



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

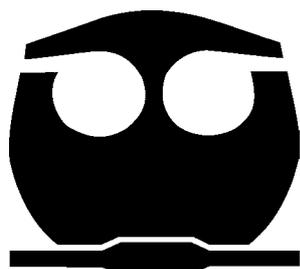
**“INHIBICIÓN DE LA HIPERPERISTALSIS,  
INDUCIDA CON ACEITE DE RICINO-CARBÓN  
ACTIVADO, POR EXTRACTOS Y COMPUESTOS  
PUROS DE OCHO ESPECIES SELECTAS DE LA  
HERBOLARIA MEXICANA.”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA:**

**MARÍA DE LOURDES SEGURA ABARCA**



**MÉXICO D. F.**

**2009**



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.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE: PROFESOR: DRA. MARÍA ISABEL AGUILAR LAURENTS**

**VOCAL: PROFESOR: DRA. RACHEL MATA ESSAYAG**

**SECRETARIO: PROFESOR: DR. FERNANDO CALZADA BERMEJO**

**1ER SUPLENTE: PROFESOR: DRA. ISABEL DEL CARMEN RIVERO CRUZ**

**2DO SUPLENTE: PROFESOR: DR. MARIO ALBERTO FIGUEROA SALDIVAR**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: UNIDAD DE INVESTIGACIÓN  
MÉDICA EN FARMACOLOGÍA DE PRODUCTOS NATURALES, 2º PISO CORCE,  
HOSPITAL DE PEDIATRÍA, CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI.**

**ASESOR DEL TEMA: DR. FERNANDO CALZADA BERMEJO**

**SUSTENTANTE: MARÍA DE LOURDES SEGURA ABARCA**

**ÍNDICE**

	Página
1. Introducción	1
1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. Objetivos	2
1.2.1. Objetivo general	2
1.2.2. Objetivos particulares	2
1.3. Justificación	3
1.4. Hipótesis	3
2. Marco teórico	4
2.1. Diarrea	4
2.2. Medicina tradicional	7
2.3. Antecedentes de las plantas selectas de la herbolaria mexicana, objeto de estudio.	8
2.3.1. <i>Brickellia paniculata</i> (Miller) Robinson.	8
2.3.2. <i>Chiranthodendron pentadactylon</i> Larreat	9
2.3.3. <i>Decachaeta incompta</i> R.M. King y H. Rob	10
2.3.4. <i>Geranium mexicanum</i> H.B.K.	11
2.3.5. <i>Helianthemum glomeratum</i> Lag.	13
2.3.6. <i>Punica granatum</i> L.	14
2.3.7. <i>Rubus coriifolius</i> Focke	16
2.3.8. <i>Teloxys graveolens</i> Willd	17
3. Materiales y métodos	20
3.1. Equipo y Material de Laboratorio	20
3.2. Reactivos	20
3.3. Material Vegetal	20
3.4. Preparación de los Extractos	21
3.5. Compuestos Puros	22
3.6. Ensayo Biológico	22
3.6.1. Animales de laboratorio	22
3.6.2. Modelo Biológico	23

3.6.3 Dosificación de los Agentes Inhibidores	24
3.7 Determinación de $DI_{MAX}$ y $DE_{50}$	25
4. Resultados	26
4.1 Comparativo Extractos	26
4.2 Curvas Dosis-Respuesta de Extractos	26
4.3 Determinación de $DI_{MAX}$ o $DE_{50}$ de extractos	30
4.5 Comparativo Productos Puros	31
4.6 Curvas Dosis-Respuesta de Productos Puros	31
4.7 Determinación de $DI_{MAX}$ o $DE_{50}$ de compuestos Puros	34
5. Discusión	35
6. Conclusiones	39
7. Bibliografía	40

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Clasificación de la diarrea de acuerdo a su etiología, sintomatología y microorganismo causal. Modificado a partir de Romero y Herrera, 2002.	5
Tabla 2. Estadísticas de mortalidad por enfermedades infecciosas intestinales en 2008. Tomado del Sistema Nacional de Información de Salud.	6
Tabla 3. Estructuras de los compuestos puros aislados de plantas selectas de la herbolaria mexicana empleadas para tratar malestares gastrointestinales.	19

Tabla 4 Disolventes empleados en la extracción de la porción vegetal seleccionada.	21
Tabla 5. Dosis Inhibitoria máxima en mg/kg de peso corporal, presentada por los extractos de las ocho especies selectas, con su correspondiente porcentaje de inhibición máxima resultante, +/- la desviación estándar.	30
Tabla 6. Dosis Efectiva 50 en mg/kg de peso corporal, presentada por el extracto <i>D. incompta</i> .	30
Tabla 7. Dosis Inhibitoria máxima en $\mu\text{mol/kg}$ de peso corporal, presentada por los productos puros derivados de las especies selectas, con su correspondiente porcentaje de inhibición máxima resultante, +/- la desviación estándar.	34
Tabla 8. Dosis Efectiva 50 en $\mu\text{mol/kg}$ de peso corporal, presentada por los productos puros derivados de las especies selectas.	34

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. <i>Brickellia paniculata</i> (Miller) Robinson, ejemplar de herbario.	8
Figura 2. Flores de <i>Chiranthodendron pentadactylon</i> Larreatequi, ejemplar de herbario.	9
Figura 3. <i>Decachaeta incompta</i> (DC.) R.M.King & H.Rob, ejemplar de herbario.	11
Figura 4. <i>Geranium mexicanum</i> H.B.K., ejemplar de herbario.	12
Figura 5. <i>Helianthemum glomeratum</i> Lag, ejemplar de herbario.	13
Figura 6. <i>Punica granatum</i> L., ejemplar de herbario.	15
Figura 7. <i>Rubus coriifolius</i> Focke, ejemplar de herbario.	16

Figura 8. <i>Teloxys graveolens</i> Willd, ejemplar de herbario.	18
Figura 9. Herbario IMSSM del IMSS	21
Figura 10. Animales de laboratorio.	22
Figura 11. Administración con sonda esofágica.	23

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Página
Gráfica 1. Porcentaje de inhibición del hiperperistaltismo, presentado por los ocho extractos evaluados a dosis de 300 mg/kg de peso corporal, las barras de error representan la desviación estándar.	26
Gráfica 2. Curva dosis-respuesta del extracto de la especie <i>Brickellia paniculata</i> (Mill.) B.L.Rob, las barras de error corresponden a la desviación estándar.	26
Gráfica 3. Curva dosis-respuesta del extracto de la especie <i>Chiranthodendron pentadactylon</i> Larreat, las barras de error corresponden a la desviación estándar.	27
Gráfica 4. Curva dosis-respuesta del extracto de la especie <i>Geranium mexicanum</i> H.B.K., las barras de error corresponden a la desviación estándar.	27
Gráfica 5. Curva dosis-respuesta del extracto de la especie <i>Helianthemum glomeratum</i> Lag, las barras de error corresponden a la desviación estándar.	28
Gráfica 6. Curva dosis-respuesta del extracto de la especie <i>Punica granatum</i> L., las barras de error corresponden a la desviación estándar.	28
Gráfica 7. Curva dosis-respuesta del extracto de la especie <i>Rubus coriifolius</i> Focke, las barras de error corresponden a la desviación estándar.	29

Gráfica 8. Curva dosis-respuesta del extracto de la especie <i>Teloxys graveolens</i> Willd., las barras de error corresponden a la desviación estándar.	29
Gráfica 9. Porcentaje de inhibición del hiperperistaltismo, presentado por los nueve compuestos puros evaluados a dosis de 10 mg/kg de peso corporal, las barras de error representan la desviación estándar.	31
Gráfica 10. Curva dosis-respuesta del compuesto puro Pinostrobina, las barras de error corresponden a la desviación estándar.	31
Gráfica 11. Curva dosis-respuesta del compuesto puro Quercetina, las barras de error corresponden a la desviación estándar.	32
Gráfica 12. Curva dosis-respuesta del compuesto puro Tilirósido, las barras de error corresponden a la desviación estándar.	32
Gráfica 13. Curva dosis-respuesta del compuesto puro Tiramina, las barras de error corresponden a la desviación estándar.	33
Gráfica 14. Curva dosis-respuesta del compuesto puro Xantomicrol, las barras de error corresponden a la desviación estándar.	33

## ABREVIATURAS

<i>B. paniculata</i>	<i>Brickellia paniculata</i> (Miller) Robinson.
CI <sub>50</sub>	Concentración inhibitoria cincuenta
<i>Ch. pentadactylon</i>	<i>Chiranthodendron pentadactylon</i> Larreatequi.
<i>D. incompta</i>	<i>Decachaeta incompta</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.
DE <sub>50</sub>	Dosis efectiva cincuenta

DI <sub>MAX</sub>	Dosis inhibitoria máxima
DMSO	Dimetil Sulfóxido
Dr.	Doctor
<i>et al.</i>	Otros autores
<i>G. mexicanum</i>	<i>Geranium mexicanum</i> H.B.K.
h	Horas
<i>H. glomeratum</i>	<i>Helianthemum glomeratum</i> Lag
HPLC-UV	Cromatógrafo líquido acoplado a detector Ultra Violeta
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
IR	Infrarojo
kg	Kilogramos
μmol	Micromoles
μg	Microgramos
M. en C.	Maestra en Ciencias
mg	Miligramos
mg/kg	Miligramos por kilogramo de peso corporal
mL	Militros
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coil</i>
<i>P. granatum</i>	<i>Punica granatum</i> L.
p.o.	Oral
<i>R. coriifolius</i>	<i>Rubus coriifolius</i> Focke
RMN	Resonancia magnética nuclear
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>T. graveolens</i>	<i>Teloxys graveolens</i> Lag
UV	Ultra violeta

## **1. INTRODUCCIÓN.**

### 1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Durante décadas, en México, las plantas han sido empleadas por la medicina tradicional para tratar, curar, prevenir o controlar innumerables enfermedades; sin embargo no se cuenta con una base farmacológica que apoye el empleo y fundamente la actividad y eficacia de los componentes derivados de las especies vegetales. Este es el caso de plantas como *Brickellia paniculata*, *Chiranthodendron pentadactylon*, *Decachaeta incompta*, *Geranium mexicanum*, *Helianthemum glomeratum*, *Punica granatum*, *Rubus coriifolius*, y *Teloxis graveolens*, empleadas en comunidades de nuestro país para tratar la diarrea, la cual es considerada como una enfermedad de salud pública en México.

Las malas condiciones económicas en las que viven muchas comunidades rurales fomentan la inaccesibilidad de medicamentos, siendo escasos y muy costosos, por lo cual emplean las especies antes mencionadas para procurar su salud. Considerando lo anterior es importante contar con estudios que sustenten el uso de estas plantas y comprueben su efectividad.

El presente estudio tiene como finalidad demostrar el potencial inhibidor de la hiperperistalsis de los extractos crudos de las especies antes mencionadas, así como de algunos compuestos puros activos de los extractos: (+)-catequina, (-)-epicatequina, incomptina A, incomptina B, pinostrobina, quercetina, tilirósido, tiramina, y xantomicrol.

## 1.2 OBJETIVOS.

### OBJETIVO GENERAL:

- Evaluar el potencial antidiarreico de las especies selectas de la herbolaria mexicana: *B. paniculata*, *Ch. pentadactylon*, *D. incompta*, *G. mexicanum*, *H. glomeratum*, *P. granatum*, *R. coriifolius*, y *T. graveolens*, mediante la evaluación de sus extractos crudos y de algunos compuestos puros obtenidos de estas especies, empleando un modelo de inducción de hiperperistalsis por un bolo de aceite de ricino con carbón activado al 1.5%.

### OBJETIVOS PARTICULARES:

- Determinar el porcentaje de inhibición de la hiperperistalsis de ocho extractos crudos a una dosis de 300mg/kg.
- Determinar la  $DE_{50}$  o  $DI_{MAX}$  de los extractos crudos de las ocho especies objeto de estudio.
- Determinar el porcentaje de inhibición de la hiperperistalsis de nueve compuestos puros a una dosis de 10mg/kg.
- Determinar la  $DE_{50}$  o  $DI_{MAX}$  de los compuestos puros: (+)-catequina, (-)-epicatequina, incomptina A, incomptina B, pinostrobina, quercetina, tilirósido, tiramina, y xantomicrol.

### 1.3 JUSTIFICACIÓN.

Estudios previos realizados a los extractos crudos de *B. paniculata*, *Ch. pentadactylon*, *D. incompta*, *G. mexicanum*, *H. glomeratum*, *P. granatum*, *R. coriifolius*, y *T. graveolens*, así como algunos compuestos puros derivados de estas especies, han mostrado actividad contra distintos agentes etiológicos causantes de diarrea y disentería que incluyen bacterias y protozoarios.

Como parte de la respuesta del organismo humano a las infecciones intestinales, enfermedades psicósomáticas o ingestión de sustancias que causan diarrea, se provoca un incremento en el tránsito intestinal; por lo cual es necesario saber si estos extractos y compuestos, además de las propiedades antimicrobianas ya demostradas, son capaces de inhibir la hiperperistalsis inducida en ratas y de esta manera contribuir al efecto de las especies vegetales como agentes antidiarreicos.

### 1.4 HIPÓTESIS.

Las propiedades antimicrobianas demostradas, en conjunto con la información etnobotánica existente sobre su uso como antidiarreicos aseguran que tanto los extractos crudos y algunos compuestos puros activos obtenidos de las especies *B. paniculata*, *Ch. pentadactylon*, *D. incompta*, *G. mexicanum*, *H. glomeratum*, *P. granatum*, *R. coriifolius*, y *T. graveolens*, inhibirán en alguna medida la hiperperistalsis.

## **2. MARCO TEÓRICO.**

### 2.1 DIARREA.

La diarrea es una alteración del ritmo intestinal que se acompaña de un aumento en las deposiciones semilíquidas; los agentes causantes son diversos, incluyen virus, parásitos, bacterias, sustancias tóxicas y factores psicossomáticos, sin embargo las alteraciones globales de la función intestinal son semejantes. El intestino deja de ser un órgano para la absorción neta de agua y electrolitos, de modo que el agua pasa hacia las evacuaciones (Goodman & Gilman, 1996).

Según su persistencia, la diarrea puede clasificarse en tres tipos: aguda, persistente y disentería (NOM-031-SSA2-1999), con una recurrencia en México de 81.3%, 9.2% y 9.5%, respectivamente (Romero y Herrera, 2002).

La pérdida de líquidos en este proceso puede producir deshidratación y *shock*, que son a veces graves en los niños menores de cinco años y personas de la tercera edad.

La OMS reporta a la diarrea como la tercer causa de muerte a nivel mundial y la principal causa de mortalidad infantil desde el nacimiento hasta los cinco años de edad, asociada a comunidades, pueblos y ciudades en desarrollo, cuyo nivel socioeconómico bajo propicia malas condiciones higiénicas de vida. Se estima que 1.5 millones de infantes fallecieron de diarrea en el año de 1999 (Hénok Blaise y Dovie, 2007).

En México la diarrea es un problema de salud pública; como se muestra en la tabla 2, ocupa los primeros lugares causales de mortalidad en la población pediátrica, siendo sin embargo una cifra subestimada, debido a que sólo considera a la población que tiene acceso a los sistemas de salud.

Tabla 1. Clasificación de la diarrea de acuerdo a su etiología, sintomatología y microorganismo causal. Modificado a partir de Romero y Herrera, 2002.

TIPO	ETIOLOGÍA	SÍNTOMAS	MICROORGANISMO CAUSAL
Diarrea aguda	No inflamatoria: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminución de la absorción de agua.</li> <li>• Disminución de la absorción de la glucosa.</li> <li>• Diarrea del viajero</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evacuaciones aumentadas en número y consistencia líquida.</li> <li>• Fiebre.</li> <li>• Vómito.</li> <li>• Hiporexia.</li> </ul>	<i>Vibrio cholerae</i> , <i>Escherichia coli</i> enteroagregativa y enterotoxigénica (en la diarrea del viajero), <i>S. aureus</i> y <i>Rotavirus</i>
	Inflamatoria: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evacuaciones con moco y sangre.</li> <li>• Leucocitos (+10).</li> </ul>		<i>E. coli</i> , <i>Shigella</i> sp., <i>Salmonella</i> sp., <i>Yersinia enterocolitica</i> y <i>Campylobacter</i> sp.
Diarrea persistente o crónica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inicia como diarrea aguda, se prolonga por más de 14 días.</li> <li>• Intolerancia a nutrientes.</li> <li>• Síndrome de mala absorción intestinal.</li> <li>• Agentes infecciosos.</li> </ul>	Los mismos que en la diarrea aguda.	<i>G. lamblia</i> , <i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Necator americanus</i> y <i>Shigella</i> sp.
Diarrea con sangre o disentería.	Invasión con inflamación de la mucosa colónica.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evacuaciones con sangre y moco.</li> <li>• Cólicos.</li> <li>• Tenesmo.</li> <li>• Fiebre.</li> </ul>	<i>Shigella</i> sp., <i>E. coli</i> , enteroinvasiva y <i>E. coli</i> , enterohemorrágica, <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Salmonella</i> sp., <i>Yersinia</i> y <i>Trichinella spiralis</i> .

Tabla 2. Estadísticas de mortalidad por enfermedades infecciosas intestinales en 2008. Tomado del Sistema Nacional de Información de Salud.

Grupo poblacional		Número de causa de muerte	Tasa de mortalidad estimada*
Menor de 1 año	Hombres	5	57.3
	Mujeres	5	43.4
1-4 años	Hombres	1	6.6
	Mujeres	2	5.6

\*Tasa por cada 100 000 individuos.

El tratamiento para la diarrea siempre se inicia con terapia de rehidratación oral empleando soluciones electrolíticas y glucosa para reestablecer el equilibrio de sales en dosis de 50-200mL/Kg/24h; adicionalmente, si el mecanismo fisiopatológico es infección e inflamación se emplean agentes antimicrobianos y antiinflamatorios; los principales agentes etiológicos infecciosos son los parásitos *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*, cuyo tratamiento clásico es metronidazol, y para las enterobacterias *Shigella sp.*, *Salmonella sp.* y *E. coli* se emplean antibióticos como cloranfenicol o trimetoprima. Si es diarrea osmótica por mala absorción se debe evitar el agente osmótico dañino. En caso de diarrea secretora se recomienda recacedotril o loperamida, sin embargo este último no debe ser administrado a niños menores de 6 años (Velázquez *et al.*, 2006).

Algunos fármacos pueden estimular o reducir la motilidad intestinal, también llamada peristalsis, y con ello alterar el tiempo de tránsito de los compuestos por el intestino. Como la magnitud de la absorción es en general, paralela al tiempo de tránsito, la hiperperistalsis contribuye a la diarrea, por tanto, la finalidad del tratamiento contra la diarrea, es disminuir la motilidad intestinal favoreciendo así la absorción (Goodman & Gilman, 1996).

En México un importante sector de la población utiliza plantas medicinales para el tratamiento de desórdenes gastrointestinales como la diarrea y disentería, principalmente en regiones pobres o comunidades alejadas de los centros urbanos donde es difícil tener acceso a medicamentos, sin embargo la comprobación de la eficacia no es completa en la mayoría de los casos.

## 2.2 MEDICINA TRADICIONAL.

Es la suma total del conocimiento, habilidades y prácticas basadas en teorías, creencias y experiencias de las diferentes culturas, utilizadas para el mantenimiento de la salud, como prevención, diagnóstico, mejora o tratamiento de padecimientos físicos y mentales (OMS 2000).

El uso tradicional de plantas endémicas para el alivio de diversos padecimientos es una de las prácticas más usadas dentro de la medicina tradicional; el legado milenario de conocimientos sobre el uso terapéutico de las plantas se ha transmitido de generación en generación permaneciendo hasta nuestros días, en los cuales ha cobrado un renovado interés debido a que representa una alternativa económica en el mantenimiento de la salud. A pesar de que no se cuenta con la información necesaria sobre el uso de la medicina alternativa, de acuerdo a la información de la OMS, más del 80% de la población mundial confía en la medicina tradicional (Duraipandiyan *et al.*, 2006).

A lo largo de la historia de México han existido diversas publicaciones sobre plantas medicinales, siendo el "Códice Badiano" una de las más antiguas; de tal forma que el acervo de la herbolaria mexicana es enorme y continúan los esfuerzos por estudiar la mayor parte de las especies para contar con bases científicas que respalden no sólo la seguridad y eficacia de su uso medicinal, lo cual es sustentado en cierta medida por su uso ancestral, si no también del control de calidad, regulación y registro de

ésta práctica, lo que ayuda a contar con nuevas alternativas terapéuticas y elaboración de fitofármacos.

### 2.3 ANTECEDENTES DE LAS PLANTAS SELECTAS DE LA HERBOLARIA MEXICANA, OBJETO DE ESTUDIO.

A continuación se presentarán los antecedentes de las especies vegetales, que han sido seleccionadas de acuerdo a su uso en la medicina tradicional mexicana para tratar desordenes gastrointestinales.

#### 2.3.1 *Brickellia paniculata* (Miller) Robinson.



Figura 1. *Brickellia paniculata* (Miller) Robinson, ejemplar de herbario.

Familia: Asteraceae

Género: *Brickellia*

Especie: *Brickellia paniculata* (Miller) Robinson

Nombre popular: ch'ail pox, prodigiosa.

No. voucher herbario IMSSM: 7471

Usos tradicionales: La infusión de hojas y tallo se emplea para tratar problemas gastrointestinales como dolor de estómago, cólicos y diarrea; para el tratamiento de afecciones de las vías respiratorias.

Distribución geográfica: Chiapas, Jalisco y Oaxaca.

Compuestos objeto de estudio: xantomicrol[1]

Estudios farmacológicos reportados:

- Extracto crudo: Efecto antiespasmódico en íleon de cobayo (Meckes *et al.*, 2002). Actividad antibacteriana moderada contra *S. aureus*, inactiva contra *E. coli* y *Candida albicans*, efecto antiinflamatorio moderado (Meckes *et al.*, 2004).
- Xantomicrol: Efecto antiespasmódico en útero de rata (Ponce-Monter *et al.*, 2006)

### 2.3.2 *Chiranthodendron pentadactylon* Larreatequi.



Figura 2. Flores de *Chiranthodendron pentadactylon* Larreat., ejemplar de herbario.

Familia: Sterculiaceae

Género: *Chiranthodendron*

Especie: *Chiranthodendron pentadactylon* Larreat.

Nombre popular: Árbol de las manitas, flor de manita.

No. voucher herbario IMSSM: 14256

Usos tradicionales: Afecciones del corazón, diarrea y disentería, epilepsia, tranquilizante, dolor de cabeza, tratamiento de hemorroides, úlceras crónicas, inflamación de los ojos.

Distribución geográfica: Chiapas, Estado de México, Guerrero, Michoacán, y Oaxaca.

Compuestos objeto de estudio: (-)-epicatequina [2], tilirósido [3],

Estudios farmacológicos reportados:

- Extracto crudo: Efecto vasoactivo, inhibición significativa de la contractilidad en aorta de rata (Perusquia *et al.*, 1995). Efecto antiespasmódico en ileon aislado de rata (Arellano, 2004). Actividad antibacteriana *in vitro* contra *E. coli*, y varias especies de *Shigella* y *Salmonella* (Alanís *et al.*, 2005). Actividad antiprotozoaria significativa *in vitro* contra *Entamoeba histolytica*,  $CI_{50}$  2.5 $\mu$ g/mL, antiprotozoaria moderada *in vitro* contra *Giardia lamblia*  $CI_{50}$  44.2 $\mu$ g/mL (Calzada *et al.*, 2006). Actividad inhibitoria de hipersecreción *in vivo*, 87.6% de inhibición a dosis de 300mg/kg (Velázquez *et al.*, 2006).
- (-)-Epicatequina: Actividad antibacteriana moderada (Ávila, 2006).
- Tilirósido: Actividad antibacteriana de 77.4% de inhibición (Ávila, 2006).

### 2.3.3 *Decachaeta incompta* (DC.) R.M.King & H.Rob.

Familia: Asteraceae

Género: *Decachaeta*

Especie: *Decachaeta incompta* (DC.) R.M.King & H.Rob.

No. voucher herbario IMSSM: 15311

Usos tradicionales: Dolor de estómago y diarrea.

Distribución geográfica: Estado de México, Jalisco, Michoacán, Oaxaca, Puebla y Veracruz.

Compuestos bajo estudio: incomptina A [4], incomptina B [5].



Figura 3. *Decachaeta incompta* (DC.) R.M.King & H.Rob, ejemplar de herbario.

Estudios farmacológicos reportados:

- Extracto crudo: Actividad antiprotozoaria contra *Entamoeba histolytica*, *Leishmania mexicana* y *Tripanosoma cruzi*. No muestra actividad antibacteriana contra *E. coli* y *S. aureus*. Efecto espermaticida a 5µg/mL (Guerrero *et al.*, 1994).

2.3.4 *Geranium mexicanum* H.B.K.

Familia: Geraniaceae

Género: *Geranium*

Especie: *Geranium mexicanum* H.B.K.

Nombre popular: Pata de león.

No. voucher herbario IMSSM: 6303

Usos tradicionales: Dolor de estómago, diarrea, disentería, gripe, amigdalitis, como purgante, remedio para la tonsilitis, sarpullido, urticaria y como antiséptico.

Distribución geográfica: Estado de México, Morelos, Distrito Federal.

Compuestos objeto de estudio: (-)-epicatequina, (+)-catequina [6].



Figura 4. *Geranium mexicanum* H.B.K., ejemplar de herbario.

Estudios farmacológicos reportados:

- Extracto crudo. Actividad antibacteriana *in vitro* contra *E. coli*, y *Shigella sp.* y *Salmonella sp.* (Alanís *et al.*, 2005). Actividad antiprotozoaria *in vitro* contra *Entamoeba histolytica*  $CI_{50}$  79.2  $\mu\text{g/mL}$  y *Giardia lamblia*  $CI_{50}$  100.4  $\mu\text{g/mL}$  (Calzada *et al.*, 2005). No muestra actividad inhibitoria de hipersecreción *in vivo* (Velázquez *et al.*, 2006). Actividad moderada *in vitro* contra *Trichomonas vaginalis*  $CI_{50}$  56.0  $\mu\text{g/mL}$ . (Calzada *et al.*, 2007a).

- (-)-Epicatequina. Actividad *in vitro* contra *Entamoeba histolytica*  $CI_{50}$  1.9  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y *Giardia lamblia*  $CI_{50}$  1.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Calzada *et al.*, 2005).
- Catequina. Actividad *in vitro* contra *Entamoeba histolytica*  $CI_{50}$  65.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y *Giardia lamblia*  $CI_{50}$  33.9  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Calzada *et al.*, 2005).
- Tiramina. Actividad *in vitro* contra *Entamoeba histolytica*  $CI_{50}$  54.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y *Giardia lamblia*  $CI_{50}$  68.9  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Calzada *et al.*, 2005).

### 2.3.5 *Helianthemum glomeratum* Lag.



Figura 5. *Helianthemum glomeratum* Lag, ejemplar de herbario.

Familia: Cistaceae

Género: *Helianthemum*

Especie: *Helianthemum glomeratum* Lag.

Nombre popular: Cenicilla, tan vomol, hierba de loro, chinilla, y nanajuana. Al género también se le conoce como "rosas de piedra".

No. voucher herbario IMSSM: 5896

Usos tradicionales: Para tratar la diarrea, infecciones intestinales por parásitos, dolor abdominal y disentería.

Distribución geográfica: Chiapas, Colima, Estado de México. Jalisco, Michoacán, y Querétaro.

Compuestos objeto de estudio: tilirósido, quercetina [8].

Estudios farmacológicos reportados:

- Extracto crudo: Actividad antibacteriana contra cepas de *E. coli*, y diversas especies de *Shigella*, *Salmonella* y *Vibrio* (Meckes *et al.*, 1997). Actividad antiprotozoaria *in vivo* contra *Giardia lamblia* DE<sub>50</sub> 0.125mg/kg comparable a metronidazol y emetina (Barbosa *et al.*, 2006). Actividad antiprotozoaria *in vitro* contra *Entamoeba histolytica* CI<sub>50</sub> 24.7 µg/mL y *Giardia lamblia* CI<sub>50</sub> 95.6 µg/mL, baja en comparación con metronidazol y emetina (Calzada *et al.*, 2007b).
- Tilirósido: Actividad antiprotozoaria *in vivo* contra *Giardia lamblia* comparable al metronidazol DE<sub>50</sub> 1.429 µmol/kg (Barbosa *et al.*, 2007). Actividad antiprotozoaria *in vitro* contra *Entamoeba histolytica* CI<sub>50</sub> 17.5 µg/mL y *Giardia lamblia* CI<sub>50</sub> 17.4 µg/mL, baja en comparación con metronidazol y emetina (Calzada *et al.*, 2007b)
- Quercetina: Actividad antiprotozoaria *in vitro* contra *Entamoeba histolytica* CI<sub>50</sub> 98.0 µg/mL y *Giardia lamblia* CI<sub>50</sub> 24.2 µg/mL, baja en comparación con metronidazol y emetina (Calzada *et al.*, 2007b)

### 2.3.6 *Punica granatum* L.

Familia: Punicaceae

Género: *Punica*

Especie: *Punica granatum* L.

Nombre popular: flor de granado.

No. voucher herbario IMSSM: 10999

Usos tradicionales: La cáscara del fruto se emplea para curar el empacho, dolor de estómago, diarrea, antihelmíntico, afrodisíaca, laxante, diurético, cardiotónico. Planta completa para diarrea aguda. Corteza para la disentería, bronquitis, afecciones biliares, úlcera gástrica y como antihelmíntico.

Distribución geográfica: Estado de México.

Compuestos objeto de estudio: en el fruto quercetina; en las hojas (+)-catequina, (-)-epicatequina y quercetina.



Figura 6. *Punica granatum* L., ejemplar de herbario.

Estudios farmacológicos reportados:

- Extracto crudo: Actividad *in vitro* contra diversas especies de bacterias de los géneros: *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella* y *Shigella* (Alanís et al., 2005; Naz et al., 2007). Actividad antiprotozoaria *in vitro* moderada contra *Entamoeba histolytica*  $CI_{50}$  29.5 $\mu$ g/mL, y baja

contra *Giardia lamblia* (Calzada *et al.*, 2006). Actividad inhibitoria de hipersecreción *in vivo* 55.9% a dosis de 300mg/kg (Velázquez *et al.*, 2006). No muestra actividad *in vitro* contra *tricomonas vaginalis* (Calzada *et al.*, 2007a).

- Quercetina. Muestra actividad *in vitro* contra diversas especies de bacterias de los géneros: *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella* y *Shigella* (Naz *et al.*, 2007).

### 2.3.7 *Rubus coriifolius* Focke.



Figura 7. *Rubus coriifolius* Focke, ejemplar de herbario.

Familia: Rosaceae

Género: *Rubus*

Especie: *Rubus coriifolius* Focke

Nombre popular: mora, zarza, makvm, tzajal, pili sat makum, makum.

No. voucher herbario IMSSM: 11874

Usos tradicionales: Para tratar la disentería, diarrea aguda, vómito, debilidad, infecciones dentales y de la garganta.

Distribución geográfica: Chiapas, Michoacán, Morelos, y Veracruz.

Compuestos objeto de estudio: (-)-epicatequina y (+)-catequina.

Estudios farmacológicos reportados:

- Extracto crudo: Efecto anti-inflamatorio moderado (Meckes *et al.*, 2004). Actividad antiprotozoaria *in vivo* moderada contra *Giardia lamblia* DE<sub>50</sub> 0.506 mg/kg (Barbosa *et al.*, 2006).
- (-)-Epicatequina: Actividad *in vitro* anti-*Entamoeba histolytica* CI<sub>50</sub> 1.9µg/mL y anti-*Giardia lamblia* CI<sub>50</sub> 1.6µg/mL (Alanís *et al.*, 2003). Actividad *in vivo* anti-*Giardia lamblia* 8 veces más potente que el metronidazol y emetina (Barbosa *et al.*, 2007).
- Catequina: Actividad antiprotozoaria *in vitro* contra *Entamoeba histolytica* CI<sub>50</sub> 65.5µg/mL y contra *Giardia lamblia* CI<sub>50</sub> 34.0µg/mL (Alanís *et al.*, 2003).

### 2.3.8 *Teloxys graveolens* Willd.

Familia: Chenopodiaceae

Género: *Teloxys*

Especie: *Teloxys graveolens* Willd.

Nombre popular: Epazote de zorrillo.

No. voucher herbario IMSSM: 2648

Usos tradicionales: Como vermífugo para las lombrices, contra la diarrea aguda y disentería.

Distribución geográfica: México

Compuestos objeto de estudio: pinostrobinina [9].

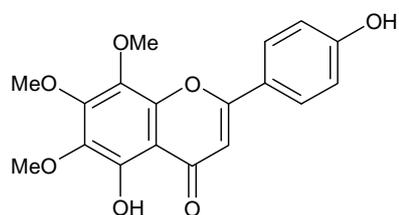


Figura 8. *Teloxys graveolens* Willd, ejemplar de herbario.

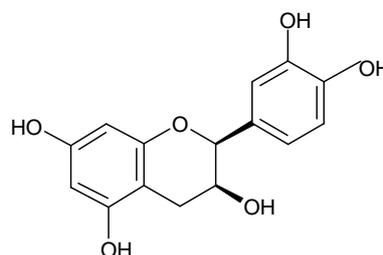
Estudios previos reportados:

- Extracto crudo: Actividad antibacteriana contra gram (+) y gram (-) (Rojas *et al.*, 1992). Efecto antiespasmódico (Hernandez *et al.*, 2000), Actividad antifúngica (Meckes *et al.*, 1998).
- Pinostrobin: Débilmente activo contra *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia* (Calzada *et al.*, 2003).

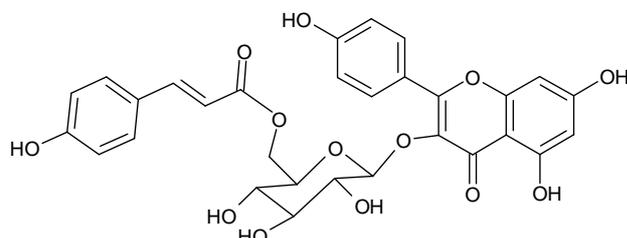
Tabla 3. Estructuras de los compuestos puros aislados de plantas selectas de la herbolaria mexicana empleadas para tratar malestares gastrointestinales.



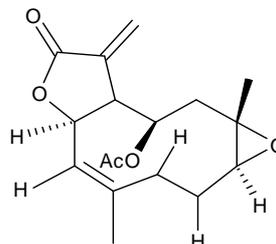
[1] Xantomicrool



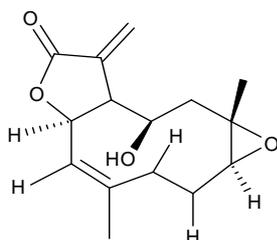
[2] (-)-Epicatequina



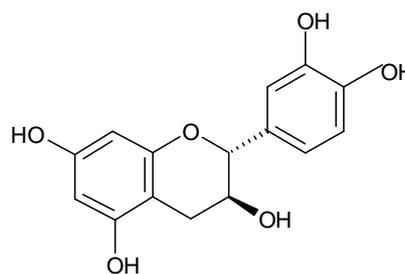
[3] Tilirósido



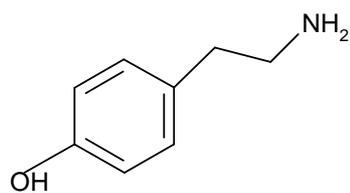
[4] Incomptina A



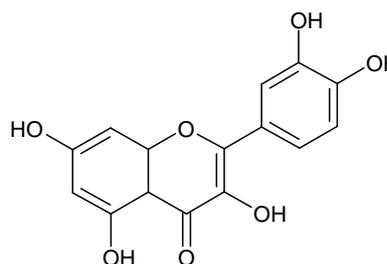
[5] Incomptina B



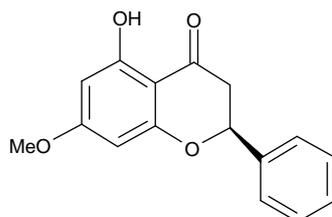
[6] Catequina



[7] Tiramina



[8] Quercetina



[9] Pinostrobina

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS.**

#### **3.1 EQUIPO Y MATERIAL DE LABORATORIO.**

- Balanza analítica
- Balanza para el pesado de los animales
- Bolsas de residuos biológico-infecciosos
- Cronómetro
- Cubrebocas
- Equipo de disección
- Espátula
- Frascos viales
- Guantes de látex desechables
- Jeringas de 5mL
- Pipetas graduadas de 1mL y 10mL
- Regla
- Sonda esofágica

#### **3.2 REACTIVOS.**

- Aceite de ricino (Sigma)
- Agua destilada
- DMSO (Merck)
- Clorohidrato de loperamida (Sigma)
- Sulfato de atropina (Sigma)

#### **3.3 MATERIAL VEGETAL<sup>1</sup>.**

Las plantas fueron recolectadas en diferentes regiones de México, seleccionadas de acuerdo a su uso en la medicina tradicional mexicana

---

<sup>1</sup> Trabajo previo realizado por el equipo de investigación.

para tratamiento de desordenes gastrointestinales; fueron autenticadas por la M. en C. Abigail Aguilar; ejemplares de referencia se depositaron en la colección etnobotánica del Herbario IMSSM del Instituto Mexicano del Seguro Social (Figura 9).



Figura 9. Herbario IMSSM del IMSS

#### 3.4 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS.

Tabla 4 Disolventes empleados en la extracción de la porción vegetal seleccionada.

Especie vegetal	Porción vegetal	Disolvente
<i>B. paniculada</i>	Partes aéreas	Metanol
<i>Ch. pentadactylon</i>	Flores	Metanol
<i>D. incompta</i>	Partes aéreas	Diclorometano
<i>G. mexicanum</i>	Raíz	Metanol
<i>H. glomeratum</i>	Partes aéreas	Metanol
<i>P. granatum</i>	Pericarpio del fruto	Metanol
<i>R. coriifolius</i>	Partes aéreas	Etanol
<i>T. graveolens</i>	Partes aéreas	Metanol

El material vegetal (100g) fue fraccionado y extraído por maceración con 300mL de disolvente (Tabla 4) por dos ocasiones. El extracto fue filtrado y concentrado a presión reducida, posteriormente fue colocado en frascos sellados y conservado en refrigeración a 4°C.

### 3.5 COMPUESTOS PUROS.

Los compuestos (-)-epicatequina, incompina A, incompina B, pinostrobina, quercetina, tilirósido, tiramina, y xantomicrol fueron obtenidos previamente en estudios biodirigidos a partir de las plantas seleccionadas; fueron purificados por cromatografía en columna, se identificaron mediante métodos espectroscópicos: UV, IR, RMN, HPLC-UV también se registraron sus propiedades físicas como el punto de fusión.

### 3.6 ENSAYO BIOLÓGICO

#### 3.6.1 ANIMALES DE LABORATORIO.



Figura 10. Animales de laboratorio

Se prepararon grupos de seis ratas, hembras Sprague-Dawley (150-200g de peso corporal) mantenidas a temperatura ambiente (22°C) con ciclo de luz/obscuridad diario de 12 hrs. Con ayuno de 24 horas antes del experimento y agua *ad libitum*. Los protocolos experimentales fueron aprobados por el Comité de Uso y Cuidado de Animales; Hospital de

Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, en acuerdo con los lineamientos para el cuidado y uso de los animales de laboratorio.

### 3.6.2 MODELO BIOLÓGICO.

La determinación del porcentaje de inhibición de hiperperistalsis se realizó mediante una modificación de los ensayos descritos por Venkatesan y colaboradores, así como Vogel (Venkatesan *et al.*, 2005; Vogel & Vogel, 2002). El agente inhibidor (300mg/kg-extractos, 10mg/kg-compuestos puros) fue suspendido en 1mL de DMSO al 10% en agua, el cual fue administrado por vía oral (p.o.). Media hora después se administró 1mL de aceite de ricino-carbón activado al 1.5% p.o. Transcurridos veinte minutos post-administración los animales fueron sacrificados por dislocación cervical y se disectó el intestino delgado desde el píloro hasta el íleon. Se midió con una regla el avance del aceite de ricino-carbón activado en el tubo digestivo.

Se emplearon dos grupos control:

1. Grupo control negativo (peristalsis basal) fue administrado p.o. 1mL de DMSO al 10% en agua destilada, 30 minutos después se administró 1mL de una suspensión de carbón activado al 1.5% en agua.
2. Grupo control positivo (hiperperistalsis) fue administrado p.o. 1mL de DMSO al 10% en agua destilada, 30 minutos después se administró 1mL de aceite de ricino con carbón activado al 1.5%.



Figura 11. Administración con sonda esofágica.

Veinte minutos post-administración los animales fueron sacrificados por dislocación cervical, posterior a lo cual se disectó el intestino delgado desde el píloro hasta el íleon. Se midió con una regla el avance del carbón activado dentro del tubo digestivo.

Se emplearon como fármacos control atropina y loperamida.

El porcentaje de inhibición de hiperperistalsis se calculó mediante la siguiente fórmula

$$\% I = 100 - \left[ \frac{(LCA) \times 100}{(LCP-LCN)} \right]$$

Donde:

%I = Porcentaje inhibitorio de la hiperperistalsis.

LCP = Longitud promedio del avance del control positivo en cm

LCN = Longitud promedio del avance del control negativo en cm

LCA = Longitud promedio del avance del agente inhibidor en cm

### 3.6.3 DOSIFICACIÓN DE LOS AGENTES INHIBIDORES (COMPARATIVO).

Para determinar el intervalo de dosificación terapéutico, se evaluó el potencial inhibidor de hiperperistalsis de los ocho extractos a una dosis de 300mg/kg, y de los nueve compuestos puros a 10mg/kg.

A cada grupo se administró vía p.o. una sola dosis del tratamiento:

Control comparativo fármaco sintético recibió 1mL de loperamida 10mg/kg disuelta en agua destilada con DMSO al 10%.

Control comparativo fármaco natural recibió 1 mL de atropina 10mg/kg disuelta en agua destilada con DMSO al 10%.

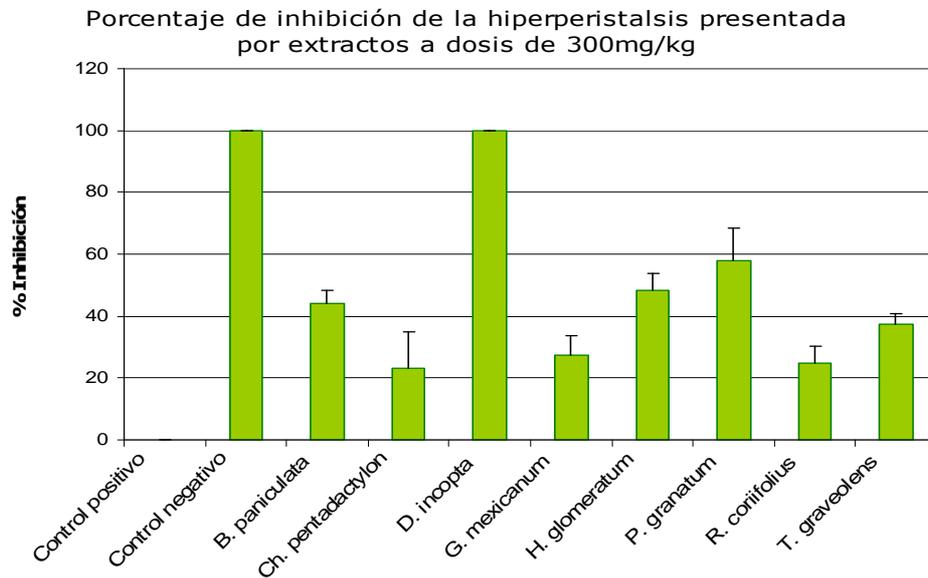
Al resto de los grupos se les administró 1 mL de los distintos extractos y compuestos puros suspendidos, según la dosis, en agua destilada con DMSO al 10%.

### 3.7 DETERMINACIÓN DE $DI_{MAX}$ , Y $DE_{50}$ .

Con base en los resultados del comparativo se establecieron las dosis a evaluar para la obtención de las curvas dosis-respuesta, con las cuales se calculó la  $DI_{MAX}$  y la  $DE_{50}$ . Se graficó para cada extracto y compuesto puro, la dosis evaluada en relación al porcentaje de inhibición resultante.

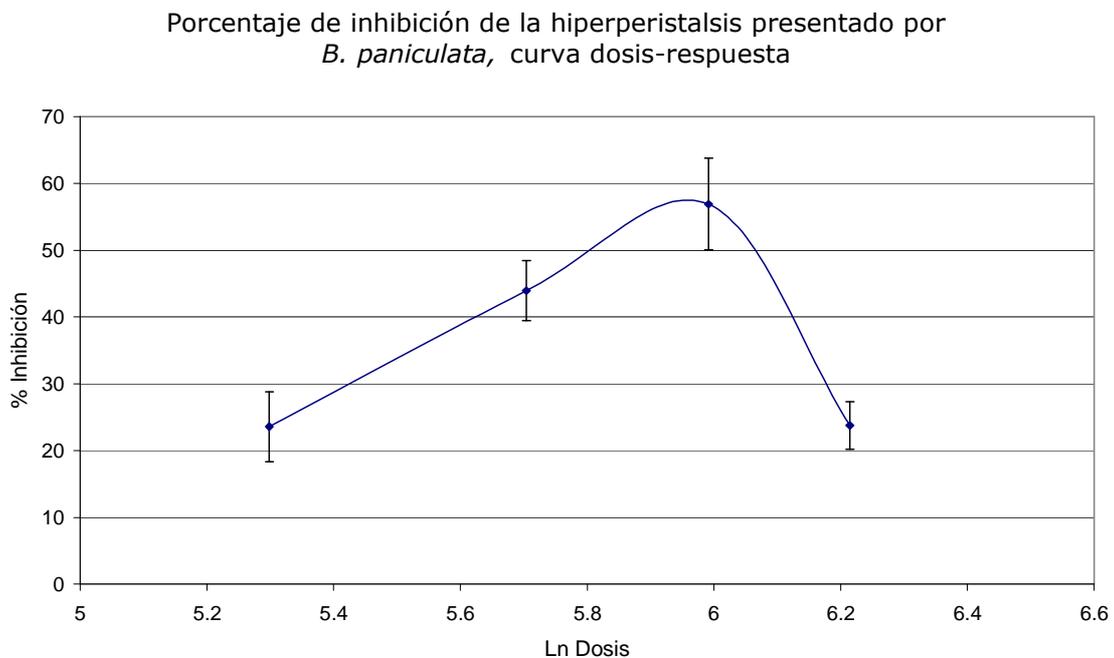
4. RESULTADOS.

4.1 COMPARATIVO EXTRACTOS.



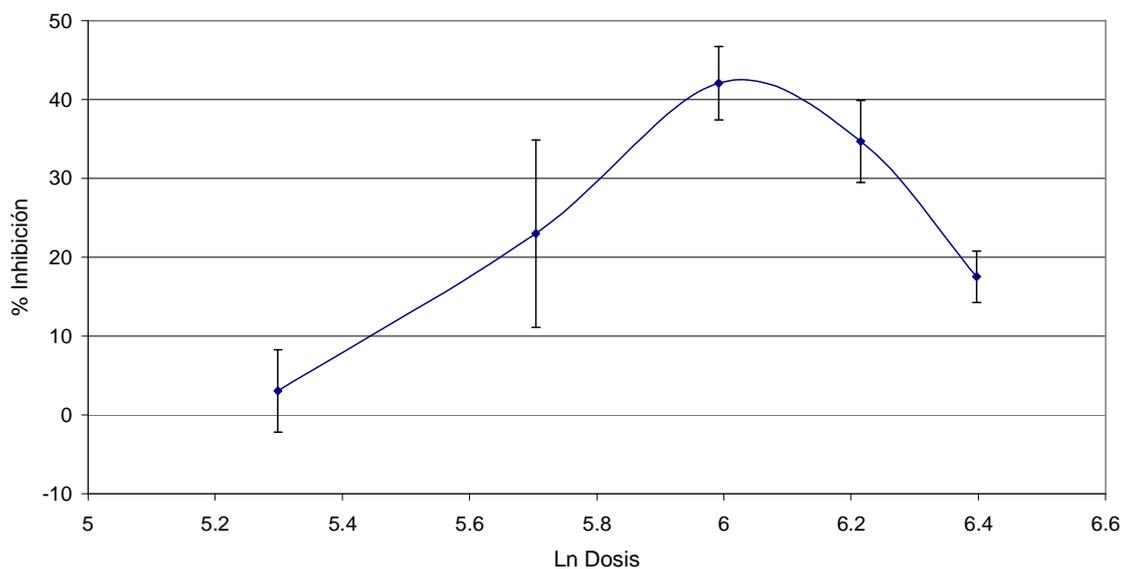
Gráfica 1. Porcentaje de inhibición del hiperperistaltismo, presentado por los ocho extractos evaluados a dosis de 300 mg/kg de peso corporal, las barras de error representan la desviación estándar.

4.2 CURVAS DOSIS-RESPUESTA DE EXTRACTOS.



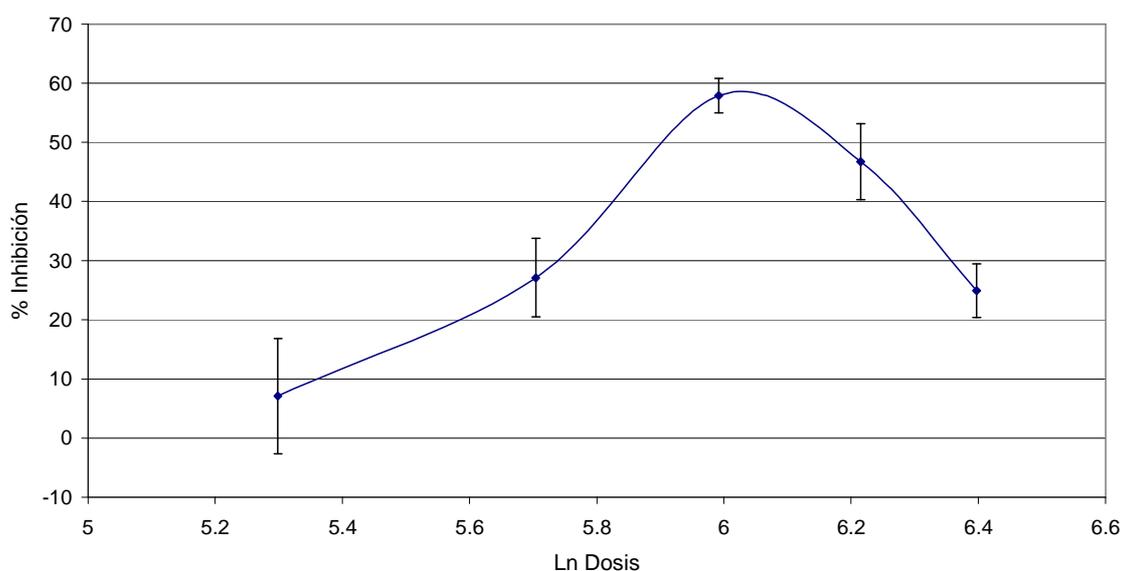
Gráfica 2. Curva dosis-respuesta del extracto de la especie *Brickellia paniculata* (Mill.) B.L.Rob, las barras de error corresponden a la desviación estándar.

Porcentaje de inhibición de la hiperperistalsis presentado por  
*C. pentadactylon*, curva dosis-respuesta



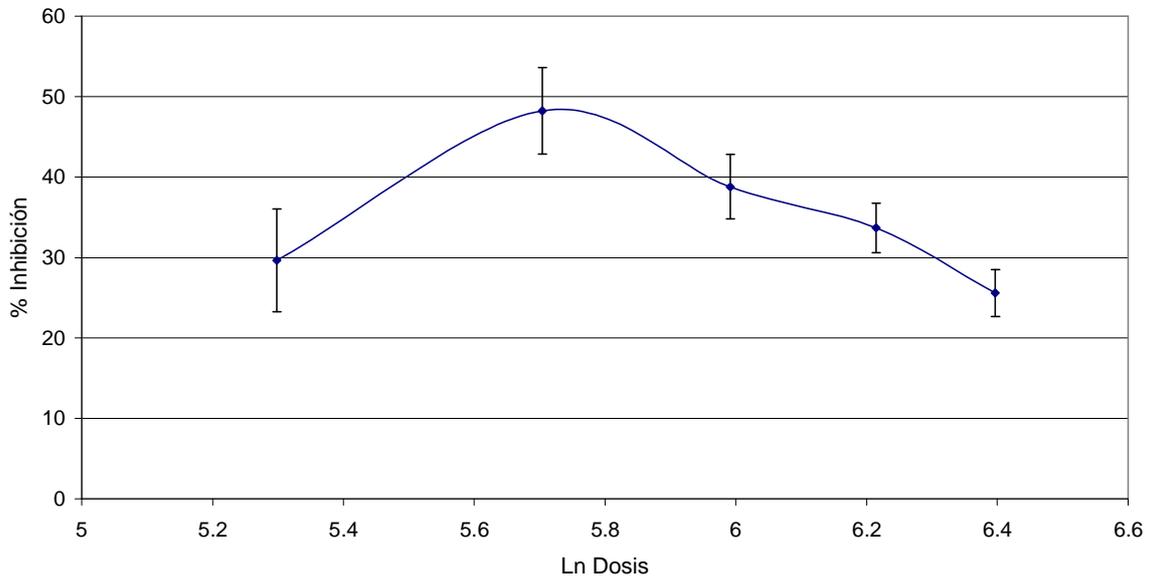
Gráfica 3. Curva dosis-respuesta del extracto de la especie *Chiranthodendron pentadactylon* Larreat, las barras de error corresponden a la desviación estándar.

Porcentaje de inhibición de la hiperperistalsis presentado por  
*G. mexicanum*, curva dosis-respuesta



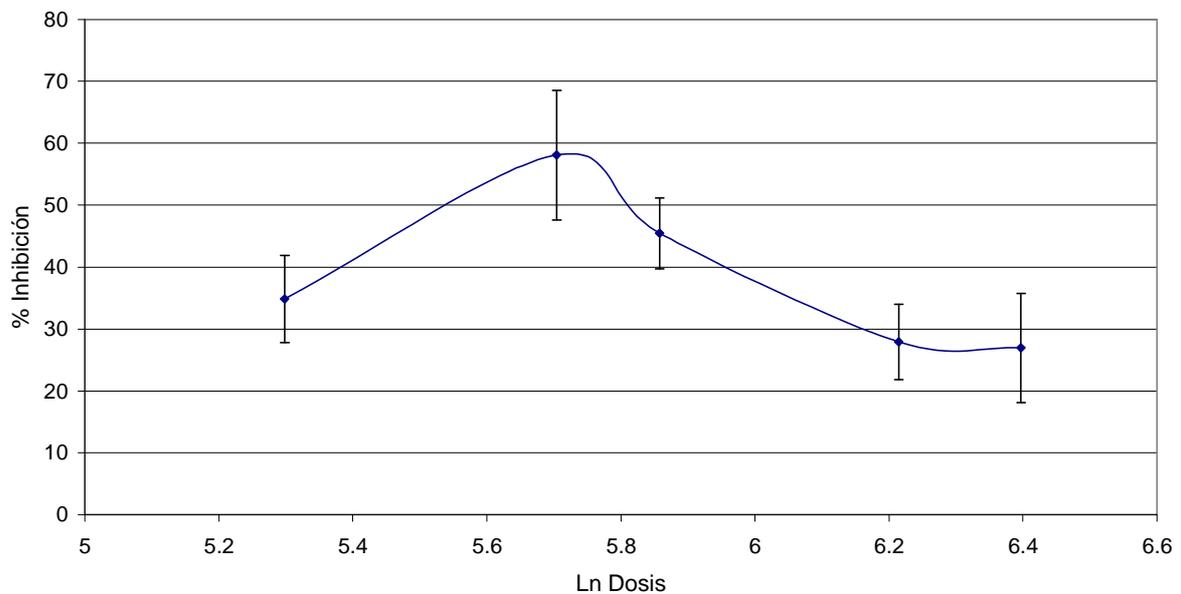
Gráfica 4. Curva dosis-respuesta del extracto de la especie *Geranium mexicanum* H.B.K., las barras de error corresponden a la desviación estándar.

Porcentaje de inhibición de la hiperperistalsis presentado por *H. glomeratum*, curva dosis-respuesta



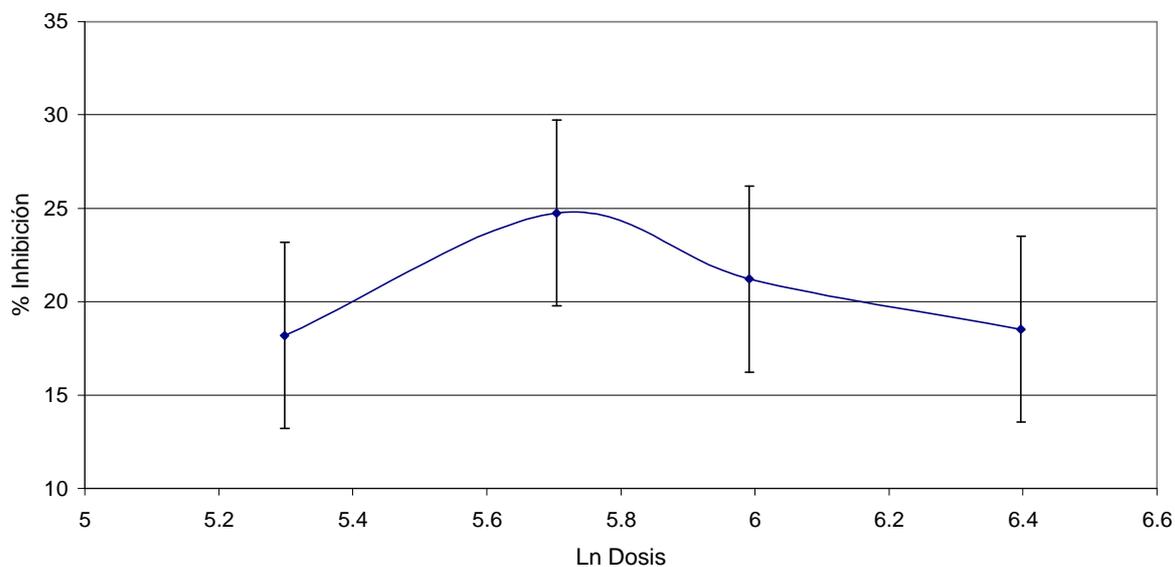
Gráfica 5. Curva dosis-respuesta del extracto de la especie *Helianthemum glomeratum* Lag, las barras de error corresponden a la desviación estándar.

Porcentaje de inhibición de la hiperperistalsis presentado por *P. granatum*, curva dosis-respuesta



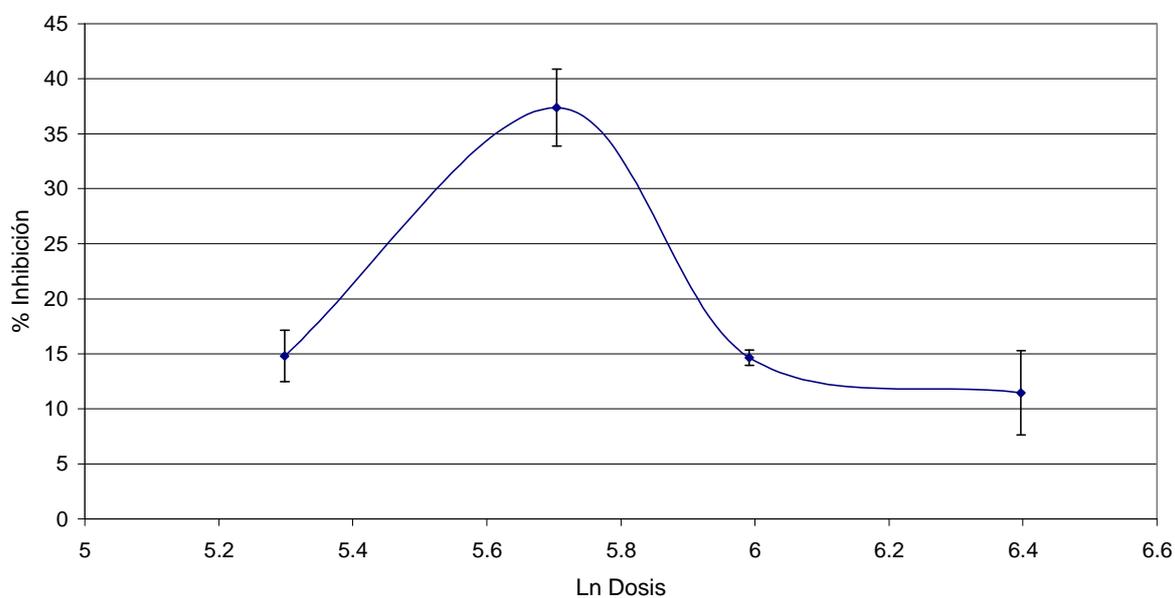
Gráfica 6. Curva dosis-respuesta del extracto de la especie *Punica granatum* L., las barras de error corresponden a la desviación estándar.

Porcentaje de inhibición de la hiperperistalsis presentado por  
*R. coriifolius*, curva dosis-respuesta



Gráfica 7. Curva dosis-respuesta del extracto de la especie *Rubus coriifolius* Focke, las barras de error corresponden a la desviación estándar.

Porcentaje de inhibición de la hiperperistalsis presentado por  
*T. graveolens*, curva dosis-respuesta



Gráfica 8. Curva dosis-respuesta del extracto de la especie *Teloxys graveolens* Willd., las barras de error corresponden a la desviación estándar.

4.3 DETERMINACIÓN DE  $DI_{MAX}$  O  $DE_{50}$  DE EXTRACTOS.

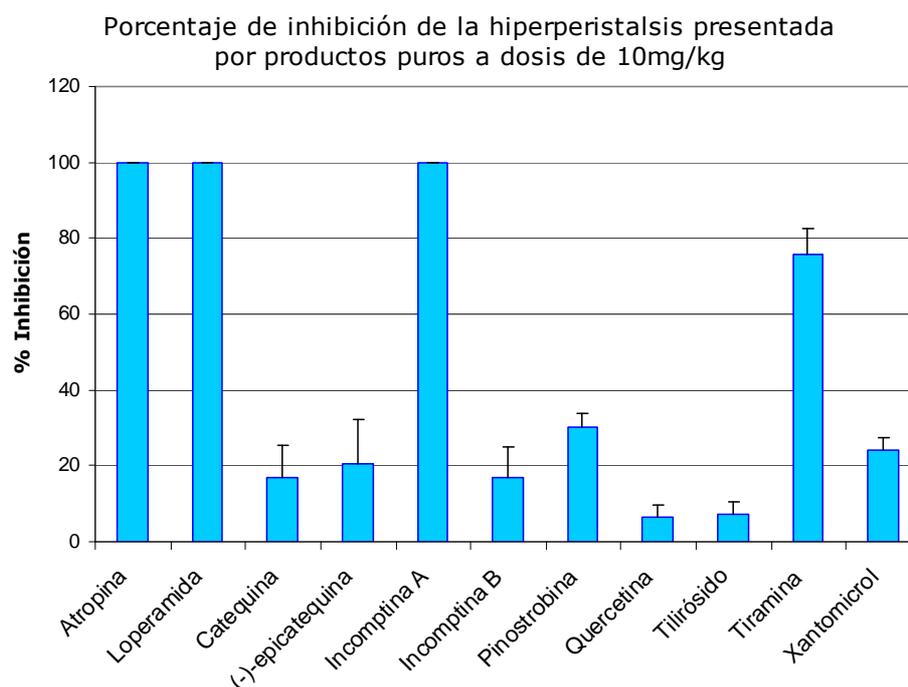
Tabla 5. Dosis Inhibitoria máxima en mg/kg de peso corporal, presentada por los extractos de las ocho especies selectas, con su correspondiente porcentaje de inhibición máxima resultante, +/- la desviación estándar.

Extracto	$DI_{MAX}$ (mg/kg)	% $I_{MAX}$ +/- DE
<i>B. paniculata</i>	400	56.90 +/- 6.88
<i>Ch. pentadactylon</i>	400	42.09 +/- 5.25
<i>G. mexicanum</i>	400	57.91 +/- 2.92
<i>H. glomeratum</i>	300	48.23 +/- 5.37
<i>P. granatum</i>	300	58.08 +/- 10.48
<i>R. coriifolius</i>	300	24.75 +/- 5.52
<i>T. graveolens</i>	300	37.37 +/- 3.50

Tabla 6. Dosis Efectiva 50 en mg/kg de peso corporal, presentada por el extracto *D. incompta*.

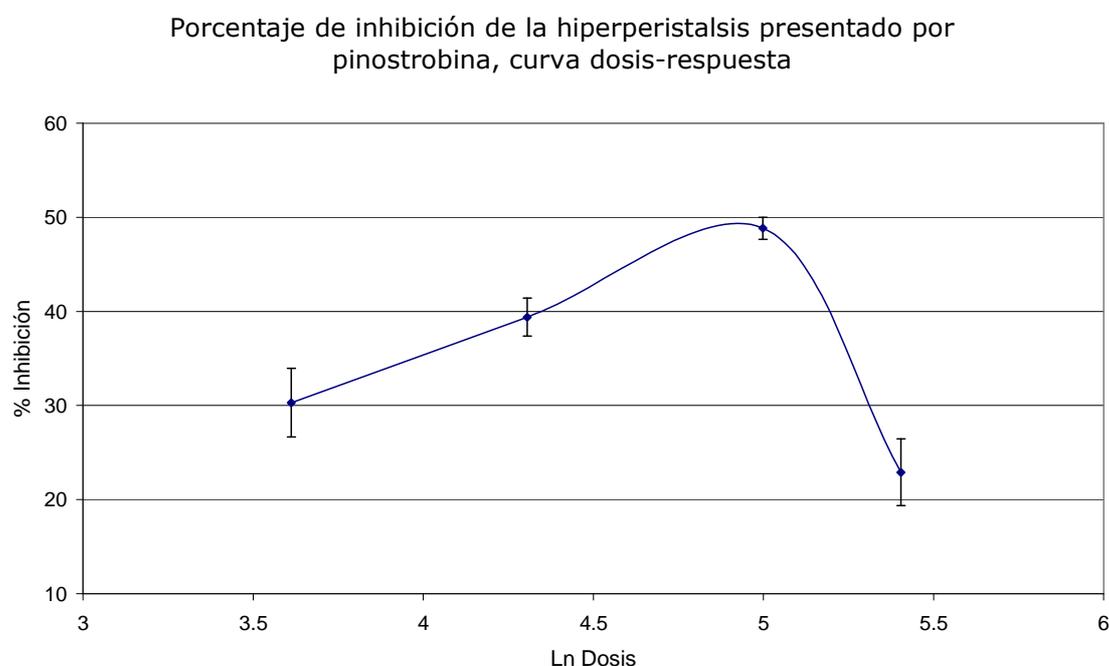
Extracto	$DE_{50}$ (mg/kg)
<i>D. incompta</i>	17.28 (12.1 - 24.5)

#### 4.5 COMPARATIVO PRODUCTOS PUROS.



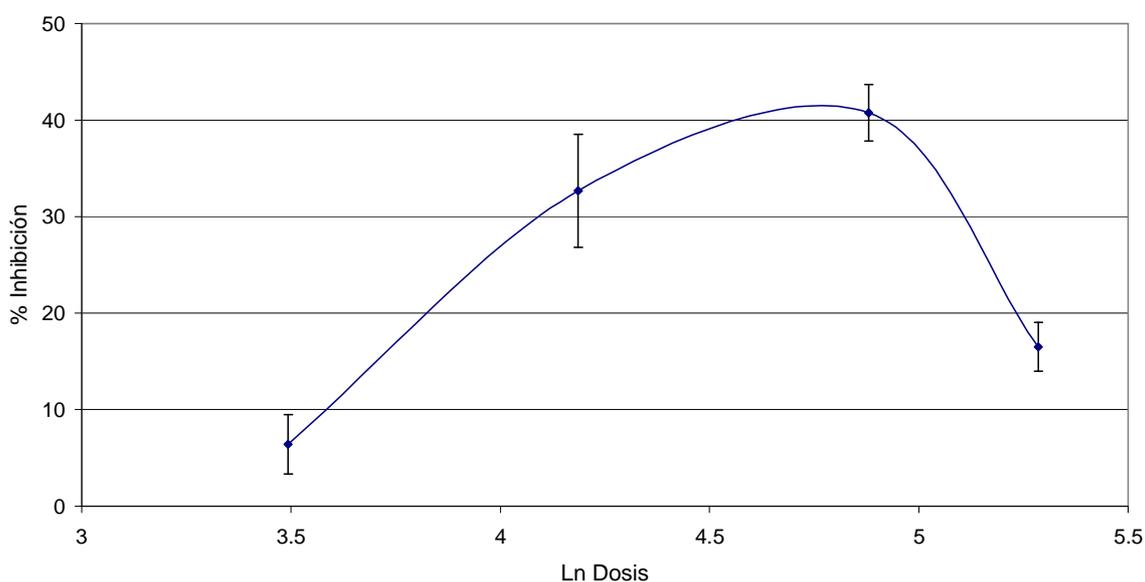
Gráfica 9. Porcentaje de inhibición del hiperperistaltismo, presentado por los nueve compuestos puros evaluados a dosis de 10 mg/kg de peso corporal, las barras de error representan la desviación estándar.

#### 4.6 CURVAS DOSIS-RESPUESTA DE PRODUCTOS PUROS:



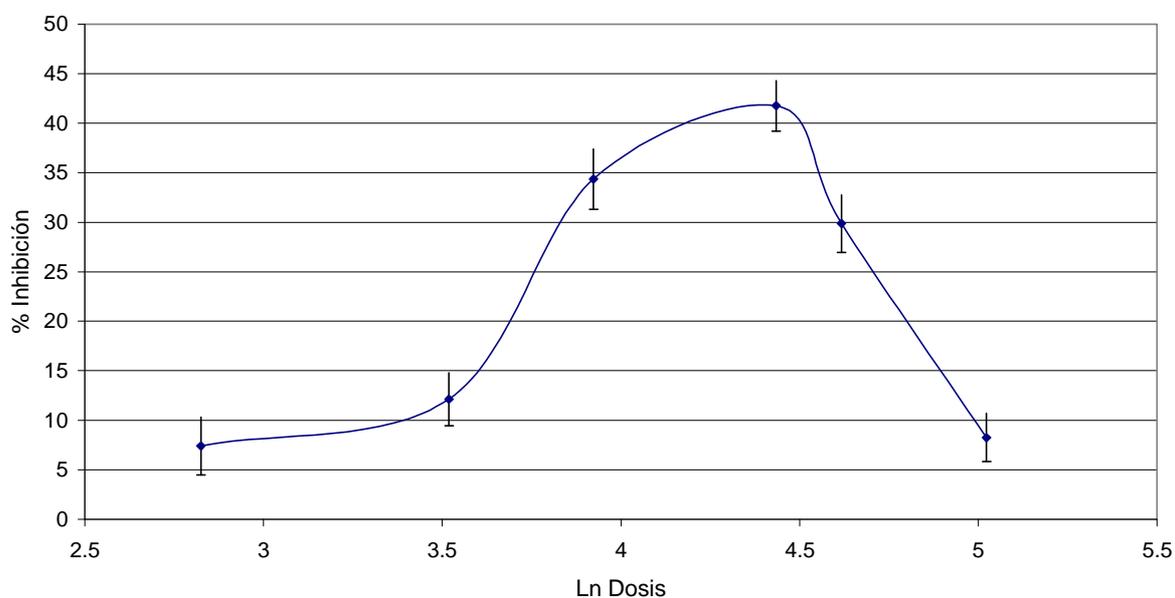
Gráfica 10. Curva dosis-respuesta del compuesto puro Pinostrobina, las barras de error corresponden a la desviación estándar.

Porcentaje de inhibición de la hiperperistalsis presentado por quercetina, curva dosis-respuesta



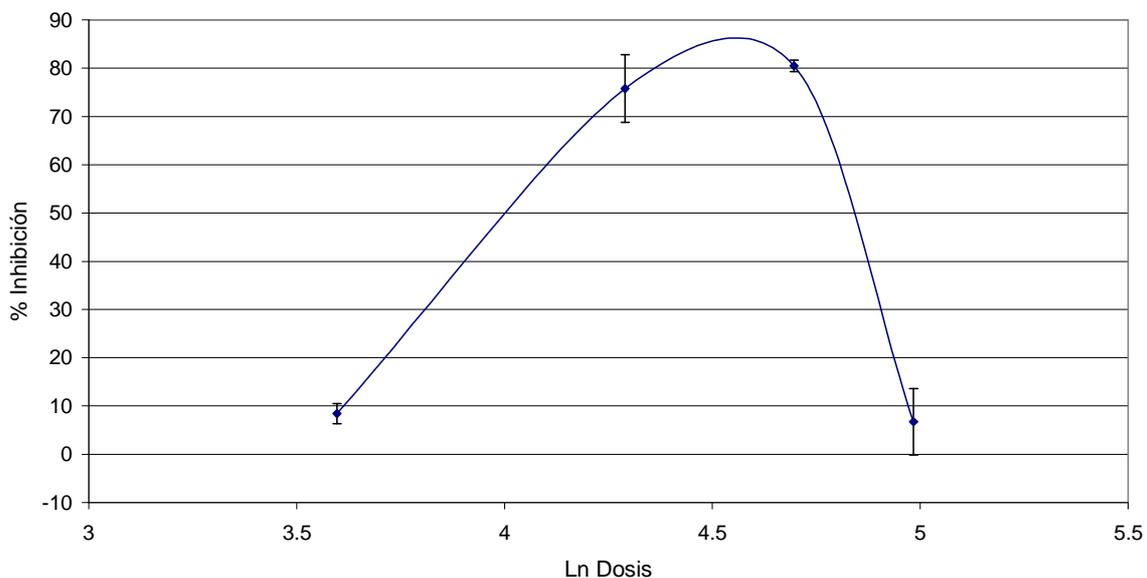
Gráfica 11. Curva dosis-respuesta del compuesto puro Quercetina, las barras de error corresponden a la desviación estándar.

Porcentaje de inhibición de la hiperperistalsis presentado por tilirósido, curva dosis-respuesta



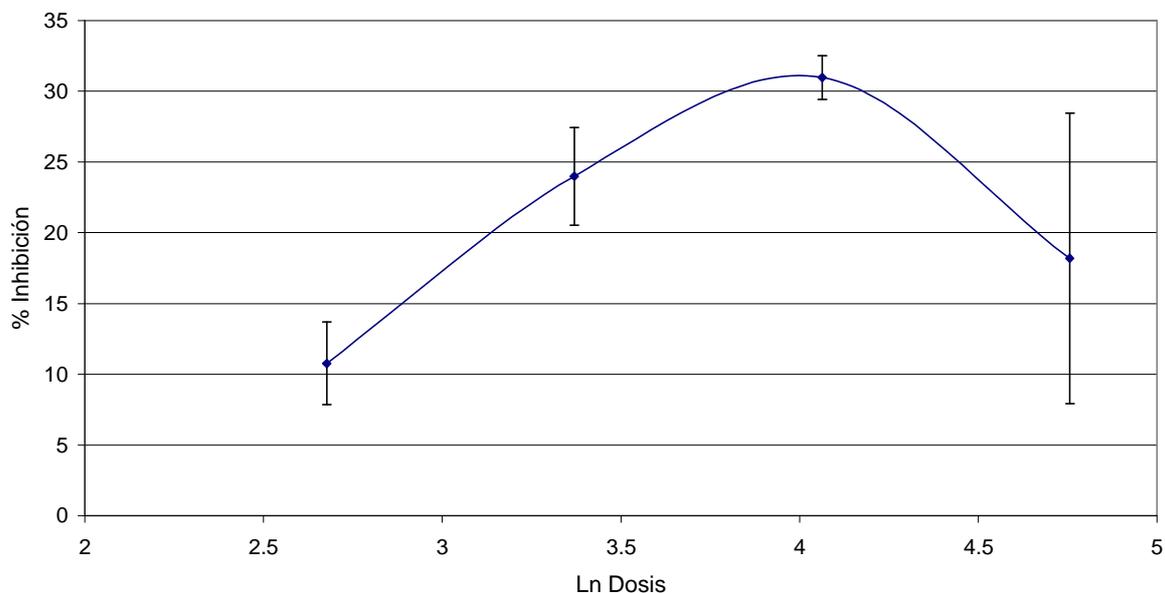
Gráfica 12. Curva dosis-respuesta del compuesto puro Tilirósido, las barras de error corresponden a la desviación estándar.

Porcentaje de inhibición de la hiperperistalsis presentado por tiramina, curva dosis-respuesta



Gráfica 13. Curva dosis-respuesta del compuesto puro Tiramina, las barras de error corresponden a la desviación estándar.

Porcentaje de inhibición de la hiperperistalsis presentado por xantomicrol, curva dosis-respuesta



Gráfica 14. Curva dosis-respuesta del compuesto puro Xantomicrol, las barras de error corresponden a la desviación estándar.

4.7 DETERMINACIÓN DE  $DI_{MAX}$  O  $DE_{50}$  DE COMPUESTOS PUROS.

Tabla 7. Dosis Inhibitoria máxima en  $\mu\text{mol/kg}$  de peso corporal, presentada por los productos puros derivados de las especies selectas, con su correspondiente porcentaje de inhibición máxima resultante, +/- la desviación estándar.

Compuesto	$DI_{MAX}$ ( $\mu\text{mol/kg}$ )	% $I_{MAX}$ +/- DE
Quercetina	131.58	40.74 +/- 2.92
Pinostrobin	148.15	48.74 +/- 2.92
Tilirósido	84.31	41.75 +/- 2.54
Xantomicol	58.14	30.88 +/- 1.54

Tabla 8. Dosis Efectiva 50 en  $\mu\text{mol/kg}$  de peso corporal, presentada por los productos puros derivados de las especies selectas.

Compuesto	$DE_{50}$ ( $\mu\text{mol/kg}$ )
Epicatequina	52 (50.40 - 53.52)
Catequina	228.14 (219.20 - 235.10)
Incomptina A	14.44 (13.46 - 15.33)
Incomptina B	55.76 (55.70 - 56.26)

Control	$DE_{50}$ ( $\mu\text{mol/kg}$ )
Atropina	1.34 (1.18 - 1.49)
Loperamida	4.09 (3.74 - 4.53)

## 5. DISCUSIÓN.

En el análisis comparativo del porcentaje de inhibición obtenido para los extractos (Gráfica 1), se observó que el inhibidor de hiperperistalsis más potente fue el extracto de la especie *D. incompta*, con una inhibición del 100%, seguido por los extractos de las especies *P. granatum*, *H. glomeratum* y *B. paniculata*, los cuales muestran una inhibición moderada de alrededor del 50%. A partir de estos resultados se estableció un rango apropiado de evaluación para observar la ventana terapéutica de cada especie.

Las curvas dosis-respuesta de los extractos de las especies *B. paniculata*, *Ch. pentadactylon*, *G. mexicanum*, *H. glomeratum*, *P. granatum*, *R. coriifolius* y *T. graveolens* muestran un efecto no dependiente de la dosis (sección 4.2), dando como resultado curvas típicas indicativas de hormesis. El fenómeno de hormesis es definido como "estimulación a bajas dosis e inhibición a altas dosis o viceversa", dando como resultado curvas dosis-respuesta en forma de U invertida o J; si bien se ha descrito previamente para varias especies de plantas, animales y agentes inorgánicos, el mecanismo bioquímico mediante el cual funciona no ha sido comprendido en su totalidad (Palacios-Espinosa *et al.*, 2008).

Es debido a la presencia del fenómeno de hormesis, que no es posible determinar una  $DE_{50}$  y en su lugar, se señala la dosis a la que presentan el efecto inhibitorio máximo expuesto en la Tabla 5. Es importante caracterizar este comportamiento, ya que si se evalúan sólo dosis altas, se podría asegurar que los extractos no presentan actividad antidiarréica, siendo errónea la apreciación.

Como se observa en la Tabla 5, el porcentaje inhibitorio de hiperperistalsis de las especies *P. granatum*, *G. mexicanum*, *B. paniculata*, *H. glomeratum*, *Ch. pentadactylon*, resulta alrededor del 50%, y para *T. graveolens* y *R. coriifolius* menor del 40%, lo cual permite proponer que estas especies deben su propiedad antidiarreica a su actividad

antibacteriana, antiprotozoaria y antisecretora, y en parte también a la disminución de la motilidad intestinal.

En el caso de la especie *D. incompta* se obtuvo una curva dosis-respuesta sigmoide, a partir de la cual se logró determinar la DE<sub>50</sub>, mediante una regresión lineal. Siendo el extracto más activo, deberán realizarse pruebas de toxicidad para validar la seguridad de su uso, posterior a lo cual la especie puede ser propuesta para la elaboración de una suspensión o forma farmacéutica sólida como cápsulas para la administración oral del extracto.

En el caso de los productos puros derivados de las especies selectas, se observa que los inhibidores más potentes de la hiperperistalsis fueron la incomptina A y la tiramina en la fase comparativa, sin embargo, al realizar la evaluación en un rango amplio de dosis se observó que los compuestos pinostrobina, quercetina, tilirósido, tiramina y xantomicrol muestran el efecto de hormesis, mientras que el resto de los productos muestran curvas dosis-respuesta sigmoide.

Todos los compuestos puros evaluados mostraron un efecto inhibitor de hiperperistalsis, sin embargo ninguno presentó una DE<sub>50</sub> comparable a los fármacos control atropina y loperamida, lo cual indica que es probable que no actúen por el mismo mecanismo.

Los compuestos más activos resultaron ser las incomptinas A y B, provenientes de la especie *D. incompta*, los cuales presentan una inhibición importante de la hiperperistalsis, el resultado es consistente con la efectividad obtenida para el extracto crudo, es probable que estos compuestos sean los responsables de su actividad inhibitoria de la hiperperistalsis.

El segundo compuesto más activo resultó la (-)-epicatequina, presente en las especies *Ch. pentadactylon*, *G. mexicanum* y *R. coriifolius*, las dos primeras con un porcentaje inhibitorio máximo alrededor del 50% y la tercera de 25%; se ha comprobado que es el responsable de las

actividades antiprotozoarias y antibacterianas de estas especies. El resultado obtenido en el presente estudio indica que también es el responsable del efecto inhibitor de hiperperistalsis. Las diferencias que se aprecian en el comportamiento de los tres extractos pueden deberse a la cantidad de compuesto que está presente en el extracto crudo y a la combinación del resto de compuestos presentes, por ejemplo, el compuesto tilirósido que mostró tener una actividad inhibitoria de hiperperistalsis se encuentra presente en la especie *Ch. pentadactylon*, por otro lado, las especies *G. mexicanum* y *R. coriifolius* contienen también catequina, compuesto que también muestra actividad inhibitoria de hiperperistalsis.

Los compuestos incomptina A, incomptina B y (-)-epicatequina pueden ser propuestos como prototipos para el diseño de nuevos fármacos inhibidores de la hiperperistalsis.

Considerando que los productos puros evaluados mostraron un grado de respuesta en el modelo empleado es probable que parte de su efecto antidiarreico se deba a que actúan a nivel de biosíntesis de prostaglandinas dado el mecanismo por el cual actúa el aceite de ricino, el cual es hidrolizado por las lipasas pancreáticas en glicerol y ácido ricinoléico; el ácido ricinoléico actúa como agente tensoactivo aniónico el cual reduce la absorción neta de líquidos y electrolitos dando como resultado una respuesta hipersecretora; como agente irritante estimula el peristaltismo intestinal, daña la mucosa celular generando una respuesta inflamatoria mediada por la biosíntesis de prostaglandinas (Awouters et al, 1997; Goodman & Gilman, 1996; Vogel & Vogel, 2002).

La quercetina se encuentra presente en los extractos de *P. granatum* y *H. glomeratum*, los cuales, a pesar de la presencia del tilirósido en la especie *H. glomeratum*, muestran un porcentaje de inhibición comparable, esto sugiere que la quercetina se encuentra en concentraciones equiparables en cada especie o que no hay un comportamiento sinergista entre tilirósido y quercetina en *H. glomeratum*.

El compuesto xantomicrol resultó ser el menos eficaz con un porcentaje de inhibición máximo alrededor del 30%, sin embargo la especie *B. paniculata*, de la cual proviene, se encuentra entre los extractos que resultaron moderadamente activos, lo que sugiere la existencia de relaciones sinérgicas entre otros compuestos presentes en la especie.

En el caso del compuesto pinostrobin, mostró un 50% de inhibición, por lo que puede ser el responsable en parte de la actividad inhibitoria de hiperperistalsis de la especie *T. graveolens*.

Los resultados obtenidos contribuyen a la validación de estas especies vegetales como agentes antidiarreicos, además de ser una opción menos costosa y más accesible en zonas rurales y comunidades alejadas de los centros urbanos, debido a la distribución geográfica de estas plantas por todo el territorio mexicano. Pueden ser recomendadas en el tratamiento de la diarrea aguda tomadas en forma de infusión, aportando un triple beneficio al consumidor: en primer lugar la disminución de la hiperperistalsis dando mayor tiempo a la reabsorción de líquidos y un decremento en las deposiciones, en segundo lugar sus propiedades bactericidas, antiprotozoarias y antisecretoras son capaces de controlar la infección, y por último ayuda al decremento de la mortalidad por deshidratación al incluirse como terapia de rehidratación oral.

## 6. CONCLUSIONES.

- Todas las especies selectas evaluadas muestran efectos inhibidores de la hiperperistalsis, lo cual sustenta su uso tradicional como antidiarréico.
- Todos los compuestos puros evaluados muestran efectos inhibidores de la hiperperistalsis, sin embargo ninguno presentó una actividad comparable a los fármacos control empleados como atropina y loperamida.
- Los extractos y compuestos puros evaluados deben su propiedad antidiarréica a su actividad antiprotozoaria, antibacteriana, antisecretora e inhibitoria del hiperperistaltismo.
- La especie *D. incompta* resultó ser la más activa con una DE<sub>50</sub> del 17.28 mg/kg.
- Los compuestos incomptina A, incomptina B y (-)-epicatequina resultaron ser los más activos, pueden ser propuestos como prototipos para nuevos fármacos inhibidores de hiperperistalsis.
- Es recomendable realizar pruebas de toxicidad para avalar el uso seguro de las especies en el tratamiento de diarrea.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Alanís, A.D., Calzada, F., Cedillo-Rivera, R., Meckes, M., 2003. Antiprotozoal activity of the constituents of *Rubus coriifolius*. *Phytotherapy Research*, 17: 681-682.
- Alanís, A.D., Calzada, F., Cervantes, J.A., Torres, J., Ceballos, G.M., 2005. Antibacterial properties of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 153-157.
- Arellano, J., 2004. Evaluación de la actividad antiespasmódica de algunas plantas medicinales mexicanas en ileon aislado de rata. Estudio de *Zanthoxylum liebmannianum* (Colopantle). Tesis de licenciatura. FES Zaragoza. UNAM.
- Ávila, V.O., 2006. Estudio antibacteriano y químico de los productos derivados de las flores de *Chiranthodendron pentadactylon* Larreat (Sterculiaceae). Tesis de licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
- Awouters, F., Niemegeers, C.J.E., Lenaerts, F.M., Janssen, P.A.J., 1997. Delay of castor oil diarrhoea in rats: a new way to evaluate inhibitors of prostaglandin biosynthesis. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 30: 41-45
- Barbosa, E., Calzada, F., Campos, R., 2006. Antigiardial activity of methanolic extracts from *Helianthemum glomeratum* Lag. And *Rubus coriifolius* Focke in suckling mice CD-1. *Journal of Ethnopharmacology*, 108: 395-397.
- Barbosa, E., Calzada, F., Campos, R., 2007. In vivo antigiardial activity of three flavonoids isolated of some medicinal plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of diarrhea. *Journal of Ethnopharmacology*, 109: 552-554.
- Bruneton, J., 2001. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales, 3º edición, edit. Acribia S. A., España. pp.392.

- Calzada, F., Alanis, A.D., 2007. Additional Antiprotozoal Flavonol Glycosides of the Aerial Parts of *Helianthemum glomeratum*. *Phytotherapy Research*, 21: 78-80
- Calzada, F., Cervantes-Martínez, J.A., Yépez-Mulia, L., 2005. In vitro antiprotozoal activity from the roots of *Geranium mexicanum* and its constituents on *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia*. *Journal of Ethnopharmacology*, 98: 191-193.
- Calzada, F., Velázquez, C., Cedillo-Rivera, R., Esquivel, B. 2003. Antiprotozoal Activity of the Constituents of *Teloxys graveolens*. *Phytotherapy Research*, 17: 731-732.
- Calzada, F., Yépez-Mulia, L., Aguilar, A., 2006. In vitro susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, 108: 367-370.
- Calzada, F., Yépez-Mulia, L., Tapia-Contreras, A., 2007a. Effect of Mexican medicinal plant used to treat trichomoniasis on *Trichomonas vaginalis* trophozoites. *Journal of Ethnopharmacology*, 113: 248-251
- Diario Oficial de la Federación, 2001. Norma Oficial Mexicana NOM-031-SSA2-1999, para la Atención a la Salud del Niño. 1ª. sec.:13-58.
- Duraipandiyan, V., Ayyanar, M., Ignacimuthu, S., 2006. Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by Paliyar tribe from Tamil Nadu, India. *Complementary and Alternative Medicine*, 6:35
- Guerrero, C., Taboada, J., Blaz, J.B., Oliva, A., Ortega, A., 1995. Incoptins A & B, two heliangolides from *Decachaeta incompta* preliminary studies on the biological activity of incoptin B. *Revista Latinoamericana de Química*, 23:142-147

- Goodman-Gilman, A., Hardman, J.G., Limbird, L.E., 1996. Goodman & Gilman, Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª edición, edit. McGraw-Hill Interamericana. Vol.1 México, pp981-1002.
- H. Gerhard Vogel, Wolfgang H. Vogel, 2002. Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays., 2ª edición, edit. Springer, Germany, pp 875, 876.
- Hénoch Blaise, N. Y., Dovie, D. B. K., 2007. Diarrheal Diseases in the History of Public Health. *Archives of Medical Research*, 38: 159-163.
- Hernandez, N.E., Tereschuk, M.L., Abdala, R. 2000. Antimicrobial activity of flavonoids in medicinal plants from Tafi del Valle (Tucuman, Argentina). *Journal of Ethnopharmacology*, 109: 177-206.
- Meckes, M., Calzada, F., Paz, D., Rodríguez, J., Ponce-Monter, H., 2002. Inhibitory effect of xantomicol and 3 $\alpha$ -angeloyloxy-2 $\alpha$ -hydroxyl-13,14Z-dehidrocatic acid from *Brickellia paniculata* on the contractility of Guinea-pig ileum. *Plant Medicine*, 68: 467-469
- Meckes, M., David-Rivera, A., Nava-Aguilar V., Jiménez A., 2004. Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw edema. *Phytomedicine*, 11: 446-451
- Meckes, M., Torres, J., Calzada, F., Rivera, J., Camorlinga, M., Lemus, H., Rodríguez, G. 1997. Antibacterial properties of *Hellianthemum glomeratum*, a plant used in maya traditional medicine for treat diarrhoea. *Phytotherapy Research*, 11: 128-131.
- Naz, S., Siddiqui, R., Ahmod, S., Rasool, S.A., Sayeed, S.A., 2007. Antibacterial Activity Directed Isolation of Compounds from *Punica granatum*. *Journal of Food Science*, 72 (9): 341-345.
- OMS, 2000. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine. Ginebra.

- Palacios-Espinosa, F., Dèciga-Campos, M. Mata R., 2008. Antinociceptive, hypoglycemic and spasmolytic effects of *Brickellia veronicifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, 118: 448-454
- Perusquia, M., Mendoza, S., Bye, R., Linares, E., Mata, R., 1995. Vasoactive effects of aqueous extracts from five Mexican medicinal plants on isolated rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology*, 46 (1): 63-69
- Ponce-Monter, H., Perez, S., Zabala, M.A., Perez, C., Meckes, M., Macias, A., Campos, M., 2006. Relaxant Effect of Xanthomicrol and 3 $\alpha$ -angeloyloxy-2 $\alpha$ -hydroxyl-13,14Z-dehidrocaticivic Acid from *Brickellia paniculata* on Rat Uterus. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 29(7): 1501-1503
- Rojas, a., Hernandez, L., Pereda-Miranda, R., Mata, R., 1992. Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 35:275-283
- Romero, R., Herrera, I., 2002. Síndrome Diarreico Infeccioso. México. Pag. 1-6, 23-29, 38-51.
- Sistema Nacional de Información de Salud, Secretaría de Salud.  
<http://sinais.salud.gob.mx/>  
Fecha de consulta: 16 de Enero del 2009.
- Velázquez, C., Calzada, F., Torres, J., González, F., Ceballos, G., 2006. Antisecretory activity of plants used to treat gastrointestinal disorders in Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, 103: 66-70.
- Venkatesan, N., Thiyagarajan, V., Narayanan, S., Arul, A., Raja, S., Vijaya, S.G., Rajarajan, T., Britto J., 2005. Anti-diarrhoeal potencial of asparagus racemosus wild root extracts in laboratory animals. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 8 (1):39-45.