 12.5 a 50 mg/kg y el mayor efecto se presentó con la dosis de 50 mg/kg.
6. La actividad antidiarreica de *A. repens* fue mayor sobre el modelo de inducción de diarrea con MgSO₄.
7. Los extractos metanólicos de ambas plantas presentaron un efecto inhibitorio sobre intestino de rata Wistar.
8. Los extractos metanólicos de *H. patens* y *A. repens* disminuyen el tránsito intestinal, sin embargo el efecto es mayor con el extracto metanólico de *A. repens*.

PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES

Realizar el estudio de la actividad antidiarreica de las diferentes partes de la planta por separado, con el fin de determinar que parte de la planta presenta mayor actividad farmacológica.

Aislar y purificar el o los principios activos responsables de la actividad farmacológica de las plantas que presentaron actividad antidiarreica.

Elucidar la estructura química de el o los principios activos aislados.

Realizar el estudio de la actividad antidiarreica de los compuestos aislados y determinar su mecanismo de acción.

REFERENCIAS

1. Boletín Mensual de Epidemiología. Sistema Nacional de Salud 1993. 8(9):141-175
2. Fontaine O. Diarrhoea and Treatment. Lancet 1988; 1(28):1234-1235.
3. Awouters F, Niemegeers C J E, Janssen P A J. Pharmacology of antidiarrheal drugs. Ann Rev Pharmacol Toxicol 1983; 23:279-301.
4. Levine R R. Pharmacology: Drug Actions and Reactions. 2a. ed. Boston, USA. Little, Brown and Company, 1978.
5. Flores E J. Semiología del aparato digestivo. 4a.ed. México: Librería de medicina, 1976.
6. Ninomiya J G, Nájera J M. Manual de practicas de laboratorio del curso de fisiología humana. México: Facultad de Medicina, Departamento de Fisiología. UNAM, 1985 octubre: 75-93, 194-205.
7. Houssay B A. Fisiología humana. 5a. de. México: El ateneo, 1978.
8. American Medical Association. Medicamentos nuevos. 3a. de. México: La prensa médica mexicana, 1969.
9. Harvey M D, Read M D. Mode of action of saline purgatives. Am Heart J 1975; 89:810-13.
10. Jiménez R E, Garza V G, Porcayo V F A. Análisis de 50 casos de intoxicación por lomotil en niños. Bol Med Hosp Infant. Mex 1977; 34:519-26.
11. Cabrera L G. Plantas curativas de México. 5a. de. México: Editorial México, 1984.
12. Linares E, Flores P B, Bye R. Selección de plantas medicinales de México. México: Limusa, 1990: 74,88.
13. Martínez M. Las plantas medicinales de México. 6a. ed. México: Ediciones Botas V, 1992: 452.

Estudio de la actividad antidiarreica de diferentes extractos de Hamelia patens, Alternanthera repens y Waltheria americana.

49

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

14. Riojas R H, González C L. El que a buen árbol se arrima...uso popular de plantas medicinales de seis regiones de México. México D.F.: Prodessep A.C. Anaya editores S.A. de C.V., 1994: 36.
15. Rzedowski J, C de Rzedowski G. Flora fanerogámica del Valle de México. México: Continental, 1979; 1:150-154.
16. Borges J, Manresa M T, Ramón M J L, Pascual C, Rumero A. Alkaloid from the aerial parts of *Hamelia pates*. Tet Lett 1979; 34:3197.
17. Borges J, Manresa F M T, Ramón M J L, Rodríguez L F, Vazquez B P. Alkaloid from the leaves of *Hamelia pates*. An Quim Ser C 1980; 76:294.
18. Borges J, Manresa F M T, Ramón M J L, Rodríguez L F, Vazquez B P. Flora salvadoreña. V. Estudio de los alcaloides de la *Hamelia pates* Jacq. An Quim Ser C 1982; 78:180-84.
19. Borges J, Manresa F M T, Ramón M J L, Rodríguez L F, Vazquez B P. Alkaloid from the aerial parts of *Hamelia pates*. An Quim Ser C 1982; 78:180.
20. Arias A A, Lee F E, Mabry T J. HPLC study of oxindole alkaloids from *Hamelia pates*. Rev Latinoamer Quim 1989; 20(2):71-72.
21. Aquino R, Ciavatta M L, De Simone F, Pizza C. A flavone glycoside from *Hamelia pates*. Phytochemistry 1990; 29(7):2358-2360.
22. Plantas medicinales, virtudes insospechadas de plantas conocidas. México D.F.: Reader's Digest México S.A. de C.V., 1987: 317.
23. Pais M. Alkaloid from *Waltheria americana* and the root bark of *Ceanothus americanus* (Sterculiaceae, *Rhamnaceae*). Ann Pharm Fr 1963; 21:139.

24. Servis R E. Alkaloid from *Waltheria americana* and the root bark of *Ceanothus americanus* (Sterculiaceae, Rhamnaceae). JACS 1969; 91:5619.
25. Otsuka H. Alkaloid from *Waltheria americana*, the root bark of *Ceanothus americanus* and *Zizyphus jujuba* var. *inermis*, and the leaves of *Alphitonia macrocarpa* (Sterculiaceae, Rhamnaceae). Phytochemistry 1974; 13:2016.
26. Medina E. Isol. as a mixt. of E- and Z-isomers. Alkaloid from *Waltheria americana* and from the leaves of *Ferretia apodanthera* and *Melochia pyramidata* (Sterculiaceae, Rhamnaceae). Annalen 1981; 538.
27. Melo M de F F, Thomas G, Mukherjee R. Antidiarrhoeal activity of bisnordihydrotoxiferine isolated from the root bark of *Strychnos trinervis* (Vell.) Mart. (Loganiaceae). J Pharm Pharmacol 1988; 40:79-82.
28. Megens A A H P, Ninemegeers C J E. Antagonism of the antidiarrhoeal effect of clonidine and the lethal effect of noradrenaline in rats: a reliable procedure to evaluate the in-vivo α_1 - and α_2 -blocking activity of drugs?. J Pharm Pharmacol 1984; 36:516-20.
29. Vischer P, Casals-Stenzel J. Influence of prostacyclin and indometacin on castor oil-induced gastrointestinal effects in rats. J Pharm Pharmacol 1983; 35:152-15
30. Montgomery D C. Diseño y análisis de experimentos. México: Iberoamericana, 1991.
31. Reyes S J L, Jaramillo J F. Manual de ejercicios experimentales de farmacología. México: Sociedad mexicana de ciencias fisiológicas, 1990.
32. Holzer P, Holzer-Petscher & Lander S. A tachykinin antagonist inhibits gastric emptying and gastrointestinal transit in the rat. Br J Pharmac 1986; 89:453-45

33. Enríquez R, Ortega J, Vargas C, Lozoya M. La química y el estudio de las plantas medicinales. *Medicina tradicional* 1979; 8:37-45.
34. Oberti S, Velázquez M X, Rodríguez D. La farmacología y el estudio de las plantas medicinales. *Medicina tradicional* 1979; 8:47-59.
35. Enríquez R. Apuntes para una metodología en el estudio de las plantas medicinales. **FITOQUIMICA**. *Medicina tradicional* 1979; 8:79-83.
36. Awouters F, Niemegeers C J E, Lenaerts F M , Janssen P A J. Delay of castor oil diarrhoea in rats: a new way to evaluate inhibitors of prostaglandin biosynthesis. *J Pharm Pharmac* 1978; 30: 41-45.
37. Foundcaro J D, McCafferty G P, Kolpak D V, Smith P L. Antidiarrheal activity of alpha-e adrenoceptor agonist SK&F 35886. *J Pharmacol Exper Ther* 1989; 249:221-249.
38. Gómez-Dantés O, Llópiz-Avilés M. Las referencias bibliográficas en los escritos médicos. *Salud Pública Mex* 1968; 30:760-765.