



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

"ACTIVIDAD OXITOCICA DE *Heimia salicifolia*"

T E S I S

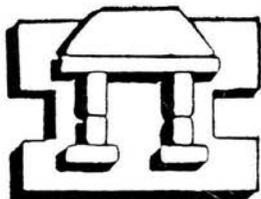
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

MARIA LUISA NIETO LOPEZ

DIRECTOR DE TESIS: M. en C. DAVID SEGURA COBOS



IZTACALA

LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MEXICO

2003



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Farmacología de Productos Naturales de la Unidad de Investigación Interdisciplinaria de Ciencias de la Salud y la Educación de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM con la dirección del M. en C. David Segura Cobos.

AGRADECIMIENTOS

Al Maestro en C. David Segura Cobos por su amistad, paciencia y apoyo profesional para la elaboración de este trabajo.

Al Biol. Gabriel Martínez Cortés por su apoyo en la elaboración de este trabajo, por sus consejos y su apoyo moral.

A todo el equipo del Laboratorio de Fitoquímica de la Unidad de Biología, Tecnología y Prototipos de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, por brindarme su apoyo profesional y sobre todo su amistad.

Al equipo de Farmacología de la UIICSE de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, por su apoyo profesional y por darme todas las facilidades para la elaboración de este trabajo.

A MGNL por haber sacrificado intereses personales para ofrecerme una mejor calidad de vida.

*Porque valoro lo que tengo,
lo que la vida valiosamente me regaló;
Con la capacidad de elegir lo que quiero,
de dar lo que puedo, de amar lo que me
rodea y ser lo que soy.*

MLNL

DEDICATORIA

A mis padres: Por haberme dado la vida. Por darme el valor y enseñarme a luchar en la vida.

A Claudia e Isaac: Por darme la dicha de estar conmigo y ser ese motor que me da energía para seguir caminando, los amo.

A Ernesto: Por compartir parte de tu vida conmigo por haberme regalado momentos inolvidables y ser parte de lo más valioso que dios me dio.

A mis hermanos: Porque juntos hemos disfrutado parte de nuestras vidas, de las cuales penden sentimientos de cariño y amor.

A la familia Guerrero Rico: Por darme su comprensión, su cariño por darme mi espacio y ser parte de mi familia.

A mis amigos(as): Por darme apoyo moral y estar siempre a mi lado en todo momento.

INDICE

	Pág.
IZT.	
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
Anatomía del útero.	1
Fisiología del útero	1
Regulación de la contractilidad uterina.	4
Control de parto.	5
Parto a término.	6
El control endócrino del parto a término.	6
Morfofisiología del útero de la rata.	7
ANTECEDENTES	10
Medicina Tradicional	10
Descripción de <i>Heimia salicifolia</i>	12
Taxonomía	14
Etnobotánica	14
Fitoquímica	15
II. OBJETIVOS	16
Objetivo general	16
Objetivos particulares	16
III. MATERIAL Y MÉTODOS	17
Material vegetal.	17
Ensayo biológico.	17
Curva concentración - respuesta a la oxitocina.	18
Extracto acuoso.	18
Curva concentración - respuesta al extracto acuoso de las hojas de <i>H. salicifolia</i> .	18
Fraccionamiento químico del extracto acuoso.	18
Cromatografía en capa fina.	19
Análisis estadístico.	19
IV. RESULTADOS	20
Material vegetal.	20
Rendimientos de los extractos de las hojas.	20
Determinación del efecto biológico.	21
Efecto del extracto acuoso de las hojas de <i>H. salicifolia</i> .	22

Efecto del extracto metanólico de las hojas de <i>H. salicifolia</i> .	23
Efecto del extracto clorofórmico de las hojas de <i>H. salicifolia</i> .	24
Separación cromatográfica de la fracción clorofórmica.	25
Inhibición del efecto uterotónico de <i>H. salicifolia</i> por la indometacina.	26
Fracción 3 uterocontrayente.	27
Efecto del extracto acuoso de las flores.	28
V. DISCUSIÓN	29
Modelo farmacológico.	29
Oxitóicos.	30
Efecto de la oxitocina.	30
Efecto del extracto acuoso de las hojas de <i>H. salicifolia</i> .	31
Efecto de la fracción metanólica del extracto acuoso de las hojas de <i>H. salicifolia</i> .	31
Efecto del extracto clorofórmico de las hojas de <i>H. salicifolia</i> .	31
Efecto inhibitorio de la indometacina sobre la actividad uterotónica de <i>H. salicifolia</i> .	32
Efecto de la fracción 3 de la porción soluble en cloroformo del extracto acuoso de las hojas de <i>H. salicifolia</i> .	34
Actividad uterotónica del extracto de las flores.	34
VI. CONCLUSIONES	35
VII. APÉNDICE	36
VIII. BIBLIOGRAFÍA	47

RESUMEN

El presente trabajo tuvo el objetivo de probar si el extracto acuoso de las hojas de *Heimia salicifolia* induce la contracción del útero aislado de ratas estrogenizadas.

Heimia salicifolia, arbusto de la familia Lythraceae, se utiliza en la medicina tradicional como abortivo. Se pesaron 200g de hojas secas y se pusieron a ebullición en 4 litros de agua bidestilada por 1h. Una vez fría se filtró con papel Whatman #1 y el extracto acuoso obtenido se secó y se pulverizó. Una parte del extracto acuoso se utilizó para el bioanálisis y la otra se extrajo con metanol (1:20 p/v) a temperatura ambiente. La fracción metanólica se filtró y se secó, posteriormente se disolvió en agua una parte para el bioanálisis y otra para la extracción con cloroformo; la fracción clorofórmica se concentró y se secó de igual manera.

La actividad de las fracciones se estudió en el útero aislado de ratas hembras wistar de 200 a 250g, previamente estrogenizadas con dietilestilbestrol (1mg/kg, sc). Después de 24h se obtuvo el útero y se colocó en una cámara para órgano aislado con burbujeo constante de una mezcla de O₂/CO₂ 95:5, a 30° C.

Se realizaron curvas concentración-respuesta a oxitocina (control), al extracto acuoso y a la fracción metanólica. Los resultados nos muestran la respuesta máxima a oxitocina sobre el útero aislado con 0.8 ng/ml, la del extracto acuoso con 450 µg/ml y del metanólico con 271.1 µg/ml. El efecto de la fracción clorofórmica del extracto acuoso fue un máximo con 108 µg/ml. Se observó la inhibición del efecto uterotónico de la fracción clorofórmica por pretratamiento del útero aislado con indometacina (100 µg/ml, por 30 min). El extracto metanólico se separó por cromatografía en capa fina de sílica gel G-60 empleando la mezcla de eluyentes metanol-cloroformo (4:1); las fracciones separadas se ensayaron en el útero aislado

y la fracción 3 (más cercana al frente de solventes) mostró tener el efecto oxiótico.

Estos resultados muestran la presencia de sustancias con actividad oxiótica en *Heimia salicifolia* y explican su uso en la medicina tradicional como abortivo.

I. INTRODUCCION

Anatomía del útero.

El útero es un órgano muscular (músculo liso → miometrio), cubierto en parte por el peritoneo o serosa, con una cavidad triangular recubierta por una capa de tipo epitelial, el endometrio; esta cavidad se continúa en el canal cervical. Se sitúa en la cavidad pélvica, entre la vejiga y el recto, con su porción inferior (el cuello) proyectándose en la vagina. Es una estructura piriforme, que se torna globulosa ante el cambio de contenido que ocurre durante el embarazo (Figura 1). En su extremo superior, conocido como fondo uterino, se insertan, en forma simétrica, las trompas uterinas, que proporcionan el camino final a recorrer por los espermatozoides para el logro de la fecundación y por el óvulo, de manera reversa, para la implantación, en caso de haber sido fecundado o su eliminación, en caso de no haberlo sido (menstruación). En un corte, puede observarse que en el cuerpo uterino (Fig. 2) existe un espacio virtual, ligeramente triángular, continuándose con el canal cervical.

Fisiología del útero

Al haber mencionado anteriormente que el útero es un órgano *muscular*, se hace evidente que su fisiología tendrá que ver principalmente con su contractilidad. El miometrio puede contraerse en cualquier momento, sin embargo, su capacidad es muy variable con respecto al estado fisiológico de la mujer. El útero, de una manera análoga si se quiere a la del corazón, es capaz de mostrar una actividad eléctrica (y, por ende, contráctil) espontánea significativa, al parecer proveniente de zonas "marcapaso", que se ubicarían cerca de la inserción de las trompas uterinas, favoreciendo una contracción "de arriba abajo", que facilita la eliminación del contenido. Esta transmisión eléctrica puede facilitarse por la existencia de uniones estrechas entre las células.



Figura 1. Utero en el embarazo.

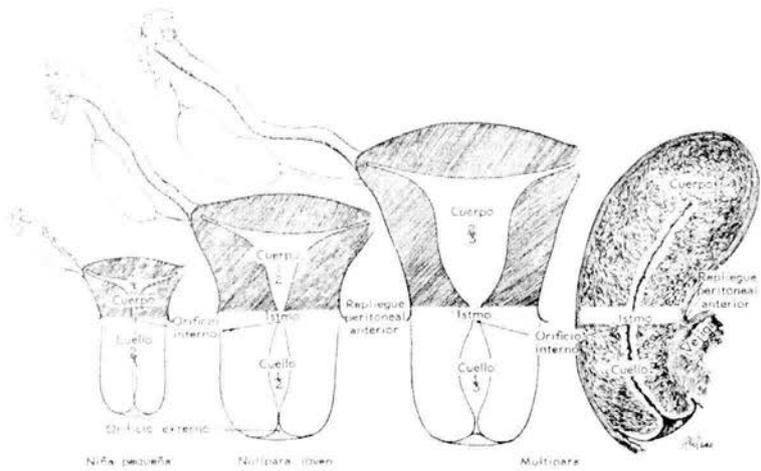
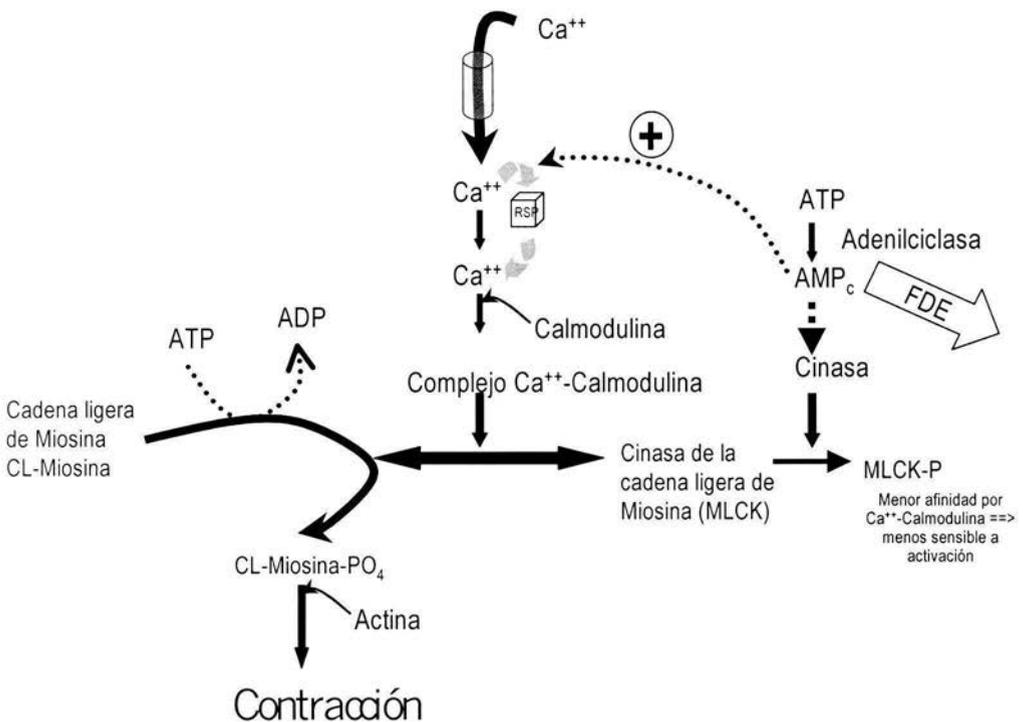


Figura 2. Utero en diversas etapas.

En la figura 3, puede observarse, esquemáticamente, la manera en que se produce la contracción uterina. Puede observarse que, como era de esperarse, la misma depende de manera vital de la presencia de Calcio, tanto extra como intracelular (almacenado en el retículo sarcoplásmico - RSP-) y, además, de la fosforilación de las cadenas ligeras de miosina, gracias a una cinasa dependiente de calmodulina (MLCK). El AMPc puede inducir



inactivación (por fosforilación) de la cinasa de la cadena ligera de miosina.

Figura 3.- Bioquímica de la contracción uterina.

Regulación de la contractilidad uterina.

La contracción uterina tiene una rica regulación (Mitchell, 1998), fundamentada en:

1. Regulación autonómica: tanto simpática como parasimpática, con predominio de la primera. La regulación simpática incluye acción en receptores α_1 y receptores β_2 , mediando contracción y relajación, respectivamente. La activación parasimpática media constricción y es de mayor importancia en la mujer no embarazada, en la cual facilita la menstruación.
2. Regulación por mediadores sintetizados *in situ*: las prostaglandinas, en general, tienden a mediar efectos de estimulación de la contracción uterina.
3. Regulación endocrina: implicando efectos opuestos de los progestágenos y los estrógenos, como se muestra a continuación:
 - Progesterona: hormona que induce un efecto inhibitorio, siendo la encargada del mantenimiento del embarazo. Media:
 - Hiperpolarización → refractariedad a los estímulos constrictores
 - Mayor fijación de Ca^{++} al RSP, haciéndolo menos disponible para el proceso contráctil
 - Menor liberación de Araquidonato y, por ende, menor síntesis de prostaglandinas
 - Menos receptores a oxitocina y alfa adrenérgicos, que median contracción
 - Estrógenos: son promotores de la contracción uterina, incluyendo estos mecanismos:
 - Más uniones estrechas entre células miométriales, lo que conlleva a una transmisión rápida del estímulo
 - Mayor Unión a proteínas plasmáticas de la Progesterona

- Mayor síntesis de Prostaglandinas
- Más receptores a oxitocina y alfa adrenérgicos.

4. Otros: se han implicado también otros diversos factores, como la endotelina, el factor activante plaquetario, las citoquinas etc.

En el embarazo, se tiende a mantener una alta relación progesterona/estrógenos, que va cambiando lentamente al principio y, cerca del momento del parto (semanas 34-36), se invierte bruscamente, lo que aumenta la excitabilidad y favorece el inicio del trabajo de parto (alrededor de las 40 semanas,). Así pues, la contractilidad uterina varía ampliamente según el momento del embarazo.

Aunque se acepta que este cambio de relación, el aumento del volumen del contenido (feto + placenta), el aumento de la actividad fetal y cambios en la proteína G tienen mucha importancia en el inicio del trabajo de parto, aún no se ha establecido un factor específico que se pueda considerar como el desencadenante del mismo.

CONTROL DE PARTO

Introducción

El parto consiste en el proceso fisiológico mediante el cual el feto es expulsado del útero al mundo externo. Está definido por un incremento en la actividad miométrial o, más precisamente, por un cambio en el patrón de contractilidad del miometrio, que borra y dilata el cuello uterino. En el proceso normal, hay una relación tiempo dependiente entre las modificaciones bioquímicas en el tejido conectivo del cuello que generalmente preceden a las contracciones uterinas y a la dilatación cervical. Todos estos eventos normalmente se desarrollan antes de la ruptura espontánea de las membranas fetales (Mitchell, 1998).

Parto a término.

El parto a término puede ser definido fisiológicamente como la liberación del miometrio de los efectos inhibitorios del embarazo, más que como un proceso activo mediado por estimulantes del útero. La regulación de la actividad uterina durante la gestación y parto puede dividirse en 4 fases fisiológicas.

Durante el embarazo, el útero es mantenido en un estado de reposo funcional (fase 0). Esto sucede mediante la acción de inhibidores como progesterona, prostaciclina, relaxina, óxido nítrico, péptido asociado a la hormona paratiroide, hormona liberadora de corticotropina, lactógeno placentario humano, entre otros. Antes de término, el útero es activado (fase 1) y estimulado (fase 2).

La activación se produce en respuesta a las uterotropinas, con inclusión de los estrógenos, y se caracteriza por el aumento de la expresión de una serie de proteínas asociadas con la contracción, activación de ciertos canales de calcio e incremento de la conexina 43. Una vez activada, la matriz puede ser estimulada por uterotoninas como la oxitocina y las prostaglandinas estimuladoras E_2 y $F_{2\alpha}$. Por último, la involución del útero luego del alumbramiento sobreviene durante la fase 3 mediada principalmente por la oxitocina.

El control endocrino del parto a término.

Como en otros músculos lisos, las contracciones miométriales están mediadas por la unión de la miosina a la actina de carácter ATP dependiente. La regulación del mecanismo contráctil del útero es principalmente humoral, dependiente de factores intrínsecos de las células miométriales, o ambos. Probablemente haya una cascada en el parto a término que elimine los mecanismos que mantienen la inactividad uterina y atraiga factores

promotores de la actividad uterina. En tal modelo, cada elemento está conectado al siguiente; muchos de ellos son parte de múltiples circuitos de retroalimentación positiva. El parto a término en el ser humano es un evento fisiológico que involucra una serie de cambios integrados en los tejidos uterinos que se desarrollan en un lapso de días o semanas. Los cambios incluyen el aumento de la síntesis y liberación de prostaglandinas en el útero y la activación contráctil de miosina y actina al calcio. La nifedipina es tan eficaz como los 2 anteriores; se asocia además con menores efectos adversos maternos. La terapia de mantenimiento por más de 48 horas no brinda beneficios adicionales, con mayor riesgo de efectos adversos. En las mujeres con ruptura prematura de las membranas fetales, la tocólisis no es eficaz; por lo tanto, los autores recomiendan evitarla.

El parto es un proceso fisiológico complejo que involucra señales fetales, placentarias y maternas. La evidencia indica que el feto controla el momento de inicio y por ende su nacimiento, aunque todavía se desconoce el mecanismo exacto. La comprensión de los mecanismos responsables del parto a término permitirá incrementar el conocimiento sobre los trastornos del alumbramiento y mejorar la capacidad que asegure la culminación exitosa de la gestación.

MORFOFISIOLOGIA DEL UTERO DE LA RATA.

El útero en rata es de tipo dúplex, es decir, presenta dos cuernos uterinos, cada uno con un cuello o cerviz. Es un órgano hueco cuyas paredes consisten de una membrana mucosa que reviste el lumen, una capa intermedia de músculo liso y una envoltura serosa de peritoneo; desde el punto de vista fisiológico son de gran importancia dos capas; el endometrio y el miometrio, que corresponden a la mucosa y a la capa intermedia respectivamente (Alvarez Rodríguez. 1992).

El útero es un órgano musculoso y hueco, parcialmente revestido por el peritoneo, que presenta dos regiones fundamentales: el cuerpo uterino y el cuello uterino, entre ambos hay una porción intermedia, el istmo.

El endometrio presenta un revestimiento luminal formado por un epitelio cilíndrico y una capa superficial glandular con un soporte de tejido conectivo. Las glándulas endometriales son tubulares y ramificadas se llegan a enrollar en la porción del adenómero. El grosor y la vascularidad de esta capa endometrial están influenciadas por las hormonas del ovario durante el ciclo estral. En las ratas se presentan ciclos continuos cuya duración va de cuatro a seis días.

En general, el ciclo se divide en cuatro etapas sucesivas: proestro, estro, metaestro y diestro. Durante las etapas los cambios morfológicos, funcionales y de comportamiento son características físicas del animal (Bowman y Rand, 1991).

Durante el proestro, el endometrio es condicionado por los estrógenos a incrementar su vascularidad; el epitelio luminal llega a ser bajo en altura y sus glándulas presentan poco crecimiento, aunque permanecen rectas y se ramifican ligeramente. Durante el estro y el inicio del diestro la estructura del endometrio se engrosa, su superficie epitelial llega a ser más alta y las glándulas uterinas crecen a su máximo tamaño enrollándose y ramificándose más que en otras fases del ciclo, siendo su secreción más activa. En el diestro tardío, el endometrio se adelgaza y sus glándulas pierden tamaño y dejan de secretar (Bowman y Rand, 1991).

El miometrio, es la porción muscular de la pared uterina, con una capa gruesa circular interna y una delgada longitudinal externa de músculo liso entre las cuales está insertada una capa de tejido conectivo bien vascularizado con vasos sanguíneos, linfáticos y además de una buena inervación.

El papel de las contracciones uterinas en el desencadenamiento del parto son bien reconocidas. Los estrógenos sensibilizan al útero para la acción de la oxitocina, misma que provoca las contracciones y con altos niveles de

IZT.

progesterona antagonizan este efecto; las concentraciones de ambas hormonas se elevan durante el embarazo vía sanguínea. También el útero durante el orgasmo se contrae, simultáneamente se ensancha el cerviz y produciendo las contracciones rítmicas del útero y de las trompas de falopio, de manera que se optimiza la ascensión de los espermios.

En el miometrio de hembras de mamíferos, se demuestra claramente la presencia de receptores α_1 y β_2 adrenérgicos. Como se observa en otros músculos lisos, se piensa que los efectos inhibidores de los agonistas de receptores β_2 -adrenérgicos en la contractilidad uterina son mediados por la adenosina 3', 5'-monofosfato (cAMP) (Carsten y Miller, 1987). Se ha demostrado la presencia de receptores excitadores para la oxitocina. Las prostaglandinas E2 y F2 α y, en algunas especies, la 5-hidroxitriptamina (5-HT) intensifican la actividad contráctil del útero. El músculo liso es sensible a influencias endocrinas, particularmente a los estrógenos.

La oxitocina estimula la frecuencia y potencia de actividad contráctil del músculo liso uterino. A mayores concentraciones, ocurren decrementos sostenidos del potencial de membrana en reposo. A concentraciones "umbrales", no cambia el potencial de membrana y oxitocina desencadena descargas "en aguja" o espiga, incrementa la frecuencia y el número de espigas en la descarga en "andanadas" y aumenta la amplitud de las descargas de espiga. Los efectos anteriores dependen notablemente de la presencia de estrógenos, y el útero inmaduro es muy resistente a la acción de la hormona. La progesterona antagoniza el efecto estimulante de la oxitocina in vitro, pero ha sido difícil demostrar el efecto correspondiente en el útero de la gestante humana. La oxitocina ejerce dos efectos en el útero: regula las propiedades contráctiles de las células miometriales y desencadena la producción de prostaglandina por las células del endometrio y decidua.

El músculo liso del útero se caracteriza por un alto grado de actividad eléctrica y contráctil espontánea. Cada contracción se acompaña de ondas



de disminución del potencial de membrana con actividad "en agujas" sobreañadida. La mayor frecuencia y duración de la actividad "en zonas de marcapaso" y la propagación más extensa de la excitación se acompañan de incrementos en la fuerza de contracción. En casi todas las especies (incluida la humana), la penetración del ion sodio al parecer interviene en forma primaria en la despolarización. La cantidad disponible de calcio extracelular influye poderosamente en la respuesta del músculo liso uterino a diversos estímulos fisiológicos y farmacológicos.

En el músculo liso la contracción se inicia por el proceso relativamente lento de fosforilación de las cadenas ligeras de miosina, reacción que es catalizada por miosincinasa de cadena ligera, una enzima que depende de calcio y calmodulina.

El útero posee inervación parasimpática y simpática, la primera por el nervio pélvico y la segunda por las fibras posganglionares de los ganglios mesentéricos inferiores hipogástricos.

ANTECEDENTES.

MEDICINA TRADICIONAL.

Plantas con actividad oxitócica.

El hombre primitivo vivió en estrecha relación simbiótica con su ambiente, y conoció los efectos de muchas sustancias obtenidas de las plantas. Algunas de estas sustancias las identificó como venenosas y las evitó como fuente alimenticia, empleándolas únicamente para la cacería; y otras las identificó y las empleó para uso medicinal y formaron parte de la medicina tradicional (Bowman y Rand, 1985; Hardman y col.,1996). Fue hasta la segunda mitad del siglo XX cuando se prestó más atención a los productos naturales como fuentes potenciales de fármacos para diversas aplicaciones terapéuticas. En la actualidad el uso de las plantas medicinales ha tomado gran importancia, por lo que resulta necesario

evaluar los efectos farmacológicos de las plantas medicinales, que de acuerdo al conocimiento empírico presentan actividad biológica, y corroborar dicha actividad (Levine y Clark, 1982).

Algunas de las plantas medicinales utilizadas por los grupos indígenas de México ya se encuentran caracterizadas. Sin embargo, aún quedan plantas por estudiar, en especial aquellas a las que se les atribuyen efectos de tipo: neurotóxico, nefrotóxico, hepatóxico, hemotóxico, irritantes, cardiotoxico y de tipo abortivo.

En buena parte se cuenta con información anecdótica o superficial que requiere de una evaluación integral que comprenda desde los aspectos etnobotánicos hasta los estrictamente químicos y farmacológicos.

Diversos grupos de investigadores han reportado que algunos extractos de plantas tienen la capacidad de estimular la respuesta contráctil en el útero aislado de la rata. Corallo y col. (1991) informaron sobre la actividad uterotónica del extracto acuoso de las hojas de *Bridelia atroviridis* sobre la actividad del útero de la rata, y obtuvieron una respuesta dependiente de la concentración desde 5×10^{-6} g/ml hasta 1.2×10^{-3} g/ml. Datte y col., en 1996, mostraron los efectos uterotónicos del extracto hidrometanólico de *Parquetina nigrescens* sobre la actividad contráctil espontánea en el útero aislado de ratas preñadas, comparables a los provocados por la prostaglandina E2..

El extracto metanólico de *Tagetes foetidissima*. D.C presenta actividad estimulante sobre el músculo uterino de rata en estro; dosis de 80 mg/ml producen contracciones sostenidas y la respuesta disminuye a dosis mayores. Se ha observado que los principios activos de esta planta son compuestos polares (Vargas y col., 1992).

Otra planta que tiene actividad oxiótica es la ruda (*Ruta chalepensis*) la cual ha sido estudiada por Gijón y col. (1992) y Alvarez y col. (1994). La ruda produce aumento del tono y de la actividad espontánea uterina e intestinal en todas las fases del ciclo estral de la cobaya (Cartas y col., 1994). En ratas

hembras la ingestión de la ruda les produce estro permanente, el cual se mantiene dos semanas después de retirar la ingesta de ruda.

El extracto acuoso de zoapatle (*Montanoa frutescens*) ha sido ampliamente estudiado y se ha observado que aumenta la contractilidad uterina y también se ha observado que la atropina (antagonista colinérgico) inhibe este efecto (Perusquia y col., 1985).

Xavier Lozoya en 1976 describe algunas plantas de tipo abortivo separándolas en dos grupos: unas de tipo irritante y otras como oxióticos primarios, que de alguna manera, actúan sobre el músculo liso del útero.

El grupo de las plantas con efectos oxióticos está formado por plantas que habitualmente se utilizan como condimentos alimenticios por ejemplo el orégano, el epazote, la hierbabuena, el estafiate, etc. Y presenta el riesgo potencial, dependiendo de la cantidad ingerida de producir tetania y ruptura del útero con la consiguiente posibilidad, de producir aborto y en el embarazo a término, muerte fetal y materna (Hardman y col., 1996)

En la medicina tradicional el arbusto *H. salicifolia* ha sido utilizado para producir aborto; sin embargo, no existen estudios farmacológicos reportados sobre su actividad oxiótica.

Heimia salicifolia.

DESCRIPCION DE *H. Salicifolia*

Arbusto de 0.5 a 1.5(3) m de alto; hojas principalmente opuestas, sésiles o cortamente pecioladas, láminas lanceoladas, linear-lanceoladas o linear-oblanceoladas, de 1.5-9 cm de largo por 0.5-1 cm de ancho, ápice obtuso a agudo, borde entero, base decurrente, el envés de color más pálido que el haz; flores cortamente pedunculadas, solitarias, axilares, con un par de brácteas anchas en la parte inferior del receptáculo, mismo que es campanulado y mide 5-9 mm de largo incluyendo los sépalos triangulares, apéndices intersepálicos más cortos y angostos que los sépalos; pétalos amarillos, obovados, de 10-18

mm de largo, pronto caedizos; estambres 10-18 (hasta 27); cápsula dehiscente en 4 valvas, envuelta en el receptáculo algo agrandado, globosa, de alrededor 4mm de diámetro, conteniendo numerosas semillas. El fruto es una cápsula que se abre en 4 valvas, globosa, envuelta en el receptáculo algo ensanchado (Malone y Rother, 1994).



Figura 5. *Heimia salicifolia* Kunth

TAXONOMÍA

Reino: Plantae

Subdivisión - Angiospermae

Clase: Dicotyledonae

Orden- Myrtiliflorae

Familia- Lythraceae

Género - *Heimia*

Especie - *salicifolia*

Nombre Común - Sinicuiche, hierba de San Francisco, hauchinal, grandadillo, escobilla del río, quiebra yugo, Jarilla (Mich.).

SINONIMIA CIENTIFICA:

Nesaea salicifolia

HÁBITAT: Vegetación secundaria derivada de selvas tropicales principalmente a orillas de zanjas y de arroyos, entre 2250-2400 m snm.

MANEJO: Se fomenta su presencia y la planta florece y fructifica a lo largo de casi todo el año.

COMERCIALIZACIÓN: No se encontraron reportes de comercialización formal para la especie.

DISTRIBUCION GEOGRAFICA.

Nativo de América, se extiende desde Texas hasta Argentina . En México se encuentra de Baja California a Tamaulipas , y desde allí llega hasta Oaxaca pasando por Jalisco , Michoacán , Veracruz y el Valle de México (Malone/ Rother 1994).

ETNOBOTANICA.

Este arbusto poco llamativo, que crece en bosques y matorrales a la orilla de corrientes de agua , figura desde hace mucho tiempo en la farmacopea popular mexicana, se diría que es una panacea si se tomaran en cuenta todas las virtudes medicinales que se le han atribuido , entre ellas las de febrífugo,

sudorífico , cicatrizante , digestivo , diurético , laxante , hemostático y antisifilítico. En algunos regiones del país , las mujeres recién paridas ponen hojas de Sinicuiche machacadas en el agua del baño tradicional que se dan después del parto , y toman jugo de la planta , disuelto en agua con azúcar , para que se les "apriete la cintura" y les reduzca la inflamación de la matriz. Según otros, las hojas hervidas con un poco de copal curan la bronquitis y cualquier afección del pecho (Malone y Rother, 1994).

El jugo de esta planta, en combinación con jugo de sábila, se aplica en forma de ungüento en heridas como cicatrizante; macerada y aplicada como cataplasma sirve para sanar huesos fracturados o luxados. No se ingiere por ser tóxica. La infusión de las hojas para facilitar la digestión, para estimular el apetito y contra la disentería; el jugo y el cocimiento ingerido se dice que provoca una embriaguez agradable y que durante ella se ven los objetos amarillos y un sonido de campanas y la voz, se escuchan como si se produjeran a gran distancia; cura la inflamación de la matriz, y aprieta la cintura, tomando la infusión endulzada; después del parto las mujeres se bañan con la infusión; se dice que además hervida y agregándole una pequeña cantidad de copal, es muy útil para combatir las bronquitis y todas las afecciones del pecho. Se ha encontrado que los alcaloides presentes en la especie poseen intensas propiedades antiinflamatorias.

Ritual-religioso: La especie tiene una larga historia de uso en ceremonias religiosas ya que en muchas partes de la planta se encuentran alcaloides psicotrópicos que tienen efecto tranquilizante y producen alucinaciones auditivas.

FITOQUIMICA

Tanto para uso interno como externo generalmente se emplean en el jugo o un cocimiento de las hojas. El análisis químico de éstas revela la presencia de

una resina, taninos y un principio amargo, sustancias que pueden conferirles algunas propiedades medicinales.

En otros estudios muestran la presencia de 4 alcaloides: vertina, linfolina, litrina y nesodina (Malone y Rother, 1994). Vertina mostró efectos antiinflamatorio (por inhibición de la síntesis de prostaglandinas) (Lema y col., 1986) y vasodilatador (probablemente por un efecto musculotrópico) (Malone y Rother, 1994).

II. OBJETIVO GENERAL

Probar si el extracto acuoso de las hojas del arbusto *Heimia salicifolia* induce la contracción del útero aislado de ratas estrogenizadas.

OBJETIVOS PARTICULARES.

- Probar el efecto úterocontrayente del extracto acuoso de las hojas del arbusto *Heimia salicifolia* en el útero aislado de rata estrogenizada.
- Fraccionar químicamente el extracto acuoso de las hojas de la planta *Heimia salicifolia* por extracciones sucesivas con metanol y cloroformo.
- Probar la actividad úterocontrayente de las fracciones obtenidas del extracto acuoso.

III. MATERIAL Y MÉTODOS.

Material vegetal.

Las ramas del arbusto *H. salicifolia* se obtuvieron en el Mercado de Sonora de la Ciudad de México, D.F., provenientes del Estado de Hidalgo; y posteriormente se corroboró su identidad en el Herbario de la FES Iztacala, UNAM.

Ensayo biológico.

Utero aislado.

Para el ensayo biológico se emplearon ratas de la cepa Wistar, hembras de 200 - 250 g de peso, suministradas por el Bioterio de la FES Iztacala. Para asegurarse que el animal se encontrara en estro se le administró por vía subcutánea dietilestilbestrol (1 mg/kg), disuelto en aceite comestible, 24 h antes del bioensayo.

Se sacrificó al animal por dislocación cervical y mediante una incisión abdominal, se separó el paquete visceral hasta visualizar los cuernos uterinos. En los extremos de los cuerno se hallan los ovarios que se ligaron y se separaron del útero. Cada cuerno del útero se separó de su adherencia mesentérica hasta el extremo distal, en que se unen.

Se tomó la porción del cuerno que va desde el ovario hasta su conjunción con el cuerno del otro lado y se colocó en una caja de Petri con solución fisiológica a 30 °C. Una vez liberado del tejido adiposo, se tomó una sección aproximadamente 1 cm de la parte central del cuerno uterino y mediante hilo seda se sujetó un extremo a la cámara para órgano aislado, el otro extremo se unió al transductor de tensión F-60 (Narco Bio Systems) el cual estaba conectado al sistema de registro (fisiógrafo de mesa DMP-4B, Narco Bio Systems) previamente calibrado. El tejido se sometió a una tensión de 1.0 g. La temperatura de la solución de Jalon (pH de 7.4) se mantuvo de 30 a 31 °C (compuesta por NaCl 154 mM, KCl 5.6 mM, CaCl₂ 0.54 mM, glucosa 2.78 mM y NaHCO₃ 5.95 mM) y se

burbujeó con carbógeno (O₂/CO₂, 95%/5%) (Barastegui, 1976). Una vez montado se dejó reposar entre 15 a 30 min, con lavados cada 5 minutos.

Curva concentración - respuesta a la oxitocina.

Después de transcurrir el tiempo de reposo de la preparación del útero aislado de rata se inició la dosificación. Tras cada dosis, se dejó actuar el fármaco 5 minutos y se renovó la solución nutritiva. Entre cada dosis se dejaron pasar unos 3 min. Se ensayaron dosis de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 ng/ml de oxitocina para obtener una curva concentración - respuesta control.

Extracto acuoso.

Para preparar el extracto acuoso se pesaron 5 g de hojas secas molidas y se adicionaron 100 ml de agua destilada, se calentó a 40 °C con agitación constante durante 1 h, la suspensión se filtró a través de papel Whatman No. 1. El filtrado se secó a 40 °C en el horno; se pesaron los sólidos totales extraídos y el extracto se resuspendió en solución de Jalón (5 mg/ml). El pH del extracto se ajustó a 7.4 para su ensayo en el útero aislado de la rata.

Curva concentración - respuesta al extracto acuoso de las hojas de *H. salicifolia*.

Para probar si el extracto acuoso tiene efecto úterocontrayente se realizó una curva concentración - respuesta a 20, 40, 60, 80 y 160 ug/ml (concentración final en el baño del órgano aislado).

Fraccionamiento químico del extracto acuoso.

Para realizar el extracto acuoso se pesaron 200 g de hojas secas de *Heimia salicifolia* y se agregaron 4 l de agua bidestilada. Se puso a ebullición por 1 h y se dejó enfriar; posteriormente se filtró con papel Whatman # 1 y el extracto acuoso se secó y se pulverizó. Se procedió a realizar una extracción con metanol (1 : 20

p/v) a temperatura ambiente del extracto acuoso; se filtró y de igual manera se realizó un secado del extracto metanólico.

El extracto metanólico seco se disolvió en agua y se le realizó una extracción con cloroformo; la fracción clorofórmica se concentró y se secó.

Cromatografía en capa fina.

Se analizó la composición de la fracción clorofórmica mediante cromatografía en capa fina de sílica gel G60 (Merck) empleando la mezcla de eluyentes metanol - cloroformo 4:1. Se visualizaron las fracciones bajo luz ultravioleta de 366 nm.

Análisis estadístico.

Los datos se expresaron como la media \pm el error estándar de la media. Las diferencias entre grupos se consideraron significativas en $P < 0.05$ empleando la prueba de "t" de Student.

IV. RESULTADOS

Material vegetal.

La planta *Heimia salicifolia* se obtuvo en el Mercado de Sonora (Del. Venustiano Carranza) de la Ciudad de México, D.F. y se llevó al Herbario IZTA de la FES Iztacala, UNAM donde las biólogas Patricia Jácquez y María Edith López Villafranco corroboraron su identidad. El ejemplar se depositó en el Herbario con el Número de Registro 25562.

Rendimientos de los extractos de las hojas.

A partir de 200 g de hojas secas de *Heimia salicifolia* se obtuvieron 34.64 g (17.32%) del extracto acuoso; del polvo del extracto acuoso se obtuvieron 14.79 g (7.4%) de la fracción metanólica; de la fracción metanólica se obtuvo 1.0 g (0.5%) de la fracción clorofórmica y, por último, de 22.9 g de flores secas se obtuvieron 2 g (8.73%) del extracto acuoso de flores.

Hojas	200 g	100 %
Extracto acuoso	34.64 g	17.32 %
Extracto metanólico	14.79 g	7.4 %
Extracto clorofórmico	1.0 g	0.5%
Flores	22.9 g	100%
Extracto acuoso	2.0 g	8.73%

Tabla 2. Rendimientos de las fracciones de *Heimia salicifolia*.

Determinación del efecto biológico.

Bioensayo.

Se instaló la preparación *in vitro* de útero aislado de rata. En este modelo biológico se probó el efecto contrayente del péptido agonista oxitocina como fármaco de referencia en las concentraciones de 0.2 a 1.0 ng/ml.

En la figura 6 se muestra la curva concentración - respuesta a la oxitocina empleada como control; la fuerza de contracción aumentó en forma dependiente de la concentración de oxitocina, obteniendo un efecto máximo con la concentración de 0.8 ng/ml.

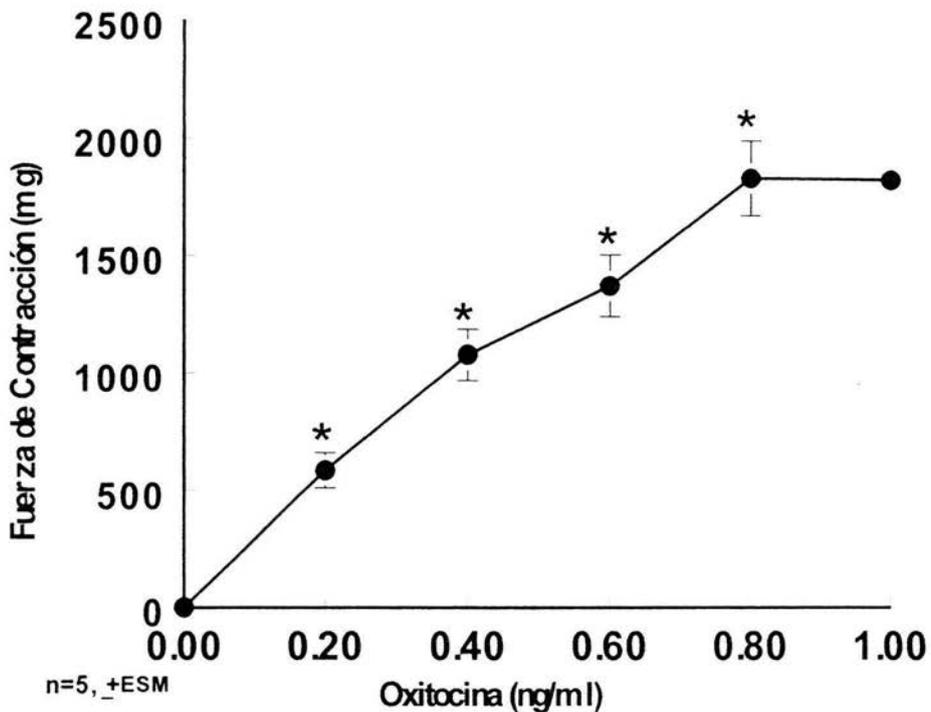


FIGURA 6. Curva concentración - respuesta a la oxitocina en la preparación de útero aislado de rata estrgoenizada (n=5; $p \leq 0.05$).

Efecto del extracto acuoso de las hojas de *H. salicifolia*.

En la figura 7 se muestra la curva concentración - respuesta al extracto acuoso de las hojas de *Heimia salicifolia*. La fuerza de contracción del útero aumenta en forma dependiente de la concentración del extracto; con la concentración de 450 $\mu\text{g/ml}$ se observó el efecto contráctil máximo. Estos resultados demuestran que las hojas de *H. salicifolia* tienen compuestos oxi-tócicos.

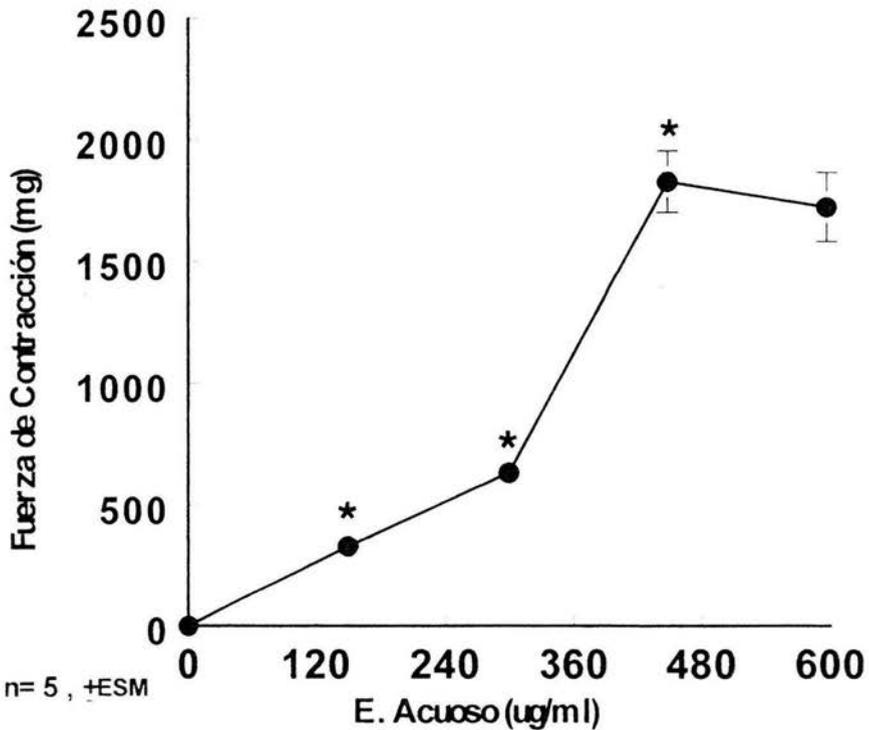


FIGURA 7. Efecto del extracto acuoso de las hojas de *H. salicifolia* sobre la contractilidad del útero aislado de rata estrogenizada (n=5; $p \leq 0.05$).

Efecto del extracto metanólico de las hojas de *H. salicifolia*.

En la figura 8 se muestra la curva concentración - respuesta a la fracción metanólica del extracto acuoso de las hojas de *Heimia salicifolia* realizada en el útero *in vitro*; se observa un aumento en la fuerza de contracción al incrementar la concentración del extracto. La actividad contráctil máxima se observó con la concentración de 271.1 $\mu\text{g/ml}$ de la fracción metanólica.

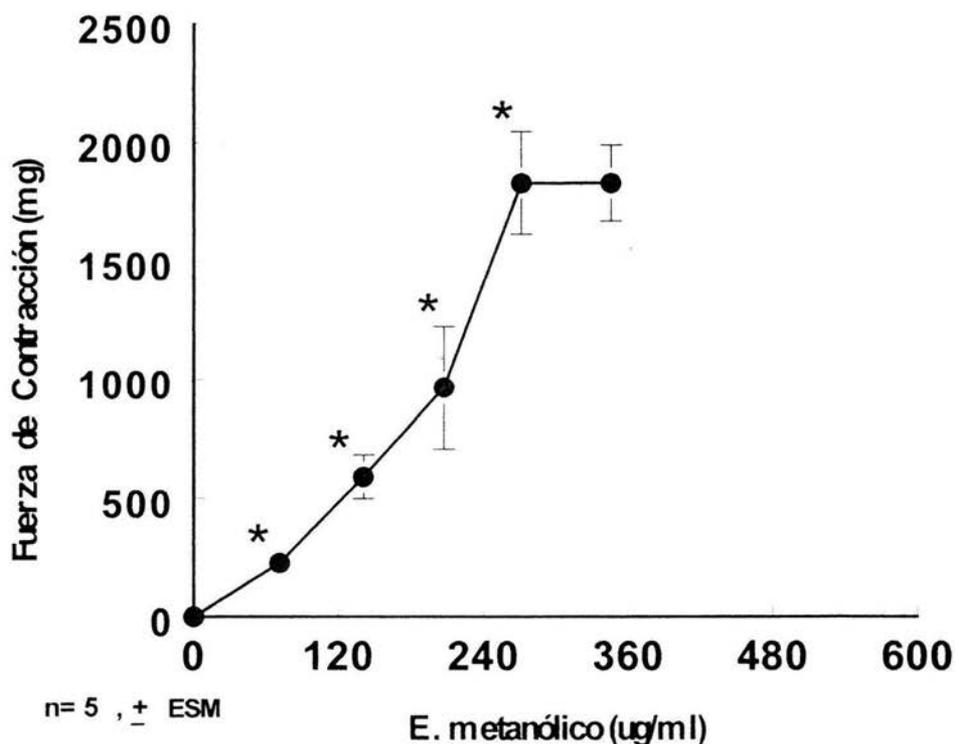


FIGURA 8. Efecto del extracto metanólico de las hojas de *H. salicifolia* sobre la contractilidad del útero aislado de rata (n=5; $p \leq 0.05$).

Efecto del extracto clorofórmico de las hojas de *H. salicifolia*.

Efecto de la fracción clorofórmica del extracto acuoso de las hojas de *H. salicifolia* sobre la contractilidad del útero. Se observó que esta fracción clorofórmica causó contracción máxima del útero aislado con la concentración de 108 $\mu\text{g/ml}$ (Figura 9).

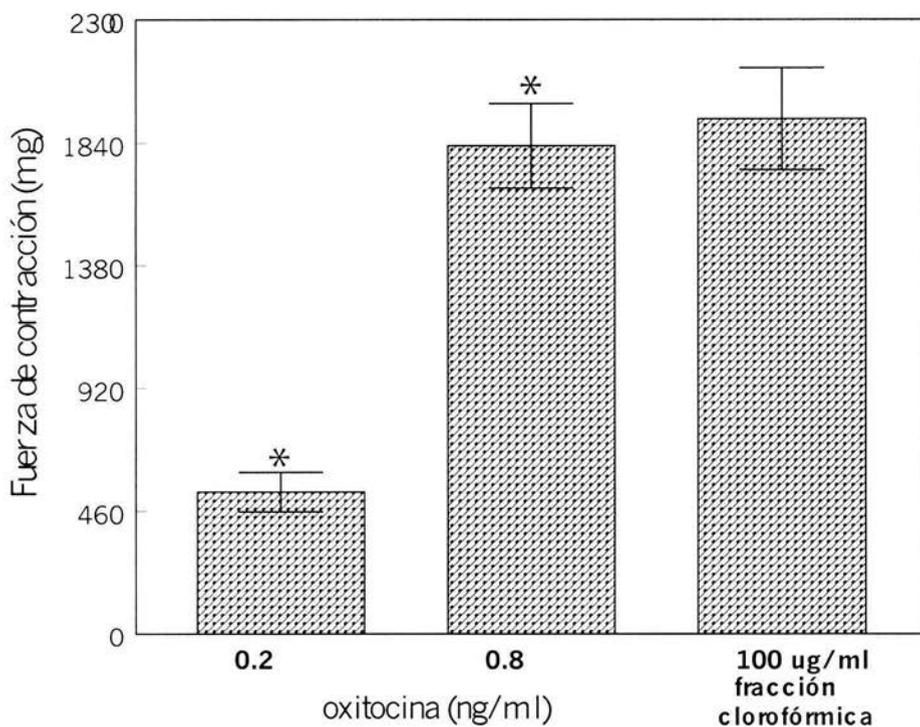


Figura 9. Efecto de la fracción clorofórmica de las hojas de *H. salicifolia* sobre la contractilidad del útero aislado de rata (n=3; $p \leq 0.05$).

Separación cromatográfica de la fracción clorofórmica.

Para la separación cromatográfica de los componentes de la fracción clorofórmica del extracto acuoso de las hojas de *H. salicifolia* se realizó cromatografía en capa fina y se utilizó como eluyentes la mezcla de metanol – cloroformo 4:1. En la separación se observaron 3 fracciones (Fig. 10).

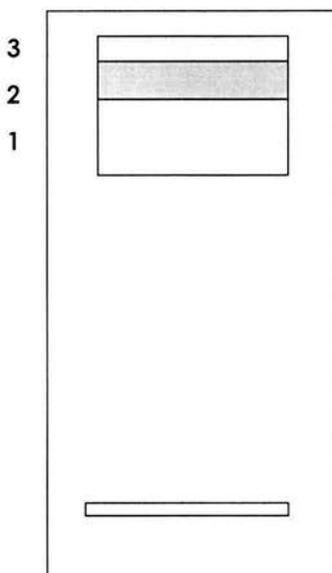


Figura 10. Separación cromatográfica en capa fina de sílica gel G 60 del extracto clorofórmico de las hojas de *Heimia salicifolia* empleando la mezcla de eluyentes: metanol:cloroformo 4:1.

- 1) fracción de fluorescencia amarilla bajo luz ultravioleta**
- 2) fracción con fluorescencia azul bajo luz ultravioleta (366 nm)**
- 3) fracción menos polar; de color amarillo bajo luz visible**

Inhibición del efecto uterotónico de *H. salicifolia* por la indometacina.

A un fragmento de útero aislado de rata estrogenizada se le pretrató con el fármaco indometacina (fármaco inhibidor de la actividad de la enzima ciclooxigenasa) (100 $\mu\text{g/ml}$) durante 30 min. Después se aplicó el extracto clorofórmico de *H. salicifolia* (de 108 a 519 $\mu\text{g/ml}$) y se observó la inhibición del efecto úterocontrayente (Figura 11). El efecto inhibitorio de la indometacina se supera parcialmente en la concentración de 519 $\mu\text{g/ml}$ de la fracción clorofórmica de *H. salicifolia*.

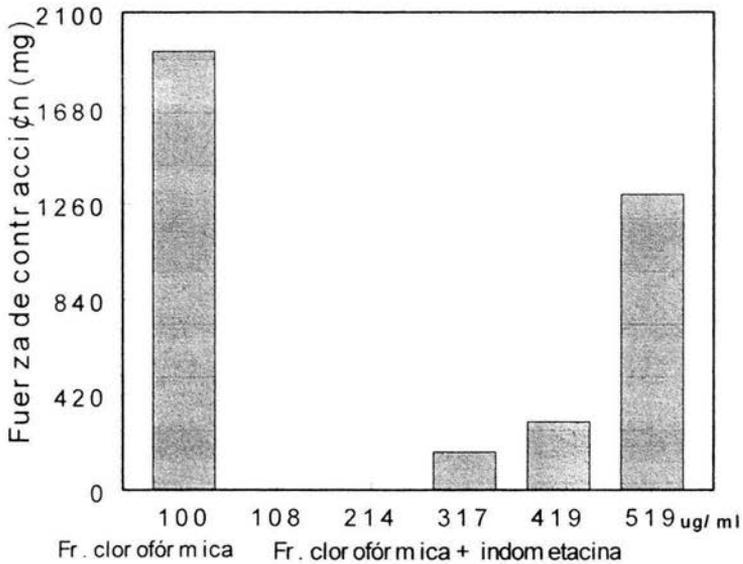


Figura 11.- Inhibición del efecto uterotónico de la fracción clorofórmica por pretratamiento del útero aislado con indometacina (100 $\mu\text{g/ml}$, por 30 min).

Fracción 3 uterocontrayente.

De la separación cromatográfica en capa fina (mezcla de eluyentes metanol/cloroformo 4:1 se extrajeron las fracciones observadas en la figura 4 y se aplicaron a la preparación de útero aislado de rata en la concentración de 27 $\mu\text{g/ml}$. Se observó que de las 3 fracciones ensayadas sólo la 3 (muy cercana al frente cromatográfico) causó la contracción (Figura 12).

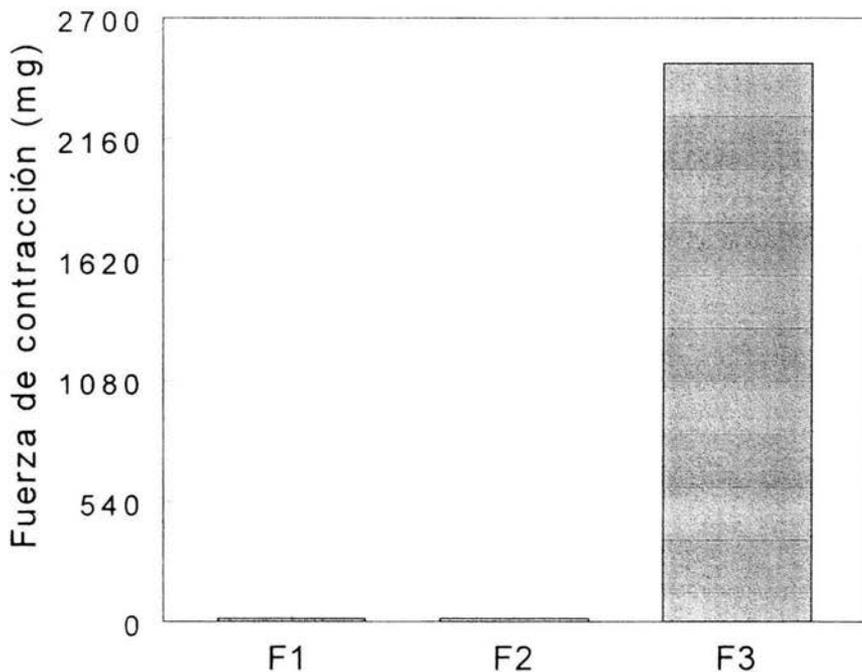


Figura 12.- Ensayo en el útero in vitro de las fracciones (27 $\mu\text{g/ml}$) separadas de la fracción clorofórmica de *Heimia salicifolia* (F1, F2 y F3 (frente cromatográfico)).

Efecto del extracto acuoso de las flores.

En la figura 13 se observa la curva concentración - respuesta del extracto acuoso de las flores de *Heimia salicifolia* mostrando así una fuerza de contracción que aumenta al aumentar la concentración del extracto obteniendo un efecto máximo con la concentración de 350 µg/ml.

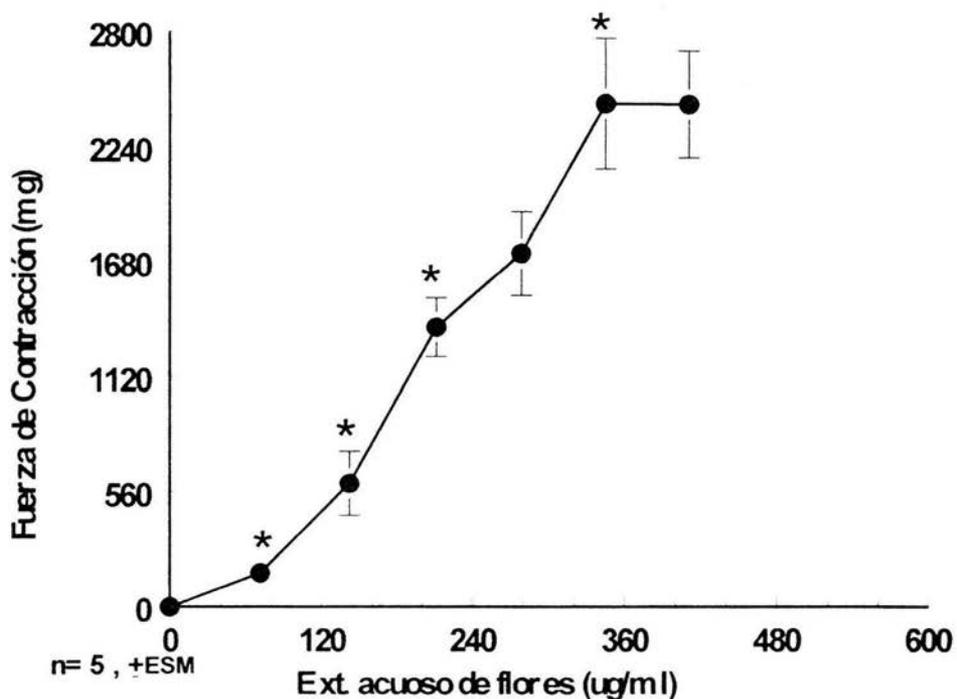


Figura 13. Efecto del extracto acuoso de las flores de *H. salicifolia* sobre la contractilidad del útero aislado de rata (n=5; p ≤ 0.05).

V. DISCUSIÓN.

1.- Modelo farmacológico.

La evaluación farmacológica de un remedio tradicional herbal debe descansar sobre un modelo farmacológico apropiada. La preparación de útero aislado de rata estrogenizada es un modelo muy adecuado para las investigaciones farmacológicas de la actividad contráctil en el músculo liso uterino y se usa extensamente por los farmacólogos de la reproducción. Los procedimientos fármacológicos de búsqueda básica inicial que identifican la actividad directa sobre el músculo liso uterino en extractos vegetales crudos necesitan ser seguidos por estudios más detallados que caracterizen la actividad farmacológica de la fitomedicina tan completamente como sea posible. Los resultados de estas investigaciones pueden entonces ser usadas para diseñar y desarrollar técnicas más específicas que permitan identificar los principios activos extraídos y aislados de las plantas. Como cada etnofarmacólogo sabe, una desventaja mayor es que los procedimientos de extracción química, aunque esenciales en el aislamiento de principios activos, con frecuencia producen fracciones complejas e insolubles que son frecuentemente incompatibles con las soluciones salinas fisiológicas acuosas usadas en los procedimientos farmacológicos de prueba clásicos (Waller, 1993).

Los principios químicos así aislados son también con frecuencia disponibles para el ensayo en cantidades muy pequeñas, limitando así la selección y la extensión de la investigación farmacológica posterior. En este estudio, sin embargo, el extracto acuoso crudo, las fracciones metanólica y clorofórmica obtenidas de las hojas de *H. salicifolia*, la cual evaluamos como una fitomedicina, fue fácilmente resuspendida en agua y verdaderamente representativa del método tradicional de preparación.

2.- Oxitócicos.

El principal compuesto de los fármacos oxi-tócicos es la oxitocina la cual es un neuropéptido que al ser liberado por la neurohipófisis estimula las contracciones del músculo liso uterino durante el parto y participa en la eyección de la leche (Guyton y Hall, 1997). Los compuestos llamados fármacos oxi-tócicos tienen efectos sobre el músculo liso uterino semejantes a la oxitocina. Los fármacos oxi-tócicos contraen al útero, por acción directa sobre el miometrio cuyos movimientos son de naturaleza miógena y poco influidos por los impulsos del sistema nervioso central; por lo tanto, los principales fármacos oxi-tócicos son musculotrópicos directos como la oxitocina. Pequeñas dosis de oxitocina aumentan la frecuencia y la amplitud de las contracciones espontáneas uterinas, sobre todo del fondo, facilitando así la expulsión del contenido uterino. Los fármacos oxi-tócicos se utilizan para inducir el parto, expulsar la placenta y detener el sangrado postparto, entre ellos están: la prostaglandina F2 (Dinoprost); la ergometrina (ergonovina, USP), que aumenta la frecuencia y la fuerza de las contracciones uterinas espontáneas; la quinina, conocido como abortivo y recientemente utilizada para expulsar el feto en caso de muerte intrauterina; la hidrastinina, que controla la hemorragia uterina (Hardman y col., 1996).

3.-Efecto de la oxitocina.

En nuestro modelo biológico, el útero aislado de rata estrogenizada, la oxitocina mostró un efecto uterotónico dependiente de la concentración desde 0.2 hasta 0.8 ng/ml; permitiéndonos así probar la utilidad del modelo para estudiar el efecto uterotónico de las diferentes fracciones obtenidas del extracto acuoso de las hojas de *H. salicifolia*.

Se requería estrogenizar a las ratas para que aumente la expresión de los receptores para la oxitocina (Telgmann y col., 2003).

4.- Efecto del extracto acuoso de las hojas de *H. salicifolia*.

El extracto acuoso de las hojas de *H. salicifolia* contiene macromoléculas como proteínas y polisacáridos, así como metabolitos secundarios de bajo peso molecular. Este extracto mostró efecto uterotónico dependiente de la concentración hasta 450 µg/ml que causó el efecto máximo. Esto probó que las hojas de *H. salicifolia* tienen componentes con actividad uterotónica, y ello apoya el uso que se le da a este arbusto en la medicina tradicional como abortiva y en el tratamiento de la labor prolongada.

5.- Efecto de la fracción metanólica del extracto acuoso de las hojas de *H. salicifolia*.

La fracción metanólica del extracto acuoso de las hojas de *H. salicifolia* ya no contiene las macromoléculas como proteínas y polisacáridos presentes en el extracto acuoso completo, sino primordialmente metabolitos secundarios de bajo peso molecular.

La fracción metanólica mostró tener efecto uterocontrayente, de manera que el principio activo uterotónico es un metabolito secundario de bajo peso molecular, lo suficientemente hidrosoluble para ser disuelto en la solución fisiológica utilizada para el ensayo biológico. El efecto uterotónico fue dependiente de la concentración hasta 271 µg/ml, que causó el máximo efecto. Esta dependencia implica la formación de complejos fármaco – receptor que requieren de especificidad y afinidad mutua.

6.- Efecto del extracto clorofórmico de las hojas de *H. salicifolia*.

De los componentes de la fracción metanólica, en la porción soluble en cloroformo se encuentran los metabolitos secundarios menos hidrosolubles y por ello con mayor liposolubilidad. Esta fracción clorofórmica contiene el compuesto activo uterotónico, ya que causó la contracción máxima del músculo del útero aislado con la concentración de 108 µg/ml. Por la separación cromatográfica

empleando la mezcla de eluyentes metanol/cloroformo 4:1 supimos que esta fracción clorofórmica estaba compuesta por al menos 3 fracciones.

Los iones de potasio o calcio no se extraen en cloroformo por lo cual no consideramos que pudieran ser los factores que induzcan la contracción del útero aislado de rata.

7.- Efecto inhibitorio de la indometacina sobre la actividad uterotónica de *H. salicifolia*.

La oxitocina, el más potente de los agentes uterotónicos endógenos tiene una acción dual en el útero. Actúa en un subtipo de receptor para oxitocina para causar la contracción de las células miometriales y en otro subtipo de receptor para promover la síntesis y liberación de las prostaglandinas sobre las células endometriales/deciduales (Chan y col., 1993). Esta diferenciación farmacológica se mostró en los úteros de rata y el humano preñado. Las prostaglandinas se sintetizan también en respuesta a otros estímulos hormonales. El útero de rata se contrae en respuesta a la prostaglandina F (PGF) y la prostaglandina E (PGE). Las células uterinas sintetizan rápidamente las prostaglandinas a partir de ácido araquidónico por la vía de la ciclooxigenasa y entonces son muy probablemente liberadas en la circulación uterina por difusión facilitada. PGF_{2α} y PGE₂ promueven la contracción del músculo liso uterino por interacción con los receptores EP₁, EP₃ y FP en la membrana plasmática de los humanos, ratas y otras especies. Estos receptores están acoplados a diferentes sistemas de segundos mensajeros tales como la elevación de los niveles de calcio libre intracelular (EP₁ y FP) y el aumento del recambio de los fosfoinosítidos (EP₃, FP) (Coleman y col., 1994). La indometacina inhibe la síntesis de las prostaglandinas por inhibición de la enzima ciclooxigenasa y es por ello una útil herramienta para investigar la actividad farmacológica sobre este sistema complejo.

El útero de la rata, particularmente las regiones tubal y cervical, recibe innervación colinérgica. La estimulación de los receptores muscarínicos uterinos M₃ por agonistas tales como la acetilcolina causa contracción del útero y este efecto lo bloquean los antagonistas competitivos muscarínicos tales como la atropina (Varol y col., 1989).

En datos no mostrados, cuando se probó el efecto del extracto acuoso de las hojas de *H. salicifolia* en presencia de atropina (que bloquea los receptores muscarínicos para acetilcolina) no se observó ningún efecto sobre la actividad uterocontrayente del extracto acuoso; ello es un indicio de que los receptores muscarínicos no están involucrados en el efecto uterotónico de *H. salicifolia*.

La inhibición del efecto uterotónico de la fracción soluble en cloroformo del extracto acuoso de las hojas por el pretratamiento con la indometacina indica que esta fracción de *H. salicifolia* puede promover la síntesis de las prostaglandinas en el útero en una manera similar a la oxitocina. La razón para el efecto aumentativo creciente del extracto sería debido a la síntesis aditiva de prostaglandinas uterotónicas. Estos resultados ilustran el beneficio de realizar estudios farmacológicos más detallados empleando extractos crudos preparados en la misma forma que como se usan etnomédicamente y pueden ahora usarse como una guía para planear más pruebas farmacológicas y bioquímicas definitivas.

La inhibición del efecto uterotónico de la fracción clorofórmica por la indometacina es superable al incrementar la concentración hasta 5 veces de la fracción clorofórmica, dosis en la que reaparece el efecto uterotónico de esta fracción.

8.- Efecto de la fracción 3 de la porción soluble en cloroformo del extracto acuoso de las hojas de *H. salicifolia*.

La fracción 3 es una fracción amarilla bajo luz visible con un Rf cercano a 1 en la cromatografía en capa delgada con la mezcla de solventes metanol:cloroformo 4:1. La concentración de 27 µg/ml de la fracción 3 de la fracción clorofórmica causó contracción máxima del útero aislado de rata estrogezada. De manera que el compuesto activo es un metabolito secundario soluble en cloroformo (que solubiliza sustancias de baja polaridad, es decir, liposolubles).

La fracción 3 parece ser al menos 9 veces más potente que el maleato de ergonovina (ergometrina), un alcaloide derivado del ergot, que tiene el mismo efecto con la concentración de 244 µg/ml (Rahwan y col., 1977).

9.- Actividad uterotónica del extracto de las flores.

El extracto acuoso de las flores de *H. salicifolia* también mostró tener efecto uterotónico. La concentración de 350 µg/ml causó el efecto máximo, lo que indica que es un 30% más potente que el extracto acuoso de las hojas y representa otra fuente para la obtención del compuesto con la actividad uterocontrayente en este arbusto.

VI. CONCLUSIONES

El extracto acuoso completo y las fracciones metanólica y clorofórmica del extracto acuoso de las hojas del arbusto *Heimia salicifolia* promueven la contracción del músculo uterino al ensayarla en la preparación de útero aislado de rata estrogenizada.

Los resultados de este estudio indican que el extracto crudo de las hojas de *H. salicifolia* contiene uno o más principios activos con actividad promotora de la síntesis de prostaglandinas en el útero. Este mecanismo de acción propuesto provee justificación adicional para el uso étnico de esta fitomedicina como un agente oxiótico en el tratamiento de la labor prolongada.

VII. Anexo.

Farmacología del útero

Se dirige a la regulación de su contractilidad, aumentándola, gracias al uso de Uteroestimulantes u **Oxitócicos**, o disminuyéndola, por utilización de relajantes uterino o **Tocolíticos** (Tabla 1) (Mitchell, 1997; Paradiso, 1998).

	OXITÓCICOS	TOCOLÍTICOS
Posibles Mecanismos	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Aumento de los niveles de Calcio ▪ Disminución de los niveles de AMPc 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Disminución de los niveles de Calcio ▪ Aumento de los niveles de AMPc
Usos	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Inducir o acelerar el trabajo de parto ▪ Inducir aborto (terapéutico en el país) ▪ Impedir atonía postparto: control de hemorragia 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Trabajo de parto prenaturado
Representantes	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Oxitocina ▪ Prostaglandinas ▪ Alcaloides del ergot ▪ Mifepristona ▪ Soluciones Hipertónicas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agonistas beta 2 ▪ Sulfato de magnesio ▪ Etanol ▪ Otros: Inhibidores de la síntesis de prostaglandinas, Bloqueantes de los canales de calcio, antagonistas de la oxitocina

Tabla 1.- Fármacos oxitócicos y tocolíticos.

Oxitócicos

Oxitocina

Es un péptido sintetizado en los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo, siendo almacenado y luego liberado de la neurohipófisis. Su composición aminoacídica es la siguiente: Cis-Tir-Ile-Gln-Asn-Cis-Pro-Leu-Gli, teniendo un puente disulfuro entre los residuos de cisteína. Tiene sus propios receptores, a través de los cuales media aumento del influjo de calcio extracelular y de la liberación del mismo desde el RSP.

Aunque por mucho tiempo se creyó lo contrario, este péptido no está involucrado en el inicio del trabajo de parto, aunque su administración puede desencadenarlo, la liberación fisiológica de la oxitocina, comienza, al parecer, tras ciertos estímulos particulares, como la estimulación del cuello uterino y/o de los pezones. Durante el embarazo, el útero tiene muy poca sensibilidad a la oxitocina, empezando a aumentar desde la semana 20 de gestación.

Produce una contracción que mimifica a la del trabajo de parto espontáneo: con un aumento del tono y la frecuencia de las contracciones, pero sin modificaciones importantes de la intensidad.

FARMACOCINÉTICA:

Debido a su carácter peptídico, la administración por vía oral resulta ser inútil, por la rápida destrucción gástrica que sobreviene. Así pues, se deben utilizar las vías parenterales: Intravenosa, intramuscular e intranasal. Tiene una vida media bastante corta, que varía entre unos 5 y 12 minutos (como péptido libre), por lo que la infusión intravenosa continua es una de las maneras más prácticas y comunes de administración. Sufre inactivación hepática y renal.

USOS:

- Inducción del trabajo de parto término: De elección, puesto que, como ya se dijo, puede mimificar el trabajo espontáneo. Por su falta de acción en los

inicios del embarazo, no se recomienda para inducir el aborto en los primeros trimestres.

- Aceleración del trabajo de parto
- Disminución de atonía postparto: luego del parto, el útero, con una desproporción continente/contenido intensa tiende a la lasitud, lo que favorece la hemorragia desde la superficie de implantación previa de la placenta; la oxitocina es capaz de inducir una contracción uterina que colapsa esos pequeños vasos sangrantes (generalmente arteriolas, vénulas y capilares).
- Promoción de la Eyección Láctea: dado que puede inducir contracción de los músculos en el sistema de conducción/eyección (mioepitelial) de la mama. Para este uso, se prefiere la administración intranasal, generalmente en sprays (George y Schimmer, 1998).

EFECTOS ADVERSOS:

- No presenta ninguno de importancia a dosis correctamente empleadas
- A dosis altas: Intoxicación Acuosa: por su parecido estructural con la Hormona antidiurética. Esto puede ocasionar Convulsiones-Coma y hasta la muerte.
 - Hiperestimulación Uterina (puede llevar a posible ruptura)
 - Efectos Cardiovasculares (Hipotensión - taquicardia refleja)
 - Complicaciones fetales (alteración del riego sanguíneo)

PRECAUCIONES:

- Preferible la administración por medio del uso de bombas de infusión
- Se debe realizar un dosaje cuidadosamente controlado hasta el logro del efecto óptimo
- Se deben reducir las dosis ante el progreso del parto, para impedir la sobrestimulación por efectos aditivos de la oxitocina administrada y la endógena (Paradiso, 1998).

Prostaglandinas

Son autacoides lipídicos, de 20 átomos de carbono, derivados del ácido araquidónico, con un puente covalente entre los átomos 8 y 12, formando un anillo ciclopentánico (en el esquema, la dinoprostona). Entre sus acciones, se encuentran la promoción de liberación del calcio desde el RSP y la disminución de AMPc.

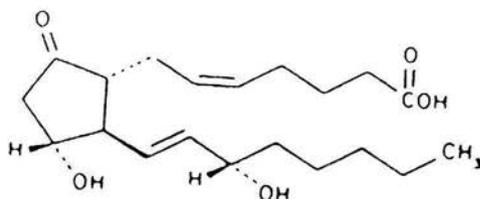


Figura 4. Dinoprostona

Poseen acción durante todo el embarazo, pero, como todos los procesos procontracturantes, la misma se incrementa con el progreso de la gestación. Aparentemente, el aspecto más importante de su intervención en el proceso de inicio del trabajo de parto tiene que ver con su *Acción maduradora cervical*: este proceso implica una dilatación del cuello, con disminución del espesor del mismo, en el proceso que se conoce como "borramiento" (esquema). Este proceso puede desencadenar reflejamente la liberación de la oxitocina y la contracción inducida por la misma favorece a su vez que la maduración se acelere, por lo que son eventos que tienden a automantenerse. Se cree que este proceso tenga que ver con un favorecimiento de la colagenólisis (George, y Schimmer, 1998)



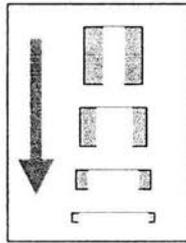


Figura 5.- Maduración cervical.

FARMACOCINÉTICA:

Dado su carácter lipídico, las prostaglandinas, luego de varios pasos específicos se insertan en las vías de la β y α - oxidación, generando derivados que son capaces de ingresar a las vías metabólicas generales del organismo (Acetil-CoA, por ejemplo). Presentan una rápida inactivación gastrointestinal, por lo que se prefiere la administración por la vía parenteral y, muy especialmente la local, que es la de elección (intravaginal -intracervical - extraovular - intraamniótica); ya existen preparados modificados que pueden ser administrados por vía oral.

Ante la administración local, la vida media efectiva es de 30 a 60 minutos.

PREPARADOS:

- PGE_2 : (dinoprostona): tiene un efecto que depende del momento fisiológico de la mujer → efecto relajante en útero no grávido y efecto contracturante después del segundo trimestre del embarazo
- PGF_2 , tiene un efecto contracturante en la musculatura lisa uterina
- 15-metil PGF_2 ; (carboprost) derivado sintético, vida media larga
- Misoprostol: derivado sintético de la PGE_1 , utilizado por vía oral para el tratamiento de la úlcera péptica. Tiene una vida media de 30-60 minutos (concentración plasmática pico: 30 minutos).

USOS:

- Inducción de aborto terapéutico en el segundo trimestre o antes: de elección para este uso terapéutico, porque, como ya se dijo, el útero es refractario a la oxitocina en este período
- Control de Hemorragia postparto (PGF2 α), por las mismas razones explicada para la oxitocina

EFFECTOS ADVERSOS:

- No presenta ninguno de importancia a dosis correctamente empleadas
- Trastornos gastrointestinales: diarrea, reflujo biliar, náuseas, vómitos.
- Broncospasmo, por su efecto en la musculatura lisa
- Fiebre (por acción en los centros hipotalámico termorregulatorios)
- Alteraciones de la Presión Arterial

Alcaloides del Ergot

Son compuestos derivados del *Claviceps purpurea*, hongo conocido también como "cornezuelo del centeno". En general, se trata de agonistas parciales α_1 , químicamente clasificables así:

- Amidas simples: ergonovina (efecto agonista predominante)
- Peptídicos: ergotamina (agonistas y antagonistas en la misma proporción)
- Semisintéticos: dihidroergotamina

Producen contracciones uterinas irregulares, de gran intensidad, con aumento del tono, por eso, no son de elección para inducir el trabajo de parto. (George y Schimmer, 1998). Dependiendo de la acción predominantes sobre los receptores alfa, sus acciones pueden ser:

- Vasoconstricción
- Central:
 - Emetizante
 - Depresión simpática
 - Cefalea, vértigo, confusión

USOS

- Son los fármacos de elección en la Prevención de Atonía Uterina y Control de Hemorragia

FARMACOCINÉTICA

Pueden administrarse tanto por vía oral como parenteral (vía intramuscular y vía intravenosa) para la prevención de la atonía postparto se prefiere el inicio de tratamiento intramuscular, con terapia de mantenimiento oral por breve lapso. El efecto dura de 4 a 6 horas.

EFFECTOS ADVERSOS

- VASOSPASMO, HTA, NÁUSEAS-VÓMITOS, CEFALEA

Mifepristona

Es un compuesto esteroidal, agonista parcial débil de la progesterona → interfiere, pues, con la formación del cuerpo lúteo y la ulterior prosecución del embarazo. Es activa por vía oral, con buena biodisponibilidad; tiene una vida media larga, de 20 a 40h). Tiene metabolitos metilados de actividad baja. Dada la especificidad de su acción, sus usos principales son los siguientes: Inducción del aborto del I trimestre; anticonceptivo y como "Píldora de la mañana siguiente" (impide la prosecución del embarazo una vez dada la fecundación).

Soluciones hipertónicas

Usadas antiguamente para la inducción del aborto del segundo trimestre. Se podían usar soluciones salinas o de urea.

Tocolífticos

Agonistas Adrenérgicos Beta₂

Este grupo de fármacos está caracterizado por presentar una acción estimuladora de los receptores β_2 adrenérgicos, con pequeña acción sobre los β_1 . Algunos de sus representantes son el Fenoterol, la Ritodrina, el Salbutamol y la Terbutalina, de los cuales el primero (Segamol®) es uno de los de más amplio uso en el país, aunque no muestran muchas diferencias en cuanto a sus acciones farmacológicas (pero sí algunas respecto a su selectividad β_2). El mecanismo general de acción, común a la activación de los receptores β adrenérgicos, incluye la activación la Adenilciclasa, con aumento del AMPc; acúmulo de Ca^{++} en el RSP; subsecuente inhibición de la MLCK (Mitchell, 1998).

ACCIONES

Las mismas están relacionadas a la activación de los receptores β adrenérgicos específicos:

- **Activación β_2**
 - Relajación músculo liso gastrointestinal
 - Vasodilatación: taquicardia refleja
 - Broncodilatación
 - Hiperglicemia

- **Activación β_1**
 - Estimulación cardíaca
 - Liberación de renina

FARMACOCINÉTICA:

Se absorben rápida aunque incompletamente por vía oral; sin embargo, la proporción de absorción generalmente permite alcanzar niveles terapéuticos. Pueden excretarse por vía renal como metabolitos conjugados

inactivos o en forma inalterada. El uso intravenoso es común para el comienzo de la terapia tocolítica, seguida de mantenimiento por vía oral.

EFFECTOS ADVERSOS

Más visibles ante la administración parenteral:

- Materna
 - Hiperglicemia
 - Taquicardia
 - Angina
 - Hipokalemia
 - Hipotensión
 - Ansiedad
 - Edema Pulmonar
- Fetal
 - Hipoglicemia
 - Cardiovasculares
(semejantes a los
maternos)

Sulfato de Magnesio

Es una sal fuerte, que disociándose, libera el ión Mg^{++} , el cual, por su similitud con el Calcio, induce un desacoplamiento del proceso excitación-contracción no-selectivo. Este proceso se ve antagonizado competitivamente por la administración de sales cálcicas, como el gluconato de calcio. Este tipo de antagonismo del magnesio se muestra en todos los fenómenos de excitación que requieren calcio, incluyendo procesos de neurotransmisión.

FARMACOCINÉTICA

Se administra por infusión intravenosa. Su excreción es renal.

USOS

Tocolítico; en la prevención de las convulsiones preclámpticas

EFFECTOS ADVERSOS

Son dependientes de la dosis administrada (mayor ante daño renal, por ser su vía de excreción)

- Maternos:
 - Dosis Terapéuticas (4-8 mEq/l): Hipotensión leve, "calor", rubor
 - Dosis mayores (8-10 mEq/l): Hipotonía ==> Paro respiratorio; Hiporreflexia
 - Dosis Altas (15-20 mEq/l): Inhibición de la conducción cardíaca → Paro
- Fetal: Hipotonía, somnolencia

Etanol: es un inhibidor central de la liberación de la hormona antidiurética y de la oxitocina

Calcioantagonistas: como la Nifedipina, que actuarían a través de la interferencia con la entrada de iones calcio a la célula muscular

Inhibidores de la Prostaglandina sintetasa: los antiinflamatorios no esteroideos, como la Indometacina, que serían capaces de impedir la acción de estos autacoides en el inicio y mantenimiento del trabajo de parto.

Antagonistas de la Oxitocina: nuevos péptidos de síntesis, como el Atosiban, los cuales son capaces de bloquear, en mayor o menor grado, a los receptores de la oxitocina (Hardman y col., 1996).

VIII. BIBLIOGRAFÍA.

Aguilar, A., Camacho, J. R., Chino, V. S., Jácquez, P., López, V. E. (1994). Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información Etnobotánica.. I.M.S.S. Ed. México. pág. 108.

Alvarez R., P., E. Meléndez C. y B. Berdeja M. (1994). Estudio farmacológico de *Ruta chalepensis* sobre músculo liso y cardíaco. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A.C. XXXVII Congreso Nacional. Mérida, Yucatán. C42.

Alvarez Rodriguez C. 1992. Tesis profesional. "Efecto del ionóforo de calcio A23187 sobre la proliferación del epitelio luminal de útero de ratas ovariectomizadas." UNAM. ENEP Iztacala. México. págs. 3-11.

Barastegui, C. (1976). Esquemas y prácticas de farmacología. Ed. ESPAXS. Barcelona, España: págs.143 -146.

Bowman, W.C. y M.J. Rand (1991). Farmacología: Bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones clínicas. 2ª ed. Ed. Interamericana, México: 20.19; 20.45, 20.46.

Mitchell, B.F. (1998) Drugs affecting uterine motility. en Brody, T.M., J. Larner y K.P. Minneman (1998). Human Pharmacology. Molecular to clinical. 3a ed. Mosby-Year Book Inc., St. Louis, Missouri: 559 – 570.

Carsten, M.D. y J.D. Miller (1987). A new look at uterine muscle contraction. Am. J. Obstet. Gynecol. 157:1303-1315.

Cartas Heredia, L., M. Lorenzana Jiménez, X. García y E. Gijón (1994). Cambios en el ciclo estral de la cobaya por ingestión de *Ruta chalepensis*. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A.C. XXXVII Congreso Nacional. Mérida, Yucatán. C39.

Coleman, R.A., Smith, W.L., Narumiya, S. (1994). VIII. International Union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution, and structure of the receptors and their subtypes. Pharmacological Reviews 46: 205-229.

Corallo, A., J.P. Savineau, R. Tricoche and S. Fougbe (1991). The uterotonic of the aqueous extract of *Bridelia atroviridis* in the rat. Fundam. Clin. Pharmacol. 5: 319 - 329.

Chan, W.Y., Chen, D.L., Manning, M. (1993). Oxytocin receptor subtypes in the pregnant rat myometrium and deciduas: Pharmacological differentiations. *Endocrinology* 132: 1381-1986.

Datte, J. , A.M. Offoumou y O.M. Manda (1996). Uterotonic effects of hydromethanolic extract of *Parquetina nigrescens* (Periplocaceae) on spontaneous contractile activity in the isolated myometrium of pregnant rats. *J. Ethnopharmacol.* **53**: 15 - 20.

George, S.R. y B.P. Schimmer (1998). Vasopressin, oxytocin, and uterotonic drugs. En Kalant, H. y W. H.E. Roschlau (1998). *Principles of Medical Pharmacology*. 6a ed. Oxford University Press, New York: 589-599.

Gijón, E., L. Cartas Heredia y X. García (1992). Acción del extracto alcohólico de *Ruta chalepensis* sobre la actividad espontánea del miometrio de cobaya. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. XXXV Congreso Nacional. Xalapa, Veracruz. C48.

Guyton, A. C. y J. E. Hall (1997). *Tratado de fisiología médica*. C: 1143 - 1145.

Hardman, J. G. , L. E. Limbird, P. B. Molinoff, R. W. Ruddon y A. Goodman Gilman (1996). *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. 9ª Edición. Ed. Interamericana Mc Graw-Hill. México, D.F: 1003 - 1005.

Lema W.J., J.W. Blankenship y M. H. Malone (1986). Prostaglandin synthetase inhibition by alkaloids of *Heimia salicifolia*. *J. Ethnopharmacol.* 15:161-167.

Levine, R. R. y B. B. Clark (1982). *Farmacología. Acciones y reacciones medicamentosas*. Salvat Editores, S.A. México: 391 - 393.

Malone, M.H. y A. Rother, (1994). *Heimia salicifolia*: a phytochemical and pharmacologic review. *Journal of ethnopharmacology* 42: 135-159.

Martínez, M. (1993). *Las plantas medicinales de México*. 6º ed. Ed. Botas México.

Mitchell, B.F. (1997). Drugs affecting uterine motility. 559-570.

Paradiso, C. (1998) Agents used in labor and delivery and postpartum. En *Pharmacology*. Lippincott's Review Series. Lippincott – Raven Publishers, New York: 401-411.

Perusquia, M., E. Sánchez, H. Ponce-Monter, A.V. Estrada, N. Pedron, A. Valencia, A. Guzman, y A.J. Gallegos (1985). The zoapatle. XI. Effects elicited by *Montanoa tomentosa* and *Montanoa frutescens* on rat uterine strips. *Contraception* **31**(5):543-551.

Rahwan, R.G., M.M. Faust y D.T. Witiak (1977). Pharmacological evaluation of new calcium antagonists: 2-substituted 3-dimethylamino-5,6-methylenedioxyindenes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **201**: 126-137.

Reader's Digest México (1995). *Plantas Medicinales*. Reader's Digest México: 306.

Schmiot, R.F. y G. Thews. (1993). *Fisiología humana*. 24º ed. Ed. Interamericana McGraw-Hill. México, D.F.: págs. 862 - 866.

Telgmann R, Bathgate RA, Jaeger S, Tillmann G, Ivell R. (2003). Transcriptional regulation of the bovine oxytocin receptor gene. *Biol Reprod* **68**:1015-1026.

Vargas, S. R., M.A. Romero, G.S. Pérez, M.G. James y J.C. Pérez (1992). Actividad estimulante de extractos de *Tagetes foetidissima* sobre útero de rata. *Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas*. XXXV Congreso Nacional. Xalapa, Veracruz. Hermes impresores. C46.

Varol, F.G., Hadjiconstantinou, M., Zuspan, F.P., Neff, N.H. (1989). Pharmacological characterization of the muscarinic receptors mediating phosphoinositide hydrolysis in rat myometrium. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **249**: 1-15.

Veale, D.J.H., I. Havlik, D.W. Oliver, T.G. Dekker (1999). Pharmacological effects of *Agapanthus africanus* on the isolated rat uterus. *J. Ethnopharmacology* **66**: 257-262.

Waller, D.P. (1993). Methods in ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology* **38**: 189-195.