

70

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"ZARAGOZA"

**EVALUACION DEL EFECTO BRONCODILATADOR DE  
EXTRACTOS DE *Gnaphalium sp.* EN ANILLOS DE TRAQUEA  
DE COBAYO**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**QUIMICO FARMACEUTICO - BIOLOGO**  
P R E S E N T A :  
**GABRIELA TORRES GARCIA**

DIRECTOR Y ASESOR DE TESIS: DR. ANDRES NAVARRETE CASTRO

MEXICO, D. F.

2002

**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.

## **Jurado Asignado**

Presidente	Q.F.I. Estela Valencia Plata
Vocal	Dr. Andrés Navarrete Castro
Secretario	M. en C. Benito Reyes Trejo
Suplente	Q. Martha Trinidad Julieta Oliveros García
Suplente	M. en C. Leticia Cruz Antonio

Este trabajo se realizó en la Facultad de Química, Departamento de Farmacia.  
Laboratorio 126, conjunto E, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad  
Universitaria.

Sustentante:

---

Gabriela Torres García

Asesor:

---

Dr. Andrés Navarrete Castro

*A mi Mamá, con todo mi cariño*

*Gracias por apoyarme en todo, gracias por todo tu amor y cuidados que han sido lo necesario para llegar al final de esta etapa y con ello emprender nuevos proyectos.*

*A mis hermanas*

*Por su compañía y por todas las cosas que hemos compartido juntas.*

*A mis abuelos*

*Por todo su apoyo y amor que desde siempre he tenido.*

*A David*

*Por su apoyo, comprensión y colaboración en este trabajo, por su presencia en mi vida.*

# INDICE

I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	3
III. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	5
3.1    Aparato respiratorio.....	5
3.1.1    Mediadores del broncoespasmo.....	9
3.1.2    Receptores adrenérgicos.....	10
3.1.3    Antagonistas de los $\beta$ -adrenérgicos.....	12
3.2    Enfermedades respiratorias.....	13
3.2.1    Bronquitis.....	13
3.2.2    Asma.....	15
3.2.3    Tratamiento con fármacos.....	16
3.2.3.1    Teofilina y derivados.....	21
3.4    Uso de plantas medicinales.....	22
3.4.1    El género <i>Gnaphalium</i> .....	26
3.4.2    Estudios botánicos y etnobotánicos.....	27

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

3.4.3 Estudios químicos.....	34
3.4.4 Estudios de actividad biológica.....	38
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	39
V. HIPÓTESIS.....	40
VI. OBJETIVOS.....	41
6.1 Objetivo General.....	41
6.2 Objetivos Específicos.....	41
VII. MATERIAL Y METODOS.....	42
7.1 Material vegetal.....	42
7.2 Preparación de los extractos. ....	42
7.3 Animales.....	42
7.4 Fármacos.....	44
7.5 Ensayo biológico.....	45
7.5.1 Disección de la tráquea y montaje de la preparación.....	46

7.5.2	Evaluación del efecto inhibidor del extracto de <i>Gnaphalium</i> sp., sobre las contracciones inducidas por histamina y carbacol.. .....	46
7.5.3	Evaluación del efecto broncodilatador de los extractos de <i>Gnaphalium</i> sp.....	46
7.5.4	Evaluación del efecto $\beta$ -adrenérgico.....	48
VIII.	RESULTADOS.....	49
IX.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	56
X.	CONCLUSIONES.....	62
XI.	PERSPECTIVAS.....	63
XII.	BIBLIOGRAFÍA.....	64

## I. RESUMEN.

La extensa y variada flora que posee nuestro país ha contribuido a que desde tiempos inmemorables, la cultura mexicana utilice plantas para el alivio de muchas de las enfermedades que le aquejan. Dependiendo de la región donde se emplea, cada planta recibe un nombre común y es recomendada para aliviar alguna enfermedad en particular. Tal es el caso de diferentes especies del género *Gnaphalium*, que de manera generalizada, se le conoce como "gordolobo" y se emplea para el alivio de enfermedades respiratorias, tal como lo son, irritación de garganta, bronquitis, tos, neumonía y asma (Argueta et al., 1994). A pesar su uso tan extendido no existen estudios biológicos que respalden su efecto en las vías respiratorias.

En el presente estudio se evaluó la actividad broncodilatadora de los extractos de metanol, de cloruro de metileno y de hexano obtenidos a partir de las flores seca de *Gnaphalium* sp., en anillos de tráquea de cobayo

Todos los extractos presentaron efecto broncodilatador en las preparaciones *in vitro*, resultando más activo el extraído con hexano. Con respecto al posible mecanismo de acción de este extracto se encontró que su efecto

## Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

broncodilatador es independiente de la acción sobre los receptores  $\beta$ -adrenérgicos ya que el efecto de dicho extracto no se inhibió con propranolol, el cual es un bloqueador  $\beta$ -adrenérgico; sin embargo, la acción broncodilatadora de isoproterenol, utilizado como fármaco de referencia, si fue inhibida por propranolol.

El presente estudio presenta la primera evidencia experimental del efecto broncodilatador del género *Gnaphalium* y sienta las bases que apoyan su uso en la medicina tradicional mexicana.

## II. INTRODUCCIÓN.

Las enfermedades respiratorias agudas, representaron la primera de diez causas de morbilidad en el país durante el año 2000, con una tasa de 384.7 por 100 mil habitantes, según datos de la Secretaria de Salud. La bronquitis aguda y asma ocupan el octavo sitio de diez, en causas de mortalidad con una tasa de 8.5 por 100 mil habitantes.

Las vías aéreas están dotadas de músculo liso involuntario en el que existen abundantes  $\beta_2$ -adrenoceptores ampliamente distribuidos desde la tráquea hasta los bronquios terminales, así como en el epitelio traqueobronquial y las paredes alveolares. Su activación origina broncodilatación y vasodilatación (Flórez, 1997).

El broncoespasmo y la hiperreactividad bronquial, son un síndrome que se presenta en algunas enfermedades respiratorias agudas como son la bronquitis y el asma, en este síndrome existe una disfunción en la regulación autónoma del tono bronquial, en el que participan mediadores químicos, tal como los mastocitos y la acetilcolina. Esto se traduce en un estrechamiento de las vías aéreas creando problemas de insuficiencia respiratoria por falta de

oxígeno. Para el tratamiento de este problema se emplean fármacos con actividad broncodilatadora, como son el isoproterenol y el salbutamol que actúan sobre los receptores  $\beta_2$ -adrenérgicos, o la teofilina que actúa directamente sobre el músculo liso bronquial, sin necesidad de activar o bloquear receptores, ampliando el calibre de las vías aéreas. (Flórez, 1997)

La medicina popular en México tiene sus raíces en las tradiciones de las antiguas culturas mesoamericanas. El uso de remedios vegetales persiste aún en nuestro país, donde un elevado porcentaje de la población, recurre a la medicina tradicional para resolver sus problemas prioritarios de salud. (Mata, 1993).

Diversas especies del género *Gnaphalium* son empleadas en el país para aliviar enfermedades de vías respiratorias. Estudios previos de algunas especies de este género han demostrado tener efecto antimicrobiano (Rojas et al., 2001; Sánchez, 2001); sin embargo, no se cuenta con un estudio en el que se evalúe su acción como agente broncodilatador. En base a lo anterior se decidió realizar este estudio con la finalidad de evidenciar el efecto broncodilatador del *Gnaphalium* sp., sobre anillos de tráquea de cobayo.

### III. FUNDAMENTO TEORICO

#### 3.1 Aparato respiratorio

El aparato respiratorio está destinado a poner en contacto el aire atmosférico con la sangre venosa. Por su mediación, se exhala anhídrido carbónico y se absorbe oxígeno, que transforma la sangre venosa en sangre arterial. El aparato respiratorio comprende: a los pulmones, en los cuales se producen los intercambios gaseosos; y las vías respiratorias, que conducen el aire a los pulmones, estas vías están constituidas por las fosas nasales, la parte superior de la faringe, la laringe, la tráquea y los bronquios (Rouviere y Delmas, 1999).

En los seres humanos, la tráquea se extiende entre la laringe y los bronquios, y se sitúa por delante del esófago. La tráquea es un conducto semirrígido, fibromusculocartilaginoso, por donde circula el aire inspirado y espirado. Es la continuación de la laringe y termina bifurcándose en los bronquios; tiene forma de cilindro aplastado en su parte posterior, donde es plana, músculo-fibrosa y ligeramente convexa. Sus cartílagos forman el esqueleto semirrígido del conducto, son anillos cartilaginosos incompletos, se encuentran de 15 a 20, su forma es muy variable, algunos son regulares con bordes paralelos y extremidades posteriores idénticas; otro son irregulares con desdoblamientos

## Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

(Latarjet y Ruiz, 1995). Su altura varía de 2 a 5 mm, y cada uno de ellos varía sensiblemente de un punto a otro (Rouviere y Delmas, 1999).

La longitud de la tráquea varía con la edad y talla. En el adulto mide 13 cm y termina al dividirse en dos bronquios derecho e izquierdo. (Latarjet y Ruiz, 1995).

Las vías aéreas están dotadas de una cubierta espiral de músculo involuntario que frecuentemente sufren de modo inapropiado constricción grave en reacción a diversos tipos de irritación; con el consiguiente broncoespasmo, el cual es un problema de primera importancia en la mayor parte de las enfermedades respiratorias obstructivas crónicas del pulmón.

Las estructuras anatómicas más importantes de la vía aérea desde el punto de vista farmacológico, son el músculo liso, el epitelio ciliado y las glándulas bronquiales (Ziment, 1983).

El músculo tráqueal está formado por una lamina de fibras musculares lisas transversales u oblicuas, entremezcladas como una red de malla, localiza en la parte posterior de la tráquea, interpuesto entre la membrana fibrosa y la mucosa (Latarjet y Ruiz, 1995).

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

El epitelio que reviste la mucosa de las vías aéreas es ciliado y contiene glándulas mucosas y serosas (Ganong, 1998).

La submucosa es la capa de tejido conectivo vascular que se encuentra debajo del epitelio, contiene glándulas bronquiales especializadas, cuyas células producen secreciones seromucosas que son llevadas a la superficie del epitelio ciliado a través de conductos excretores también ciliados. Las glándulas bronquiales contienen tanto células secretoras mucosas como serosas (Ziment, 1983).

Las glándulas bronquiales se encuentran principalmente en la tráquea y en los bronquios; existe una marcada disminución de su presencia en sitios más distantes.

El músculo liso de las vías aéreas esta innervado por nervios simpáticos y parasimpáticos. La innervación contráctil de vías aéreas en mamíferos es exclusivamente colinérgica, mientras que la innervación relajante es adrenérgica y no adrenérgica. Los nervios extrínsecos eferentes que regulan el tono muscular se derivan de dos fuentes: fibras simpáticas preganglionales llevadas por el nervio vago, y fibras posganglionales simpáticas que emanan

desde el tórax y los ganglios parasimpáticos cervicales (Canning y Fischer, 2001).

En las paredes de los bronquios y bronquiólos hay abundantes receptores muscarínicos y la descarga colinérgica produce broncoconstricción. En el epitelio bronquial, así como en el músculo liso, hay receptores adrenérgicos  $\beta_1$  y  $\beta_2$ . En el ser humano, predominan los receptores  $\beta_2$ ; además hay una innervación no colinérgica, no adrenérgica de los bronquiólos, que producen broncodilatación. Los leucotrienos LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> y LTE<sub>4</sub> son broncoconstrictores potentes. Algunos de los nervios en los pulmones contiene sustancia P, y esta sustancia produce broncoconstricción (Ganong, 1998).

En íntima asociación con la musculatura bronquial se encuentran los mastocitos, los cuales tienen mayor prevalencia en las vías aéreas periféricas que en las proximales. Estas células están colmadas con gránulos, que almacenan heparina, así como, histamina y otros mediadores, su liberación afecta a las células musculares adyacentes y causa broncoespasmo (Ziment, 1983).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### **3.1.1 Mediadores del broncoespasmo**

Las alteraciones del tono muscular de las vías aéreas son provocadas por estimulación de los nervios aferentes de estas. La existencia de caminos opuestos de inervación parasimpática en el músculo liso de las vías aéreas sugiere que el broncoespasmo puede ser mediado por un incremento de la actividad nerviosa colinérgica o un decremento en la actividad nerviosa del tono inhibitorio no colinérgico. (Canning y Fischer, 2001). La sinapsis de fibras vágales, la actividad nicotínica y los receptores m1- muscarínicos en los ganglios parasimpáticos, localizados en la pared de las vías aéreas, liberan acetilcolina con acción sobre los receptores muscarínicos en el músculo liso de las vías aéreas.

Hay evidencias fisiológicas que sostiene la hipótesis de que la disfunción o irregularidad de la inervación autonómica de vías aéreas contribuyen a la patología del asma y enfermedades crónicas obstructivas. Las cuales son caracterizadas por la obstrucción de vías aéreas, hipersensibilidad de estas, dificultad para respirar, tos, disnea y sensación de estar sin aliento. Cada uno de estos síntomas han sido directa o indirectamente vinculados con alteraciones en la función nerviosa de las vías aéreas (Canning y Fischer, 2001).

## Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

Se sabe que las fibras nerviosas simpáticas liberan las hormonas transmisoras naturales, norepinefrina y epinefrina, mientras que las fibras parasimpáticas liberan acetilcolina. La epinefrina provoca relajación, mientras que la acetilcolina causa contracción; la norepinefrina por sí misma posee un efecto broncodilatador menor (Ziment, 1983).

### 3.1.2 Receptores adrenérgicos

Los receptores adrenérgicos son las estructuras moleculares que en las células del organismo reciben selectivamente la señal de la adrenalina y la noradrenalina, y responden transformándola en una respuesta celular específica. A partir de las respuestas obtenidas en diversos órganos a las catecolaminas naturales adrenalina y noradrenalina, y a la sintética isoproterenol, Ahlquist en 1948, clasificó los receptores adrenérgicos en dos clases,  $\alpha$  y  $\beta$ . Se definieron como receptores  $\alpha$  los que eran estimulados por las tres catecolaminas con el orden de potencia: adrenalina > noradrenalina >> isoproterenol, y como receptores  $\beta$  los que eran estimulados con el orden de potencia: isoproterenol > adrenalina >> noradrenalina (Flórez, 1997).

## Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

Los receptores alfa, median la contracción del músculo liso en algunos sitios, que comprenden: las arteriolas de la piel, las mucosas, las vísceras y los riñones, las venas de todo el organismo; así como, el útero, el bazo, los órganos sexuales masculinos y el músculo radial del iris. Los receptores  $\beta_2$ , son los que median la relajación del músculo liso en diversos sitios como son: las arteriolas en el músculo esquelético e hígado, muchas venas en todo el cuerpo, el músculo bronquial y el útero. La activación de los receptores  $\beta_1$ , da como resultado el aumento de la frecuencia cardiaca y el aumento de la fuerza de contracción del corazón (Smith y Reynard, 1993).

El músculo bronquial posee dos tipos de diferentes receptores adrenérgicos:  $\alpha$  y  $\beta_2$ . Los receptores  $\beta_2$  están distribuidos principalmente en el músculo bronquial, vasos sanguíneos periféricos, músculos de las extremidades, en algunos músculos lisos y en el sistema nervioso central. Otros receptores como histaminérgicos y serotoninérgicos, se encuentran en el tejido pulmonar, y también los de prostaglandinas, desempeñan un papel importante en el broncoespasmo (Ziment, 1983).

Los receptores  $\beta_2$  en el pulmón median la relajación del músculo bronquial (Ziment, 1983).

## Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

### 3.1.3 Antagonistas de los $\beta$ -adrenoceptores

Los antagonistas de los  $\beta$ -adrenoceptores son sustancias que muestran alta afinidad y especificidad por estos e inhiben tanto la actividad simpática en su manifestación  $\beta$ -adrenérgica como la respuesta a los fármacos agonistas  $\beta$ -adrenérgicos. La inhibición es de carácter competitivo (Flórez, 1997).

En los bronquios, los  $\beta$ -bloqueadores reducen el tono broncodilatador, por lo que predomina el tono broncoconstrictor  $\alpha$ -adrenérgico y colinérgico. En consecuencia aumenta la resistencia bronquial, especialmente en pacientes con enfermedades pulmonares obstructivas.

El propranolol es un  $\beta$ -bloqueador ampliamente utilizado, ya que es un antagonista competitivo que muestra una afinidad similar por los receptores  $\beta_1$  y  $\beta_2$  y carece de actividad intrínseca simpaticomimética. Como  $\beta$ -bloqueante inespecífico, su empleo en patología cardiovascular está condicionado por los importantes efectos adversos derivados del bloqueo de  $\beta_2$ -adrenoceptores (broncoespasmo y vasoconstricción) (Floréz, 1997).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### **3.2 Enfermedades respiratorias**

Las enfermedades obstructivas principales de vías aéreas son asma, enfisema, bronquitis crónica, fibrosis quística y bronquiolitis.

En pacientes con estas enfermedades la capacidad pulmonar total es normal o está elevada, pero lo característico es una disminución de la tasa de flujo espiratorio.

La obstrucción de la espiración puede ser resultado del estrechamiento anatómico de las vías aéreas, observado clásicamente en el asma ( Vinay et al., 1992).

#### **3.2.1 Bronquitis**

La bronquitis es una enfermedad que afecta las vías respiratorias de conducción. Debido a la inflamación crónica, las paredes bronquiales se estrechan por vasodilatación, congestión y edema de la mucosa. Cuando la irritación bronquial continúa, causa que las glándulas bronquiales se agranden y aumente el número de células en copa, dando como resultado la producción excesiva de moco, el árbol traqueobronquial disminuye y los

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

bronquios periféricos suelen estar parcial o totalmente ocluidos por la inflamación y tapones mucosos. Los cambios estructurales principales relacionados con la bronquitis son: inflamación crónica y tumefacción de vías respiratorias periféricas, producción y acumulación excesiva de moco; obstrucción de vías respiratorias bronquiales (Cosio et al., 1984)

La bronquitis crónica es común en los fumadores y en los habitantes de ciudades con altos niveles de smog; se define como una tos productiva persistente por lo menos durante tres meses seguidos, en dos años consecutivos. Se puede presentar en varias formas. La mayoría de los pacientes tiene bronquitis crónica simple: la tos productiva origina expectoración mucóide, pero no está ocluido el flujo aéreo. Algunos pacientes con esta enfermedad, pueden mostrar vías aéreas hiperreactivas y episodios intermitentes de asma (Vinay et al., 1992).

Los factores etiológicos más importantes de este padecimiento son: tabaquismo, contaminantes atmosféricos y las infecciones (Cosio et al., 1984).

### 3.2.2 Asma

El asma se caracteriza por la broncoconstricción reversible, episódica, resultado de una reactividad aumentada del árbol traqueobronquial ante varios estímulos. El asma se puede clasificar en dos categorías principales: **asma extrínseca**, en la cual el episodio asmático es iniciado por una reacción de hipersensibilidad tipo inducida por la exposición a un antígeno extrínseco; y **asma intrínseca**, en la cual los mecanismos desencadenantes no son inmunitarios, en esta forma, varios estímulos pueden iniciar broncoespasmo, incluyendo la aspirina, infecciones pulmonares, especialmente las causadas por virus, el frío, el estrés psicológico, el ejercicio y los irritantes inhalados (Vinay et al., 1992).

Los mediadores químicos más importantes en la respuesta asmática son (Vinay et al., 1992).

- Histamina, esta sustancia se encuentra preformada y de manera particular se almacena en los gránulos de los mastocitos. Su liberación se asocia al desarrollo de la contracción del músculo bronquial, aumento de la secreción de las glándulas bronquiales y también aumento de la permeabilidad vascular, con edema de la submucosa bronquial.

## Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

- La sustancia de reacción lenta de la anafilaxia (SRS-A), es producida por los mastocitos y basófilos luego de la estimulación inmunológica.
- El factor quimiotáctico eosinofílico de la anafilaxia.
- La prostaglandina D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>), que provoca broncoconstricción y vasodilatación.
- Factor activante plaquetario (PAF), que causa agregación de las plaquetas y liberación de la histamina a partir de sus gránulos.
- Leucotrienos C<sub>4</sub>, D<sub>4</sub> y E<sub>4</sub>; éstos son mediadores extremadamente potentes, que causan broncoconstricción prolongada, aumento de la permeabilidad vascular así como de la secreción de mucina (Vinay et al., 1992).

### 3.3.3 Tratamiento con fármacos

En el tratamiento para el asma y otros trastornos respiratorios se utilizan fármacos de acceso directo a la pared bronquial; como lo son los broncodilatadores que comprenden a los estimulantes de los  $\beta_2$ -

## Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

adrenoceptores, los relajantes directos de la fibra muscular lisa (teofilina y derivados), y los inhibidores de la actividad parasimpática (bromuro de ipratropio). Dada la importancia del componente inflamatorio en la patogenia del asma, el tratamiento incluye además de los broncodilatadores, modificadores de la respuesta inflamatoria: corticoesteroides e inhibidores de la liberación de histamina (cromoglicato y nedocromilo) (Flórez, 1997).

Los efectos terapéuticos de los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos comprenden:

1) broncodilatación como consecuencia de la actuación de la enzima adenilciclase de la membrana celular, que convierte el trifosfato de adenosina en monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) con capacidad inherente para relajar el músculo liso, 2) aumento del movimiento ciliar, que elimina las secreciones, y 3) efecto sobre los mastocitos que consiste en la disminución de la liberación de mediadores (Smith y Reynard, 1993).

Los fármacos  $\beta$ -adrenérgicos son los broncodilatadores más rápidos y eficaces de que se dispone. La acción broncodilatadora aumenta con la dosis pero, por encima de una dosis máxima, no aumenta la intensidad sino la duración del efecto.

## Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

Con base a su selectividad, los agonistas  $\beta_2$ -adrenérgicos además de acción broncodilatadora también producen efectos adversos como es, taquicardia por varios mecanismos: a) como mecanismo reflejo a la vasodilatación y la hipotensión; b) porque la selectividad  $\beta_2$  es sólo relativa y dosis suficientemente elevadas pueden producir efectos  $\beta_1$ , y c) porque en el corazón existe una pequeña población de receptores  $\beta_2$ , cuando mayor es la selectividad por los  $\beta_2$ -adrenoceptores, menor es el efecto taquicardizante y arritmógeno  $\beta_1$  para un determinado efecto broncodilatador. Además de la taquicardia se producen con frecuencia temblor fino de las extremidades (efecto  $\beta_2$ ) intranquilidad y nerviosismo.

La mayoría de las reacciones adversas son consecuencia de su acción adrenérgica y guardan relación con la dosis y la vía de administración. (Flórez, 1997). En la tabla 1 se resumen algunas propiedades farmacológicas de los agonistas  $\beta_2$ -adrenérgicos.

El isoproterenol mantiene una fuerte acción  $\beta_1$ , que provoca efectos cardiacos indeseables, incluso por vía inhalatoria, su acción es de 1-2 horas. La orciprenalina o metaproterenol carece de acción  $\alpha$  y su acción  $\beta_1$  es notablemente inferior a la de la adrenalina y la isoprenalina; su acción es más prolongada y se puede administrar por vía inhalatoria, parenteral y oral.

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

El salbutamol, el fenoterol y la terbutalina presentan mayor selectividad  $\beta_2$ , con lo que ha mejorado la seguridad de su acción, la duración del efecto (4-8 horas) y la posibilidad de utilizar la vía oral. El salmeterol y el formoterol inhalados son eficaces durante más de 12 horas, por lo que resultan particularmente útiles en el tratamiento del asma nocturna (Flórez, 1997).

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

Tabla.1 Propiedades Farmacológicas de algunos fármacos sobre receptores adrenérgicos (Flórez, 1997).

FÁRMACO	SELECTIVIDAD			DURACIÓN DEL EFECTO SOBRE LOS RECEPTORES (horas)
	$\alpha$	$\beta_1$	$\beta_2$	
Adrenalina	+++	++	++	1-2
Efedrina	++	+	++	2-3
Isoprenalina	---	+++	+++	2-3
Fenoterol	---	+	+++	4-6
Orciprenalina	---	++	+++	3-5
Salbutamol	---	+	+++	4-6
Terbutalina	---	+	+++	4-6
Formoterol	---	+	+++	12
Salmeterol	---	+	+++	12

La mayoría de las reacciones adversas son consecuencia de su acción adrenérgica y guardan relación con la dosis y vía de administración. Por vía oral producen temblor fino de las extremidades (efecto  $\beta_2$ ). Taquicardia y palpitaciones (por acción directa  $\beta_1$  y por vasodilatación), intranquilidad y nerviosismo. Estas reacciones son menores y prácticamente indetectables si se administra adecuadamente por vía inhalatoria a las dosis prescritas. Por vía subcutánea son más frecuentes los efectos cardiovasculares. Las arritmias se observan más a menudo por vía intravenosa (Flórez, 1997).

### 3.2.3.1 Teofilina y derivados

La teofilina, la cafeína y la teobromina son un conjunto de alcaloides que pertenecen al grupo de las metilxantinas. La teofilina actúa directamente sobre el músculo liso bronquial, sin necesidad de activar o bloquear receptores de transmisores o mediadores; ejerce su principal influencia a través de la relajación del músculo liso del árbol bronquial. Lo hace mediante la inhibición de la degradación de la enzima fosfodiesterasa con el consiguiente incremento del AMPc, que da lugar a la relajación de la célula muscular lisa. Además de producir broncodilatación, la teofilina mejora la excursión diafragmática y el transporte ciliar y estabiliza el mastocito. Este último efecto se relaciona con las propiedades antiinflamatorias de la teofilina que se manifiestan mediante la inhibición de la liberación de mediadores por los mastocitos con una reducción de la permeabilidad vascular, vasodilatación y producción de moco, inducidos por mediadores.

La ampliación del calibre de las vías respiratorias se manifiesta por la reducción de la resistencia pulmonar y disminuye la sintomatología (Flórez, 1997).

La teofilina no sólo interfiere en la acción de otros broncodilatadores antiasmáticos, sino que, en algunos casos, se observa una acción sinérgica

entre esta y los receptores  $\beta_2$ -adrenérgicos: a) su administración restaura la eficacia de los  $\beta_2$ ; b) con dosis bajas de teofilina y  $\beta_2$  pueden conseguirse efectos aditivos terapéuticos con pocos efectos secundarios, y c) la asociación de esta puede aumentar el efecto máximo conseguido con un  $\beta_2$ .

La teofilina debe utilizarse prestando cuidadosa atención en los niveles sanguíneos. De manera característica, una concentración sérica de teofilina de 10-20  $\mu\text{g/mL}$  se correlaciona con una eficacia óptima. Cuando se incrementa la dosis, los efectos colaterales se tornan más problemáticos y puede presentarse toxicidad (Smith y Reynard, 1993).

El ipratropio es un agente anticolinérgico que reduce la hiperrreactividad colinérgica presente en muchos pacientes con bronquitis crónica, enfisema y asma. Este agente puede ser útil solo o, de manera más característica, en combinación con un simpaticomimético  $\beta_2$ -adrenérgico selectivo, con el cual puede producir un efecto sinérgico (Smith y Reynard, 1993).

### **3.4 Uso de las plantas medicinales**

Alrededor del mundo se emplean plantas con fines curativos, algunos ejemplos de plantas que han sido estudiadas por sus propiedades como broncodilatadores aparecen en la siguiente tabla.

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

Tabla. 2 Plantas con efecto broncodilatador estudiadas en diferentes regiones del mundo.

ESPECIE	ORIGEN	POSIBLE MECANISMO DE ACCION	REFERENCIA
<i>Carum copticum</i>	India, Iran y Egipto	Efecto anticolinergico. Antagonismo competitivo sobre receptores H <sub>1</sub>	Boskabady y shaikhi, 2000.
<i>Drymis winteri</i>	Brasil	Efecto antagonista reversible de contracciones inducidas por algunos mediadores que participan en la etiología del asma	El Sayah et al., 1998.
<i>Galphimia glauca</i>	México	Inhibición de contracciones del músculo de vías aéreas inducidas por leucotrienos.	Campos et al., 2001.
<i>Desmodium adscendens</i>	Ghana	Inhibición de contracciones del músculo de vías aéreas inducidas por leucotrienos.	Addy et al., 1988.
<i>Hydrastis canadensis</i>	U.S.A.	Efecto relajante debido a la interacción con receptores adrenérgicos y receptores adenosinicos e inhibición de la fosfodiesterasa.	Abdel-Haq et al., 2000.

## Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

El empleo de las plantas medicinales en nuestro país se remonta hasta tiempos inmemorables. Documentos del periodo novohispano certifican y comprueban la continuidad de la práctica médica tradicional en México-Tenochtitlan y en las principales ciudades de la Nueva España, con particular referencia al uso de las plantas medicinales (Campos, 1993).

La medicina tradicional en México tiene sus raíces en las tradiciones de las antiguas culturas mesoamericanas poseedoras de una rica cultura herbolaria medicinal. El uso de remedios vegetales persiste aún en nuestro país, donde un porcentaje elevado de la población, recurre a la medicina tradicional para resolver sus problemas prioritarios de salud (Mata, 1993).

Durante mucho tiempo los remedios naturales, y sobre todo las plantas medicinales fueron el principal, e incluso único, recurso del que disponían los médicos.

En México, el uso de las plantas medicinales se da exclusivamente en el contexto de la llamada "medicina tradicional". Se tiene registrado un número aproximado de 4500 especies botánicas con propiedades medicinales y que son utilizadas por la población para tratar la sintomatología de los padecimientos más comunes.

## Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

Tomando en consideración lo extenso de la flora medicinal del país, los estudios etnobotánicos son de gran relevancia ya que constituyen el primer tamiz que permite la selección de las especies más frecuentemente utilizadas en las prácticas médicas populares (Mata, 1993).

A pesar de la riqueza y la variedad de la flora medicinal mexicana, el porcentaje de las especies botánicas estudiadas desde el punto de vista fitoquímico es bajo y aún es menos la fracción de estas que ha sido objeto de una evaluación biológica (Mata, 1993).

En una encuesta sobre el uso de las plantas en la medicina tradicional (Lozoya et al., 1987) realizada en la mayoría de los estados del país, los recursos herbolarios para el tratamiento de padecimientos respiratorios se dividieron en dos grupos, como antitusígenos, y las plantas más utilizadas fueron: *Sambucus nigra* (Sauco), *Gnaphalium semiamplexicaule* (Gordolobo), *Bougainvillea glabra* (Bugambilia) y *Allium sativum* (ajo); y un segundo grupo como broncodilatadores y antimicrobianos, las plantas mayormente empleadas fueron: *Eucalyptus globulus* (eucalipto), *Ghymus vulgaris* (Tomillo), *Rosmarinus officinalis* (Romero), *Mentha pulegium* (Poleo) y *Origanum vulgare* (orégano).

### 3.4.1. El género *Gnaphalium*

En la región central del país se aplica popularmente el nombre "gordolobo" a diversas especies del género *Gnaphalium*, perteneciente a la familia de las compuestas (Compositae). Los miembros de esta familia son arbustos, árboles o plantas herbáceas, con los tallos y hojas vellosos afelpados; hojas alternas y sésiles, las flores se encuentran agrupadas en cabezuelas o capítulos. Esta familia cuenta con más de 250 géneros y cerca de 20 000 especies, de amplia distribución en toda la tierra (Sánchez, 1986).

El género *Gnaphalium* comprende subarbustos o hierbas anuales o bianuales; tallos erectos, nuda o profusamente ramificados; hojas alternas, enteras, generalmente sésiles, lanceoladas; inflorescencia compuesta de cabezuelas solitarias, o más frecuentemente de glomérulos de cabezuelas agrupadas arreglados en forma solitaria, de color blanquecino, amarillento, café o rojizo, hialinas y brillantes (Rzedowski, 1985).

Las propiedades medicinales que se le atribuyen de forma tradicional a esta planta son: predominantemente contra algunos padecimientos de vías respiratorias, comúnmente para el alivio de la tos y bronquitis, entre otras. Además en algunas regiones la emplean para algunos padecimientos del aparato digestivo (Argueta et al., 1994).

### 3.4..2. Estudios botánicos y etnobotánicos

Las especies que son empleadas en nuestro país son las siguientes (Argueta et al., 1994) :

- ***Gnaphalium attenuam* DC.** Hierba originaria de México. Habita en clima cálido. Asociada a vegetación perturbada, derivada de bosque tropical. Hierba anual de 60 cm de altura, de tallos rectos o ligeramente inclinados. Las hojas son aterciopeladas de color verde grisáceo. Las flores son de color blanco amarillentas.

Sus cualidades medicinales se aprovechan en Michoacán, para quitar el dolor de estómago y el espasmo. En Oaxaca, contra la gastritis y en Puebla para aliviar el ardor de estomago y la bilis. Así mismo, se utiliza contra trastornos respiratorios como tos, ronquera y gripa. El tratamiento implica la utilización de la parte aérea de la planta preparado en decocción y administrada por vía oral (Argeta et al., 1994).

- ***Gnaphalium chartaceum*.** Hierba anual o bianual de 1.2 m de alto aproximadamente, fuertemente aromática, profusamente ramificada; tallos con pubescencia lanosa aracnoidea laxa y granular, hojas

oblongo-lanceoladas, cabezuelas subglobosas, cada una con 15 a 25 flores hermafroditas, de color verde pardoso. Es una especie escasa en el Valle de México. Se conoce de Jalisco, Puebla y Oaxaca (Rzedowski, 1985).

El principal uso medicinal que se hace de esta planta, en el centro del país, es contra la tos. Se emplea toda la planta preparada en infusión junto con mercadela, se toma caliente. El cocimiento solo de la planta, suele ser usado para lavar heridas (Argeta et al., 1994).

- ***Gnaphalium conoideum* Kunth.** Planta originaria de México de uso muy antiguo que coincide con el actual en su aplicación para problemas respiratorios. Hierba anual de 30 a 80 cm de altura, de ramificación múltiple desde la base o bien sólo en el área de la inflorescencia; tallos procumbentes o erectos de apariencia aterciopelada. Las hojas son alargadas y angostas pegadas al tallo, aterciopeladas. Sus flores son amarillas y brillantes dispuestas en cabezuelas y los frutos como capsulitas alargadas. Se encuentra en clima templado asociada a matorral xerófilo (Argueta et al., 1994).

## Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

En el siglo XVI, Francisco Hernández relata los siguientes usos: antirreumático, antitusígeno, bronquitis, como emoliente, para el dolor de garganta y para los humores flemáticos.

En el Estado de México y Michoacán, se indica su uso en enfermedades respiratorias como tos, gripa o bronquitis. Para su administración se hace un cocimiento de las flores y las hojas, que se endulza con miel y se toma muy caliente, de preferencia por las noches. Además del Valle de México se conoce en Durango y Tlaxcala (Rzedowski, 1985).

- ***Gnaphalium oxyphyllum* DC.** Planta de origen desconocido, habita en climas cálidos, semicálido y templado. Planta silvestre, crece en terrenos de cultivo, de riego y temporal, y abandonados. Asociada a la vegetación perturbada de bosques tropicales, matorral xerófilo, bosque espinoso, bosque mesófilo de montaña, bosques de encino y de pino. Planta que mide entre 30 a 75 cm de altura, los tallos están cubiertos de vellitos que le dan una apariencia blanca, las hojas son angostas. Las flores son blancas o crema y aparecen en cabezuelas. Los frutos son pequeños y las semillas tienen un penacho en la punta.

## Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

Se emplea para la tos en los estados de Hidalgo, Morelos, Puebla Tlaxcala, Michoacán y Sonora (Lara y Márquez, 1996).

La planta es útil también si hay problemas pectorales, infecciones de la garganta, bronquitis, asma y para la descongestión de bronquios. Se reporta además como antirreumático, antitusígeno, contra bronquitis, y dolor de garganta. En trastornos gástricos interviene en el tratamiento de las úlceras, dolor de estómago y parásitos intestinales (Lara y Márquez, 1996)

Si se emplea para la tos, que es debida al resfriado, se ingiere el cocimiento de la planta o se prepara un cocimiento en leche junto con otras plantas del mismo género y se toma en ayunas durante nueve días; si la tos es crónica sólo se hierven las flores en leche para tomarse tres veces al día. Por otro lado interviene en la terapia del cáncer, heridas, fiebre, hidropesía y lumbago (Lara y Márquez, 1996).

- ***Gnaphalium salicifolium***. Su origen es desconocido. Habita en clima templado. Presente en laderas rocosas, asociada a vegetación perturbada de bosques de pino encino. Planta de 12 a 60 cm de altura, los tallos se ven aterciopelados. Las hojas son angostas y

aterciopeladas. Cabezuelas con flores que se ven lanosas y los frutos son pequeños de color café y púrpura (Rzedowski, 1985).

En Puebla y Veracruz se ocupa contra la tos al igual que en Hidalgo, en donde suele emplearse el cocimiento de las ramas, como té, cuando hay tos o contra los "aires". También usado para curar calambres, heridas e hinchazones (Argueta et al., 1994).

- ***Gnaphalium semiamplexicaule* DC.** Originaria de México, habita en clima templado. Asociado a la vegetación perturbada de pastizal, bosques de encino, de pino y mixto de pino-encino. Planta herbácea de 30 a 80 cm de altura con los tallos aterciopelados, de color blanquecino. Las hojas son más largas que anchas pero pequeñas, un poco velludas. Las flores son amarillentas o blanquecinas y están reunidas en cabezuelas que se ven plateadas.

Las propiedades medicinales que se le atribuyen popularmente a esta planta se relacionan con la cura de padecimientos respiratorios como: bronquitis, asma e irritación de la garganta (Veracruz) pero su uso más frecuente que se registra en el centro del país (Distrito Federal, Hidalgo; Tlaxcala), es contra la tos. En el tratamiento de estos padecimientos se emplea la parte aérea preparada en cocimiento y

administrada por vía oral. Así mismo se le ocupa para estimular la circulación sanguínea, en varices y hemorroides (Argueta et al., 1994).

- ***Gnaphalium viscosum kunth.*** Es de origen desconocido. Presente en el clima templado. Crece en aéreas de vegetación perturbada de matorral xerófilo, bosques de pino, de encino, mixtos de encino-pino. Planta anual herbácea de 30 cm a 1 m de altura; los tallos tienen apariencia lanosa. Sus hojas son angostas, de color verde en el anverso y en el reverso se ven blancas porque son muy velludas. Las flores están agrupadas en cabezuelas que tienen alrededor de 200 flores de color crema.

Se emplea en algunos estados del centro de la Republica Mexicana, se le usa en infusión para curar la tos. Por otra parte, la infusión de la planta preparada junto con hojas de encino, sirve para curar el dolor de estómago. Las ramas y hojas se ocupan para el empacho. Sin dar más datos se recomienda su empleo contra el cáncer, las úlceras, el dolor de cabeza y las inflamaciones. Se le atribuyen propiedades como expectorante (Argueta et al., 1994).

- ***Gnaphalium wrightii***. Pertenece a la familia Compositae. Se distribuye en el valle de México, San Luis Potosí e Hidalgo. Planta herbácea de 30 a 80 cm de altura, lanosa con hojas alternas, largas y angostas, inflorescencias terminales, agrupadas en cabezuelas amarillas y brillantes.

El cocimiento se usa como emoliente y pectoral contra la tos y el dolor de garganta y de pecho ocasionado por la bronquitis, contra el asma y el dolor de estómago. Mezclado con otras plantas (té ulcerio) se usa para resfriados. También se les da a mujeres antes y después del parto (Lara y Márquez, 1996).

### 3.4.3 Estudios químicos

#### ***Gnaphalium oxyphyllum* DC**

Se han aislado tres compuestos de esta especie, y se realizaron estudios de actividad antimicrobiana. Tabla 3 (Sánchez, 2001).

#### ***Gnaphalium wrightii***

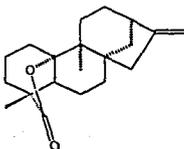
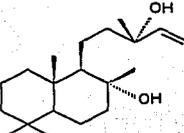
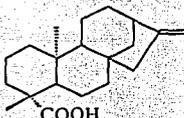
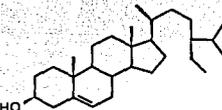
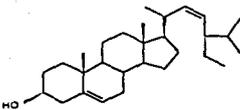
Se han aislado tres compuestos, que se resumen en la tabla 4. (Lara y Marquez, 1996).

#### ***Gnaphalium viscosum* kunth**

Se han aislado e identificado los compuestos de la tabla 3, a los cuales se les realizó un estudio de actividad antimicrobiana mostrando actividad inhibitoria (Sánchez, 2001).

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

Tabla 3. Compuestos aislados de *G. oxyphyllum* DC y *G. viscosum* kunth (Sánchez, 2001).

COMPUESTO	PARTE DE LA PLANTA	DISOLVENTE DE EXTRACCIÓN	ESPECIE
<p>Zoapatlina</p> 	flor, hoja	Hexano.	<i>G. oxyphyllum</i> DC <i>G. viscosum</i> kunth
<p>13-epiesclareol</p> 	Hoja	Hexano.	<i>G. oxyphyllum</i> DC <i>G. viscosum</i> kunth
<p>Ácido kaurenoico</p> 	flor, hoja	Hexano.	<i>G. oxyphyllum</i> DC <i>G. viscosum</i> kunth
<p><math>\beta</math> - sitosterol</p>  <p>Estigmaesterol</p> 	flor, hoja	Hexano	<i>G. oxyphyllum</i> DC <i>G. viscosum</i> kunth

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

Tabla 4 Compuestos aislados de *Gnaphalium wrightii* (Lara y Marquez, 1996).

COMPUESTO	PARTE DE LA PLANTA
$\alpha$ -farneseno (sesquiterpeno)	Raíz
5,7-dihidroxi-3,6-dimetoxiflavona (flavonoide)	Parte aérea

En cuanto a más estudios químicos, diversas especies del género *Gnaphalium* han sido estudiadas desde el punto de vista fitoquímico. Sin embargo, estas especies han sido colectadas fuera de México. Estas se resumen en la tabla 5.

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

Tabla 5. Tipos de compuestos que se han identificado de diferentes especies de *Gnaphalium*.

ESPECIE	TIPO DE COMPUESTO	REFERENCIA
<i>G. pellitum</i>	Flavonas y diterpenos	Torrenegra et al., 1992
<i>G. graveolens</i>	Diterpenos	Torrenegra et al., 1992
<i>G. multiceps</i>	Flavonas y chalconas	Maruyama et al., 1974
<i>G. gaudichaudianum</i>	Flavonas	Guerrero et al., 1982
<i>G. luteo-album</i>	Flavonas	Cuadra et al., 1997
<i>G. affine</i>	flavonas y chalconas	Morimoto et al., 2000
<i>G. robustum</i>	Flavonas	Cuadra et al., 1994
<i>G. elegans</i>	Flavona	Torrenegra et al., 1980

#### 3.4.4 Estudios de actividad biológica

##### ***Gnaphalium oxyphyllum* DC**

Los extractos de hexano, diclorometano y metanol así como de los compuestos aislados (zoapatlina, 13 -epiesclareol, ácido kaurenico,  $\beta$  -sitosterol y Estigmasterol), tienen actividad inhibitoria microbiana (Rojas et al., 2001).

##### ***Gnaphalium semiamplexicaule* DC**

La infusión obtenida de las flores ejerció un efecto relajante en músculo liso de íleon, y estimulante en útero de perro a dosis de 1g/mL de agua por cada animal. Esta infusión provocó una acción hipoglicémica en el mismo animal, cuando se administró por vía intravenosa (Argueta et al., 1994).

##### ***Gnaphalium viscusum* kunth**

El estudio de actividad antimicrobiana a los compuestos zoapatlina, 13 -epiesclareol y ácido kaurenico demostraron actividad inhibitoria en el crecimiento de *E. coli* (Sánchez, 2001).

#### IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Tradicionalmente, en nuestro país, se utilizan plantas para aliviar algunas enfermedades, dentro de las cuales, se encuentran las de vías respiratorias. Un problema que a menudo se presenta en la población mexicana es el estrechamiento parcial de las vías aéreas respiratorias en menor o mayor grado de acuerdo a la enfermedad en la que se presenta. El *Gnaphalium* sp, popularmente conocido como "gordolobo" se emplea predominantemente en el país para aliviar enfermedades respiratorias.

Existen estudios químicos de algunas especies del género *Gnaphalium* de donde se han identificado compuestos y se ha evaluado la actividad antimicrobiana de algunas especies, como *G. oxyphyllum*, y *G. viscusum*, los cuales muestran actividad contra *E.coli.*, sin embargo, no hay estudios biológicos enfocados a determinar el efecto sobre la pared de vías respiratorias tal como el efecto broncodilatador, y considerando el uso tradicional de esta planta para aliviar la irritación de garganta, bronquitis, tos, neumonía y asma, se decidió realizar el estudio de los extractos de la flor seca de la planta para evaluar su efecto broncodilatador en anillos de tráquea de cobayo.

## V. HIPÓTESIS

El uso extendido de gordolobo (*Gnaphalium* sp.) en la medicina tradicional mexicana para tratar padecimientos relacionados con las vías respiratorias se relacionará con la acción broncodilatadora que presentara en estudios *in vitro* realizados en anillos de tráquea de cobayo lo que permitirá proporcionar las bases experimentales que den soporte a su uso tradicional.

## VI. OBJETIVO

### 6.1 Objetivo general.

Evaluar el efecto broncodilatador *in vitro* de los extractos obtenidos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

### 6.2 Objetivos específicos

- Documentar los aspectos generales, etnobotánicos y fitoquímicos de diversas especies del género *Gnaphalium*.
- Valorar la acción broncodilatadora de diferentes extractos de *Gnaphalium* sp y comparar su acción con isoproterenol como fármaco de referencia broncodilatadora.
- Contribuir al conocimiento de la actividad farmacológica de la flora medicinal mexicana.

## **VII. MATERIAL Y METODO.**

### **7.1 Material vegetal.**

Las flores secas de *Gnaphalium* sp. se adquirieron en el Mercado de Sonora de la Ciudad de México. Una muestra de referencia se depositó en el Herbario del Centro Medico Nacional Siglo XXI con el número de registro IMSSM14224 y fue identificada por la M. en C. Abigail Aguilar Contreras.

### **7.2 Preparación de los extractos.**

Los extractos se prepararon de 500 g de flores seca de *Gnaphalium* sp., por maceración en forma sucesiva con hexano, diclorometano y metanol, manteniéndose a temperatura ambiente por tres días, se filtró y se eliminó el disolvente a presión reducida (Figura 1.). Los rendimientos de cada extracto se muestran en la tabla 6.

### **7.3 Animales**

Se utilizaron cobayos de ambos sexos con un peso corporal entre 300 y 400 g. Mantenidos a temperatura ambiente con libre acceso al alimento y al agua.

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

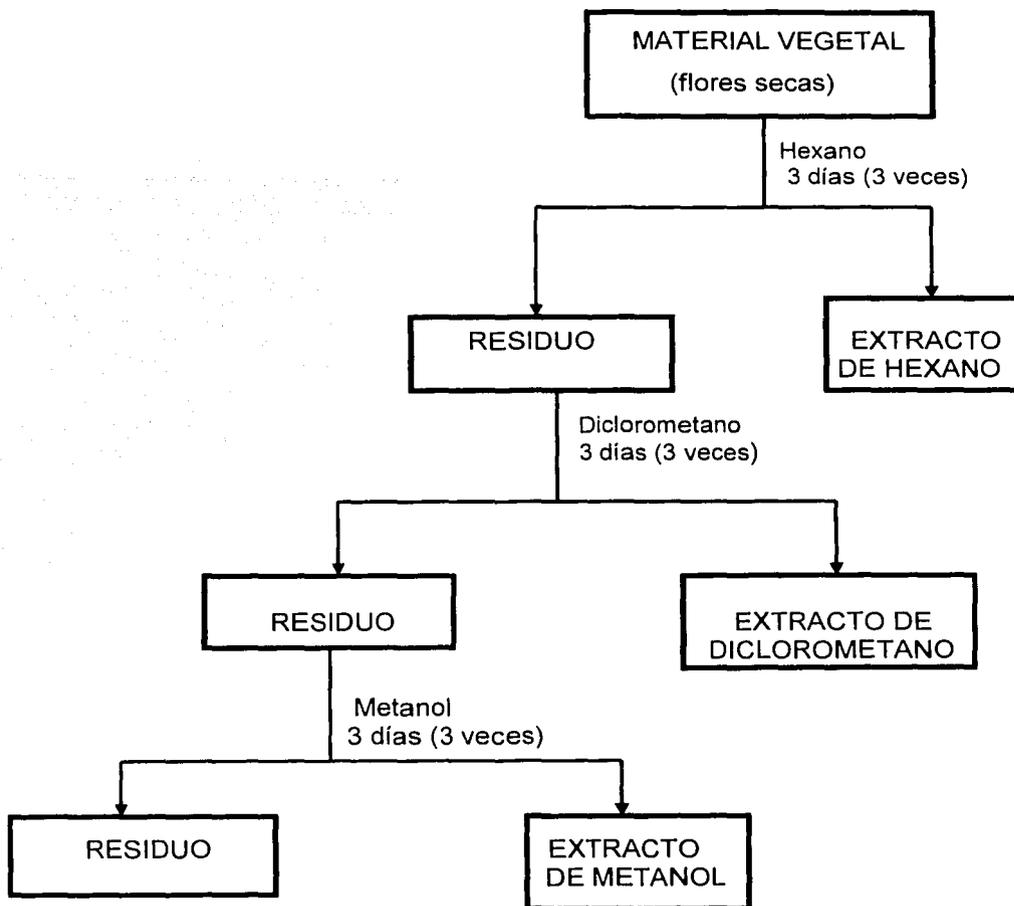


Figura 1. Diagrama de flujo de la obtención de extractos de las flores de *Gnaphalium* sp.

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

Tabla 6. Rendimiento de los extractos obtenidos a partir de 500 g de flores secas de *Gnaphalium* sp.

DISOLVENTE DE EXTRACCIÓN.	CANTIDAD DE DISOLVENTE (L)	EXTRACTO (g)	RENDIMIENTO* (%)
Hexano	13	5.6	1.12
Diclorometano	8	6.1	1.22
Metanol	6	58.2	11.64

\* En relación al peso seco de la planta.

#### 7.4 Fármacos

El clorhidrato de acetilcolina, clorhidrato de histamina, carbacol, propranolol e isoproterenol se adquirieron de Sigma Aldrich Co. (St. Louis MO). Las soluciones se prepararon minutos antes de ser utilizados.

## 7.5 Ensayo biológico

### 7.5.1 Disección de la tráquea y montaje de la preparación

Los animales fueron sacrificados mediante un golpe en la nuca, posteriormente se realizó la disección de la tráquea, limpiándola de tejido adherido. El órgano se mantuvo en una solución Krebs a 37° C cuya composición fue (mM): NaCl 118, KCl 4.7, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, MgSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 25.0, CaCl<sub>2</sub> ·2 H<sub>2</sub>O 2.2 y glucosa 11.0. La tráquea se cortó en 8 anillos de aproximadamente 2 mm de longitud y cada uno fue colocado en una cámara para tejido aislado con 10 mL de solución Krebs a 37° C. La preparación se suspendió entre dos ganchos de alambre Nicromel, uno de los extremos se fijó a la cámara y el otro al transductor de fuerza (Grass FT 03E) conectado a un polígrafo Biopack System. Los datos se obtuvieron de forma automática mediante el programa Acknowledge MP100 versión 3.5.3.

El tejido se sometió a una tensión inicial de 1g y se dejó estabilizar por una hora, realizando lavados con solución de Krebs cada 15 minutos en este periodo. Posteriormente, el tejido fue estimulado con clorhidrato de acetilcolina  $3 \times 10^{-5}$  M por tres veces a intervalos de treinta minutos. Después de cada estimulación el tejido se lavó tres veces con solución Krebs.

### **7.5.2 Evaluación del efecto inhibidor del extracto de *Gnaphalium* sp., sobre las contracciones inducidas por histamina y carbacol.**

Para evaluar el efecto inhibidor, se obtuvieron curvas dosis-respuesta acumulativa para histamina ( $10^{-6}$  –  $10^{-4}$  M) y para carbacol ( $3 \times 10^{-9}$  -  $3 \times 10^{-6}$  M). Con los datos obtenidos a partir de este experimento, se construyeron gráficas y se determinó la concentración que causó el efecto máximo. En un segundo experimento se obtuvieron curvas acumulativas incubando previamente el tejido con el extracto de cloruro de metileno aplicando una concentración de 100  $\mu\text{g/mL}$ .

### **7.5.3 Evaluación del efecto broncodilatador de los extractos de *Gnaphalium* sp.**

Para evaluar el efecto broncodilatador, el tejido fue precontraído con histamina  $3 \times 10^{-5}$  M y carbacol  $3 \times 10^{-6}$  M (en experimentos independientes), dejando en contacto al fármaco con el tejido hasta alcanzar la meseta (aproximadamente 6 minutos). Una vez en la meseta se aplicaron los extractos de hexano, de cloruro de metileno y de metanol de *Gnaphalium* sp. suspendido en agua destilada con trazas de Tween 80, a las concentraciones de 31, 100, 177.8 y 300  $\mu\text{g/mL}$  en forma acumulativa.

## Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

Las preparaciones se dejaron en contacto con cada concentración hasta observar una meseta de broncodilatación.

Por cada experimento se obtuvieron datos de la actividad de un control del tejido para descartar la posibilidad de una broncodilatación por la suspensión con el Tween 80, por lo que en las preparaciones control se le adicione una mezcla de Tween en agua en una proporción similar a la de los extractos. Además, también se obtuvieron datos del tejido contraído para descartar la relajación natural del tejido. Como fármaco de referencia se utilizó Isoproterenol en forma acumulativa a las concentraciones de  $10^{-9}$  a  $10^{-7}$  M. cada concentración se aplicó después de que se observó la meseta de broncodilatación (Figura 2)

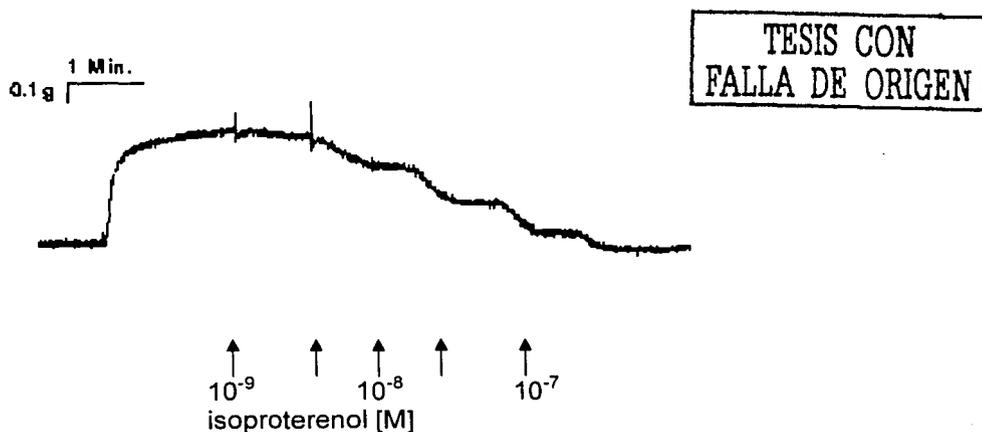


Figura 2 Registro de dosis-respuesta acumulativa de isoproterenol a concentraciones molares de :  $10^{-9}$  a  $10^{-7}$  , en las preparaciones *in vitro*.

#### **7.5.4 Determinación del efecto $\beta$ -adrenérgico.**

Para determinar el posible mecanismo de acción broncodilatadora de *Gnaphalium* sp., a través de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos las preparaciones precontraídas con histamina ( $3 \times 10^{-5}$  M) se incubaron por 5 minutos con propranolol ( $3 \times 10^{-6}$  M) antes de aplicar isoproterenol o el extracto en forma acumulativa a las mismas concentraciones empleadas en la evaluación del efecto broncodilatador.

## VIII. RESULTADOS

En las figuras 3 y 4 se presentan las curvas de concentración-respuesta del efecto contráctil provocado por carbacol y por histamina, respectivamente.

El efecto máximo para carbacol se alcanzó a las concentraciones de  $1 \times 10^{-6}$  M y para Histamina a la concentración de  $3 \times 10^{-5}$  M.

Los tres extractos evaluados presentaron efecto broncodilatador, tanto en las preparaciones precontraídas con carbacol (Figura 5) como para histamina (Figura 6) en las primeras el extracto hexánico presentó mayor efecto broncodilatador, seguido por el extracto de diclorometano y finalmente el de metanol (Figura 5). En las preparaciones precontraídas con histamina el efecto del extracto hexánico fue prácticamente igual al del extracto de diclorometano y nuevamente el extracto de metanol fue el menos activo (Figura 6).

El propranolol ( $3 \times 10^{-6}$  M) no inhibió el efecto broncodilatador del extracto de hexano, como se puede observar en la figura 7. En tanto que a la misma concentración, el propranolol inhibió prácticamente, y en su totalidad el efecto broncodilatador del isoproterenol (figura 8).

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

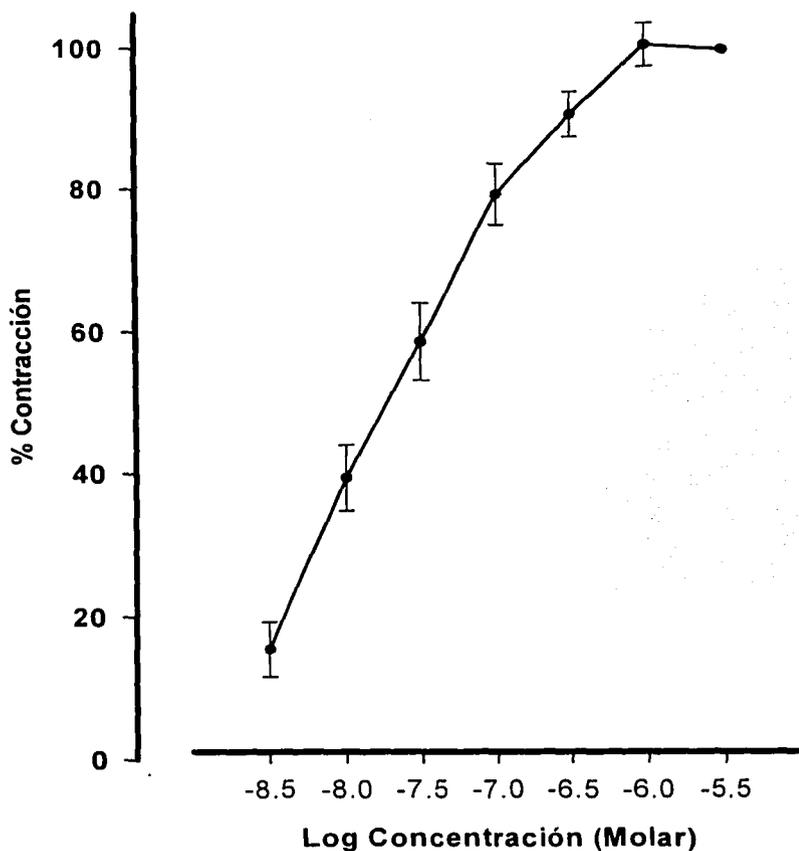


Figura 3. Curva dosis-respuesta acumulativa del músculo liso tráqueal de cobayo para carbacol a concentraciones molares de  $3 \times 10^{-9}$  a  $3 \times 10^{-6}$  M. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EEM de seis observaciones.

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

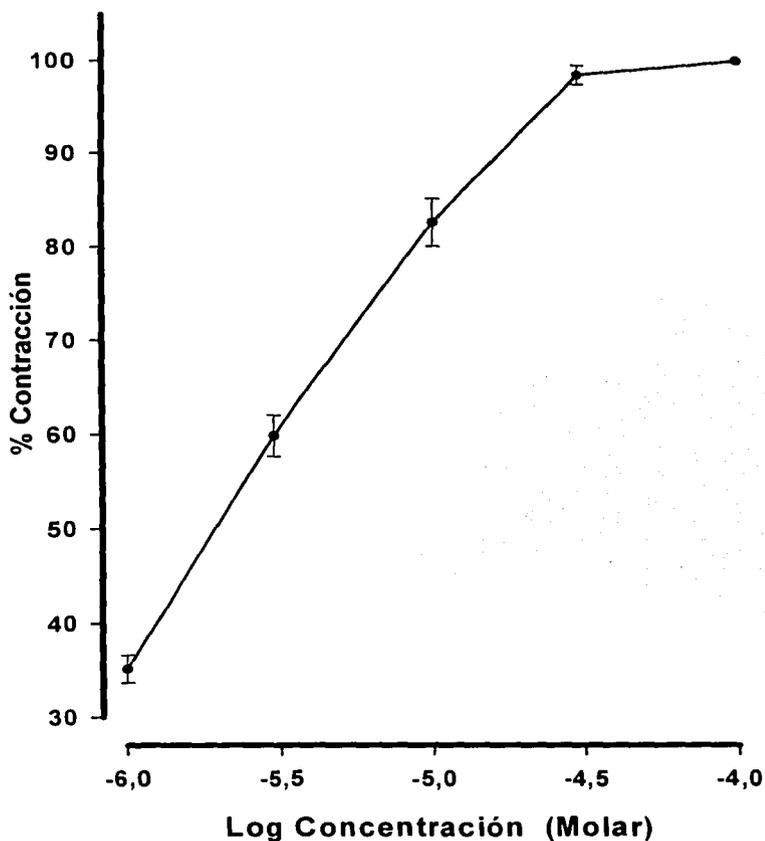


Figura 4. Curva dosis-respuesta acumulativa del músculo liso tráqueal de cobayo para histamina a concentraciones molares de  $10^{-6}$  a  $10^{-4}$  M. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EEM de seis observaciones.

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

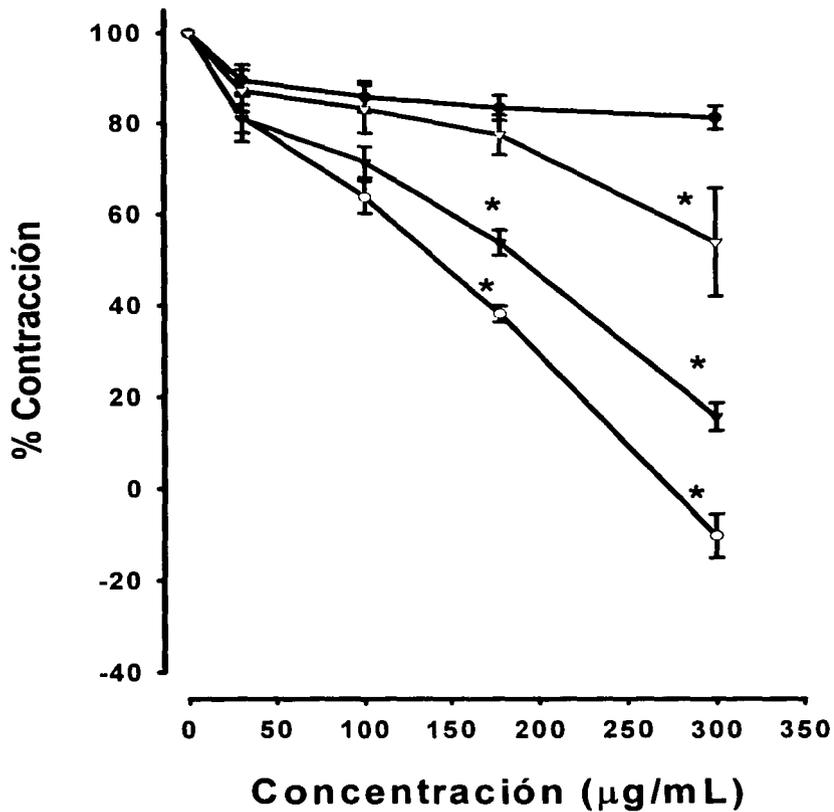


Figura 5. Efecto broncodilatador de los extractos de *Gnaphalium* sp, en anillos de tráquea de cobayo precontraídos con Carbacol ( $3 \times 10^{-6}$  M). —○— Extracto hénico, —▼— Extracto de diclorometano, —▽— Extracto metanólico y —●— Control. Los puntos representan el promedio  $\pm$  EEM de seis observaciones. \* $p < 0.05$  respecto al control.

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

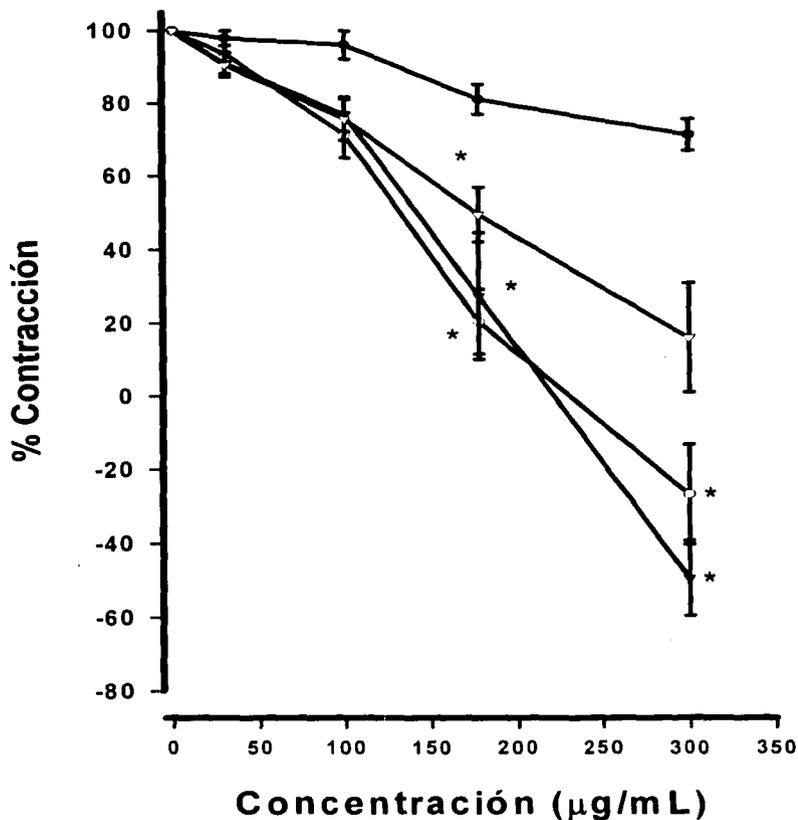


Figura 6. Efecto broncodilatador de los extractos de *Gnaphalium* sp, en anillos de tráquea de cobayo precontraídos con Histamina ( $3 \times 10^{-5}$  M). —○— Extracto hénanico, —▼— Extracto de diclorometano, —▽— Extracto metanólico y —●— Control. los punto representan el promedio  $\pm$  EEM de seis observaciones. \* $p < 0.05$  respecto al control.

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

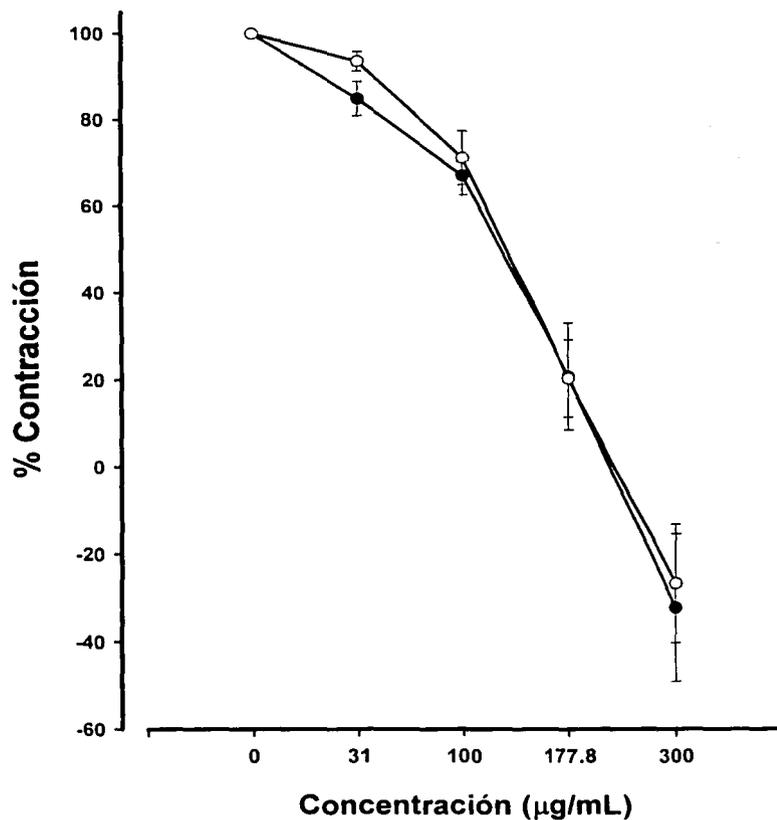


Figura 7. Efecto broncodilatador del extracto Hexánico de *Gnaphalium* sp precontraído con carbacol  $3 \times 10^{-6}$ , en presencia —●— y en ausencia —○— de propranolol  $3 \times 10^{-6}$ . (antagonista  $\beta$ -bloqueador). Cada punto representa la media  $\pm$  EEM de seis observaciones.

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

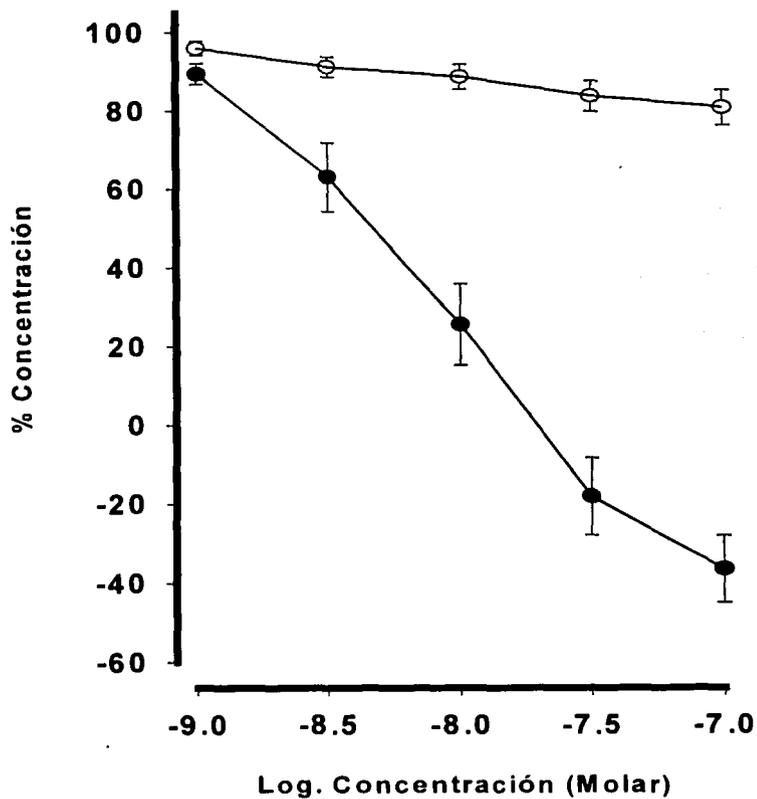


Figura 8. Curva dosis-respuesta acumulativa de isoproterenol a concentraciones molares de :  $10^{-9}$  a  $10^{-7}$  , en presencia  $\text{---}\circ\text{---}$  y en ausencia  $\text{---}\bullet\text{---}$  de propanolol  $3 \times 10^{-6}$  molar.

## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Dada la importancia del uso tradicional de las flores secas de *Gnaphalium* sp. en el alivio de enfermedades del aparato respiratorio, se encontró que a pesar del uso frecuente no hay evidencias de su efecto sobre vías respiratorias, lo cual encauso el desarrollo del presente trabajo. Para llevar a cabo la parte experimental, se sacrificaron cobayos y se aisló la tráquea para realizar los estudios *in vitro*.

En la preparación del tejido se observó variación de la respuesta contráctil en cada anillo de la tráquea, aun cuando la tensión inicial en cada uno fue la misma, por lo cual los experimentos se realizaron de manera que los anillos quedaron colocados en cada cámara en orden descendente respecto a la forma anatómica de la tráquea para descartar la posibilidad de que estuvieran influenciados por las regiones anatómicas del tejido, sin embargo no se encontró ninguna tendencia que lo confirmara. Es probable que esta variación se deba a la estructura anatómica de la que esta conformada la tráquea, así como se describen, son anillos cartilagosos, su forma es muy variable: algunos son regulares con bordes paralelos y extremidades posteriores idénticas; otros son irregulares con desdoblamientos (Latarjet y

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

Ruiz, 1995). Debido a esto para cada anillo se considero un valor de respuesta basal, y una respuesta máxima considerada como el 100% .

Para determinar la estabilidad del tejido en las condiciones con las que se llevarían a cabo los experimentos, también se realizó una repetición en curvas dosis-respuesta acumulativa tanto para carbacol como para histamina, en la misma preparación, después de haber realizado los lavados correspondientes y dejar una hora de estabilización observando que no son reproducibles, es decir, existe variación tanto en la línea basal, como en la respuesta máxima de contracción (figura 9), por lo tanto se realizaron experimentos independientes para la evaluación broncodilatadora.

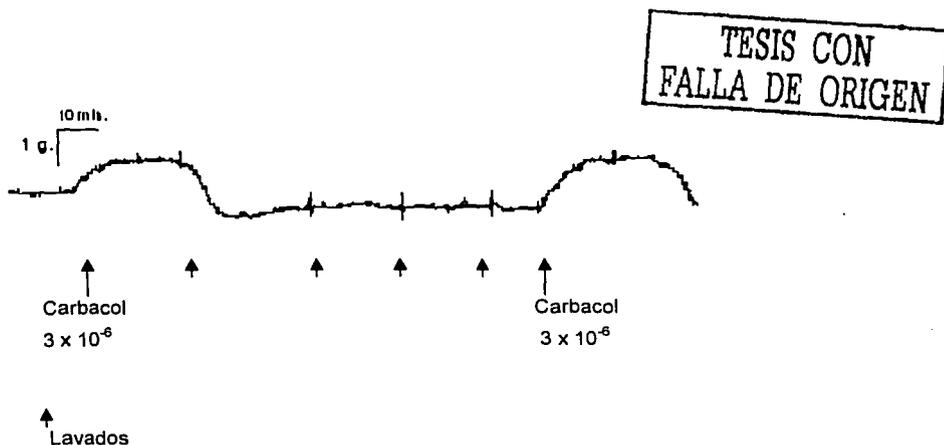


Figura 9. Registro que muestra la variación de la línea basal en la preparación *in vitro*.

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

Al evaluar el efecto inhibitor de las contracciones inducidas por histamina de los extractos de *Gnaphalium* sp., a la concentración de 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  se obtuvo una relajación de la línea basal del tejido durante el tiempo de incubación, es decir, antes de iniciar la aplicación de los agonistas de prueba, lo cual no permitió tener una línea base de referencia y determinar el porcentaje de inhibición. Esto llevó a concluir que el efecto de los extractos era broncodilatador, más que antagonista de la histamina. (figura 10)



Figura 10. Registro de la preparación *in vitro* incubado con 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de extracto de hexano *Gnaphalium* sp.

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

Al evaluar el efecto de broncodilatación con los extractos de *Gnaphalium* sp., se registró una relajación, sin embargo no se observaron mesetas bien definidas, por lo que entre cada aplicación de dosis del extracto se dejó un tiempo de incubación entre 5 y 6 minutos (tiempo en el que la dosis mayor alcanzó el efecto máximo de broncodilatación).

Todos los extractos presentaron efecto broncodilatador en las preparaciones de tráquea de cobayo, lo cual se puede apreciar en la figura 5 y 6, el registro de los canales control permitió observar que existe una caída natural de la contracción a través del tiempo (figura 11), por ello en cada experimento se incluyeron por lo menos dos anillos en los que se mantuvo el tejido contraído, esta caída aparece en las gráficas como el control.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

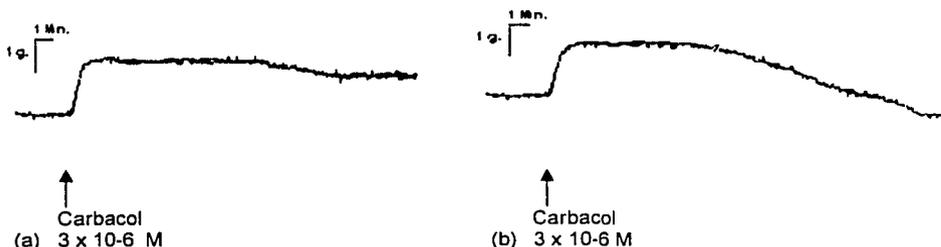


Fig. 11 Registro que muestra la caída natural del tejido (a) y el efecto broncodilatador (b) en preparaciones *in vitro*, de anillos de tráquea de cobayo.

## Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

Para poder determinar el posible mecanismo de acción del efecto broncodilatador de los extractos de *Gnaphalium* sp., se comparó con el efecto del isoproterenol, aplicando un antagonista adrenérgico, el propranolol, que antagoniza el efecto del isoproterenol (Figura 8). Al evaluar de esta manera el efecto del extracto hexánico se observó que el propranolol no inhibe el efecto broncodilatador del extracto, lo cual indica que el efecto broncodilatador no es debido a la acción sobre receptores  $\beta$ .adrenérgicos.

Los resultados anteriores demuestran que los extractos de *Gnaphalium* sp., tienen un efecto broncodilatador importante, lo que sienta las bases experimentales para relacionar su uso tradicional en el tratamiento de afecciones respiratorias. Estos resultados, junto a los antecedentes respecto a las propiedades antimicrobianas de *Gnaphalium* (Rojas et al., 2001; Sánchez, 2001) presentan un efecto interesante ya que en caso de afecciones de vías respiratorias en las que exista una infección bacteriana, el *Gnaphalium* puede actuar en forma dual; actuar en contra de los microorganismos y también provocando broncodilatación que favorecerá la respiración.

Es necesario realizar estudios adicionales para conocer la forma en que actúa el extracto hexánico ya que como se observó, su efecto es por un mecanismo independiente de la acción sobre los receptores  $\beta$ -adrenérgicos. También

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

resta conocer cual o cuales son los compuestos responsables del efecto broncodilatador presente en el *Gnaphalium* sp., para ello los estudio fitoquimicos realizados en diferentes especies de este género serán de gran utilidad.

## X . CONCLUSIONES

Las conclusiones que se desprenden de este trabajo son:

1. Los extractos de metanol, de cloruro de metileno y de hexano obtenidos de las flores seca de *Gnaphalium* sp., presentan actividad broncodilatadora sobre anillos de tráquea de cobayo.
2. El mecanismo de acción de *Gnaphalium* sp., como broncodilatador no es a través de receptores  $\beta_2$ -adrenérgicos.
3. El presente estudio es la primera evidencia experimental del efecto broncodilatador en el género *Gnaphalium* y sienta las bases que sustentan su uso en la medicina tradicional mexicana.

### **XI. Perspectivas**

1. Separar e identificar los compuestos responsables de la actividad broncodilatadora del extracto hexánico, obtenido de las flores secas de *Gnaphalium* sp.
2. Elucidar el posible mecanismo de acción del o de los compuestos activos, orientado a la participación de algunos eicosanoides (leucotrienos y Tromboxanos).

## XII. BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Haq, H., Cometa, M.F., Pamery, M., Leone, M., Silvestrini, B. and Saso, L. (2000) Relaxant Effects of *Hydrastis canadensis* L. and its Major Alkaloids on Guinea Pig Isolated Trachea. *Pharmacology and Toxicology*. 87, 218-222.
- Addy, M.E. and Burka, J.F. (1988). Effect of *desmodium adscendens* fractions on antigen- and arachidonic acid-induced contractions of guinea pig airways. *Can. Journal of Pharmacology*. 66, 820-825.
- Argueta, A., Cano, L., Gallardo, C. y Jiménez R. (1994) Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Tomo II. Instituto Nacional Indigenista. México. p. 675 – 680.
- Boskabady, M.H. y Shaikhi. ( 2000) inhibitory effect of *Carum copticum* on histamine (H<sub>1</sub>) receptors of isolated guinea-pig tracheal chains. *Journal of Ethnopharmacology* 69, 217-227.

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

- Campos, R.(1993) Estudios Químicos y Aspectos Biológicos de algunas plantas usadas en la medicina tradicional de México. En: La Investigación Científica de la Herbolaria Medicinal Mexicana. Secretaria de Salud. México. secretaria de Salud. p. 130.
- Cannig B. y Fischer A. ( 2001) Neural regulation of airway smooth muscle tone. *Respiration Physiology*, 125, 113-127.
- Campos, M.G., Toxqui, E., Tortoriello, J., Orpeza, M.V., Ponce, H., Vargas, H. and Montaña, L.M. (2001) Galphimia glauca fraction antagonizes LTD<sub>4</sub>-induced contraction in guinea pig airways. *Journal of Ethnopharmacology* 74, 7-15.
- Cosio, I. Celis, A. y Cosio M. (1984) Aparato Respiratorio Patología, clinica y terapeutica. 11<sup>a</sup> edición. México. p.91 – 93.
- Cuadra, P., Fajardo V., Muñoz, O., Arrieta A. y Urzúa A. (1994) Determination of the effect of 8-O-(2-Methyl-2-butenoyl) –5,7-dihydroxy-3-methoxyflavone from *Gnaphalium robustum* on Growth of *Escherichia coli* K-12 by Optical Density and Electrical Conductance Measurements. *Planta Medica*, 60; 598-599.

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

El Sayah, M., Filho, V.C., Yunes, R.A., Pinheiro, T.R. y Calixto, J.B.

(1998). Action of polygodial, a sesquiterpene isolated from *Drymis winteri*, in the guinea-pig ileum and trachea "in vitro". *European Journal of Pharmacology* 334, 215-221.

Flórez, J. (1997) *Farmacología Humana*. 3ª edición Ed. Masson S.A, México. p.705 – 709.

Ganong, W. (1998) *Fisiología Médica*. 16ª edición. Ed. Manual Moderno. México. P. 722-723

Guerreiro, E., Kavka, J. y Giordano, O. (1982) 5,8-dihidroxy-3,6,7-trimethoxyflavone from *Gnaphalium gaudichaudianum*. *Phytochemistry*, 21; 2601-2602.

Lara, F. y Márquez C. (1996) *Plantas Medicinales de México*. Dirección General de Publicaciones. Instituto de Química UNAM. p.63

Latarget, M. Y Ruiz, A. (1995) *Anatomía Humana*, Tomo II. 3ª edición. Ed. Panamericana México. p. 1241-1243

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

- Lozoya, X., Aguilar, A. y Camacho J. (1987). Encuesta sobre el uso tradicional de plantas en la Medicina Tradicional Mexicana. Revista Medica IMSS 25; 293-291.
- Morimoto, M., Kumeda, S. y Konai K. (200) Insect Antiffedant Flavonoids from *Gnaphalium affine* D. Don. J. Agric. Food Chem.48; 1888-1891.
- Mata, R. (1993) Estudios Químicos y Aspectos Biológicos de algunas plantas usadas en la medicina tradicional de México. En: La Investigación Científica de la Herbolaria Medicinal Mexicana. Secretaria de Salud. México. Secretaría de Salud p. 143 – 144.
- Rojas, G., Lévaro J., Tortoriello, J. y Navarro V. (2001) y Antimicrobial evaluation of certain plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of respiratory diseases . Journal of Ethnopharmacology . 74; 97 – 101.
- Rouviere, H y Delmas, A. (1999) Anatomía Humana, Descriptiva, Topográfica y Funcional 10ª ed. Ed. Masson Barcelona. 27

- Rzedowski, J. y Rzedowski, G. (1985) Flora fanerogámica del Valle de México. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas IPN. Volumen II. p. 507-508
- Sánchez, M (2001) Evaluación antimicrobiana de tres especies de plantas del género *Gnaphalium* y caracterización de los principios activos. Facultad de Química UNAM. p.68 – 69.
- Sánchez, O. (1986). La flora del valle de México Ed. Herrero 6<sup>a</sup> ed. México.
- Smith, C. y Reynard, A. (1993) Farmacología Ed. Panamericana México. p. 158 – 159, 996.
- Torrenegra, R., Escarravia, S., Raffelsberger, B. y Achenbach, H. (1980) 5-7- Dihidroxi – 3,6-8 – Trimetoxiflavone from the flowers of *Gnaphalium elegans*. *Phytochemistry* 19; 2795 – 2796.
- Torrenegra, R., Pedrozo, J., Robles, J., Waibel, R. y Achenbach H. (1992) Diterpenes from *Gnaphalium pellitum* and *Gnaphalium graveolens*. *Phytochemistry* 31; (7) 2415-2418

Evaluación del efecto broncodilatador de extractos de *Gnaphalium* sp. en anillos de tráquea de cobayo.

---

Vinay, K., Ramzis, C. y Stanley, R.(1992) Patología Humana. 5ª ed. Ed.

Interamericana. USA. p.401 – 407.

Ziment, I. (1983) Farmacología y Terapéutica del Aparato Respiratorio. Ed.

Panamericana. Buenos Aires. p.126 – 141.

**ESTA TESIS NO SALI  
DE LA BIBLIOTECA**