



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

Efecto espasmolítico del extracto acuoso de *Tagetes lucida*
(Pericón) y su posible mecanismo de acción.

TESIS

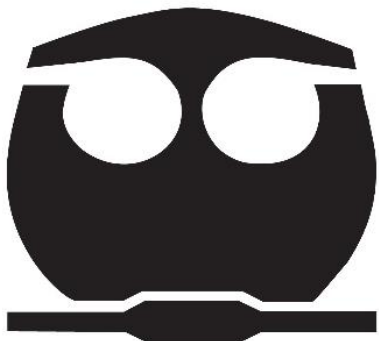
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

KARINA CAMACHO ESCOBAR

CIUDAD DE MÉXICO

2016





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: José Fausto Rivero Cruz

VOCAL: María Eva González Trujano

SECRETARIO: Rosa Ventura Martínez

1er. SUPLENTE: Isabel del Carmen Rivero Cruz

2º SUPLENTE: Mabel Clara Fragoso Serrano

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO 28 DE DESARROLLO DE MEDICAMENTOS DEL DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNAM.

ASESOR DEL TEMA: _____

DRA. ROSA VENTURA MARTÍNEZ

SUSTENTANTE: _____

KARINA CAMACHO ESCOBAR

Investigación realizada gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM.

Clave del proyecto: IN204416

NOMBRE DEL PROYECTO: Estudio de los efectos farmacológicos y/o adversos de algunas plantas medicinales utilizadas en la medicina tradicional y sus interacciones con fármacos conocidos.

AGRADEZCO A LA DGAPA-UNAM LA BECA RECIBIDA

TABLA DE CONTENIDO

ABREVIATURAS.....	1
ÍNDICE DE FIGURAS.....	3
ÍNDICE DE TABLAS.....	4
1. MARCO TEÓRICO	5
1.1. Motilidad gastrointestinal.....	5
1.1.1. Intestino delgado.....	5
1.1.2. Sistema nervioso entérico (SNE)	6
1.1.3. Músculo liso intestinal.....	7
1.1.4. Mecanismo de contracción muscular del músculo liso intestinal.....	7
1.2. Espasmos intestinales.....	9
1.2.1. Tratamiento farmacológico para los espasmos.....	10
1.3. Modelo de íleon aislado de cobayo.....	11
1.4. Plantas medicinales.....	12
1.4.1. Plantas medicinales en México.....	13
1.4.2. <i>Tagetes lucida</i> Cav.....	14
1.4.2.1. Características morfológicas.....	15
1.4.2.2. Distribución.....	15
1.4.2.3. Aspectos históricos de su uso en la medicina tradicional.....	16
1.4.2.4. Análisis fitoquímico.....	18
1.4.2.5. Propiedades biológicas y farmacológicas.....	19
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	20
3. HIPÓTESIS.....	21
4. OBJETIVOS.....	22
4.1. Objetivo general.....	22
4.2. Objetivos particulares.....	22
5. METODOLOGÍA.....	23
5.1. Materia vegetal.....	23
5.1.1. Obtención del extracto.....	23
5.2. Animales.....	23
5.3. Modelo <i>in vitro</i> de íleon aislado de cobayo.....	24
5.3.1. Preparación de soluciones.....	24
5.3.2. Extracción del tejido.....	25
5.4. Determinación del efecto espasmolítico del extracto acuoso de <i>T. lucida</i>	26

5.4.1. Tejido precontraído con KCl (32 mM).....	26
5.4.2. Tejido precontraído con estimulación eléctrica (EE).....	27
5.4.3. La contracción inducida por acetilcolina (ACh).....	28
5.4.4. Evaluación de la integridad del músculo liso de íleon de cobayo a través de la contracción producida BaCl ₂	28
5.5. Determinación del posible mecanismo de acción del efecto espasmolítico del extracto acuoso de <i>T. lucida</i>	28
5.5.1. Posible interacción con canales de calcio voltaje dependientes.....	28
5.5.2. Posible interacción del extracto acuoso de <i>T. lucida</i> con la síntesis del óxido nítrico (ON) y con los receptores a ACh ganglionares.....	29
5.5.3. Posible interacción del extracto acuoso de <i>T. lucida</i> con receptores de serotonina o de histamina.....	30
5.6. Análisis de datos.....	30
6.RESULTADOS.....	32
6.1. Efecto espasmolítico producido por el extracto acuoso de <i>T. lucida</i> en íleon de cobayo precontraído con KCl.....	32
6.2. Efecto espasmolítico producido por el extracto acuoso de <i>T. lucida</i> en íleon de cobayo precontraído con EE.....	33
6.3. Efecto producido por el extracto acuoso de <i>T. lucida</i> en la contracción inducida por ACh en el íleon de cobayo.....	35
6.4. Evaluación de la integridad del músculo liso del íleon de cobayo a través de la contracción producida BaCl ₂	37
6.5. Determinación del mecanismo de acción responsable del efecto espasmolítico de <i>T. lucida</i>	38
6.5.1. Interacción del extracto acuoso de <i>T. lucida</i> con canales de calcio voltaje dependientes.....	38
6.5.2. Interacción del extracto acuoso de <i>T. lucida</i> con la síntesis del óxido nítrico (ON) y con los receptores a ACh ganglionares.....	40
6.5.3. Interacción del extracto acuoso de <i>T. lucida</i> con receptores de serotonina o de histamina en el íleon aislado de cobayo.....	40
7. DISCUSIÓN.....	42
8. CONCLUSIONES.....	48
9. PERSPECTIVAS.....	49
10. REFERENCIAS.....	50
GLOSARIO.....	55

ABREVIATURAS

ABC	• Área bajo la curva
AC	• Adenilato Ciclasa
ACh	• Acetilcolina
AMP	• Adenosín monofosfato
AMPc	• Adenosín monofosfato cíclico
ANDEVA	• Análisis de Varianza
ATP	• Adenosín trifosfato
BaCl ₂	• Cloruro de bario
Ca ²⁺	• Ion Calcio
CaCl ₂	• Cloruro de calcio
CaM	• Calmodulina
CCR	• Curva de concentración respuesta
CE ₅₀	• Concentración efectiva 50
cm	• Centímetros
DG	• Diacilglicerol
EEM	• Error estándar medio
E _{máx}	• Efecto máximo
g	• Gramos
GMPc	• Guanosín Monofosfato Cíclico
Hz	• Hertz
IP ₃	• Inositol Trifosfato
IPAN	• Neurona intrínseca primaria aferente
K ⁺	• Ion Potasio
K-B	• Krebs-Bicarbonato
KCl	• Cloruro de potasio
L-NAME	• Éster metílico de N-nitro-L-arginina
M	• Molar
m	• Metros
min	• Minutos
mL	• Mililitros
MLC	• Cadena ligera de miosina
MLCK	• Cinasa de la cadena ligera de miosina
mM	• Milimolar
ms	• Milisegundos
µg	• Microgramo
µM	• Micromolar

NaCl	• Cloruro de Sodio
ON	• Óxido nítrico
SON	• Óxido nítrico sintasa
PIP ₂	• Fosfatidil inositol 4,5 difosfato
RS	• Retículo sarcoplásmico
SNA	• Sistema Nervioso Autónomo
SNC	• Sistema Nervioso Central
SNE	• Sistema Nervioso Entérico
<i>T. erecta</i>	• <i>Tagetes erecta</i>
<i>T. lucida</i>	• <i>Tagetes lucida</i>
<i>T. minuta</i>	• <i>Tagetes minuta</i>
<i>T. petula</i>	• <i>Tagetes petula</i>
VIP	• Péptido Intestinal Vasoactivo

ÍNDICE DE FIGURAS	Pág.
Figura 1. Integración anatómica intestinal.	6
Figura 2. Conformación anatómica del intestino delgado.	7
Figura 3. Mecanismo de contracción del músculo liso intestinal.	8
Figura 4. Acomodo de los filamentos contráctiles en el músculo liso antes y después de la contracción muscular.	9
Figura 5. Cobayo como especie experimental.	12
Figura 6. Modelo de órgano aislado.	12
Figura 7. Imagen de <i>Tagetes lucida</i> Cav.	15
Figura 8. Morfología de una hoja de <i>Tagetes lucida</i> Cav.	16
Figura 9. Ilustración de <i>Tagetes lucida</i> Cav. del escrito “Historia de las Plantas de la Nueva España”.	17
Figura 10. Stocks preparados para la elaboración de la solución Krebs-bicarbonato.	24
Figura 11. Segmento intestinal extraído y anillos marcados con hilo de algodón.	25
Figura 12. Anillo intestinal suspendido en la cámara de órgano aislado, polígrafo de marca GRASS y registro resultante de la actividad espontánea de los segmentos.	26
Figura 13. Registro representativo del polígrafo donde se muestra la contracción inducida por KCl (32 mM) en el íleon aislado de cobayo y el efecto del extracto acuoso de <i>T. lucida</i> .	32
Figura 14. Curva concentración respuesta del efecto relajante del extracto acuoso de <i>T. lucida</i> .	33
Figura 15. Registro representativo del polígrafo donde se muestra la contracción inducida por EE (14 V, 0.3 Hz y 3 ms) en el íleon aislado de cobayo y el efecto del extracto acuoso de <i>T. lucida</i> .	34
Figura 16. Porcentaje de relajación del extracto acuoso de <i>T. lucida</i> en el íleon aislado de cobayo precontraído con EE (14 V, 0.3 Hz y 3 ms).	34
Figura 17. Registro representativo del polígrafo donde se observa la CCR acumulativa de ACh en presencia del extracto acuoso de <i>T. lucida</i> en el íleon aislado de cobayo.	35
Figura 18. CCR de ACh en tejidos pretratados con el extracto acuoso de <i>T. lucida</i> .	36
Figura 19. Contracción inducida por BaCl ₂ en tejidos expuestos al extracto acuoso de <i>T. lucida</i> en los diferentes protocolos experimentales.	38
Figura 20. CCR del efecto contráctil del cloruro de calcio (CaCl ₂) sobre el íleon de cobayo en ausencia y presencia del extracto acuoso de <i>T. lucida</i> o verapamilo.	39

Figura 21. Efecto espasmolítico del extracto acuoso de *T. lucida* en íleon de cobayo precontraído con KCl 32 mM en ausencia y en presencia de Hexametonio o L-NAME. **40**

Figura 22. Porcentaje de efecto contráctil de Serotonina e Histamina en ausencia y presencia del extracto acuoso de *T. lucida*. **41**

ÍNDICE DE TABLAS **Pág.**

Tabla 1. CE₅₀, E_{máx} y ABC obtenidas de la CCR de ACh en íleon aislado de cobayo en ausencia y en presencia del extracto acuoso de *T. lucida*. **37**

Tabla 2. CE₅₀, E_{máx} y ABC obtenidas de la CCR de Ca²⁺ en íleon aislado de cobayo en ausencia y en presencia del extracto acuoso de *T. lucida*. **39**

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Motilidad gastrointestinal

La motilidad gastrointestinal es la acción fisiológica del aparato digestivo que, a través de la peristalsis, se encarga de desplazar el contenido alimenticio a través de todo el tracto gastrointestinal. El transporte del alimento permite la absorción de nutrientes, la cual se produce básicamente en el intestino delgado (Ajaj y cols., 2004).

La peristalsis involucra una serie de contracciones y relajaciones musculares coordinadas, que transportan los alimentos a las diferentes partes del organismo involucradas en el procesamiento del bolo alimenticio. El proceso de peristalsis comienza en el esófago cuando el bolo alimenticio es tragado. Los movimientos del músculo liso del esófago llevan el alimento hasta el estómago, donde permanece en movimiento hasta convertirse en una mezcla líquida llamada quimo. El quimo se transporta a través del intestino delgado, en donde la mayoría de los nutrientes son absorbidos hacia el torrente sanguíneo a través de las paredes del intestino delgado. El contenido alimenticio que llega al intestino grueso como alimentos no digeridos es separado del agua que entonces es absorbida. Finalmente, los desechos restantes son excretados a través de las heces fecales por el recto (Ajaj y cols., 2004).

1.1.1. Intestino delgado y peristalsis.

El intestino delgado, que es donde se lleva a cabo la absorción de nutrientes, es un tubo que mide entre 7 y 9 m de largo y es la parte del sistema digestivo que conecta al estómago con el intestino grueso. Se divide en tres segmentos: duodeno, yeyuno e íleon, y se caracteriza por la presencia de numerosos pliegues (vellosidades y microvellosidades) que aumentan la superficie de absorción (Figura 1); además de glándulas secretoras (Fuentes y cols., 1998).

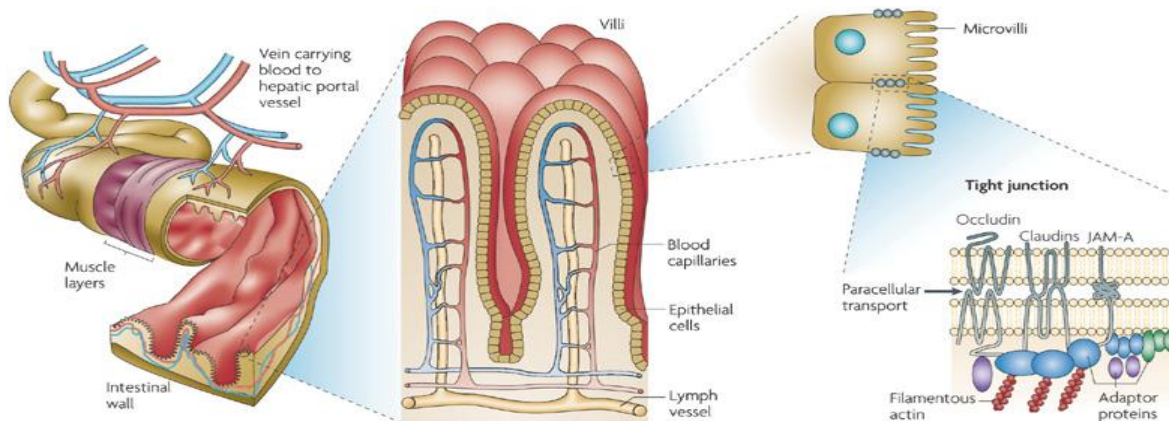


Figura 1. Integración anatómica intestinal.

En el intestino delgado se produce la peristalsis intestinal gracias a la acción de diversos compuestos sobre las capas musculares del músculo liso en donde se integra la actividad de múltiples células, incluidas las neuronas entéricas y células gliales, que forman el circuito intrínseco del Sistema Nervioso Entérico (SNE) (Viswanathan y cols., 2009).

1.1.2. Sistema nervioso entérico (SNE)

El SNE se encuentra constituido por una gran cantidad de células gliales y diversos tipos de neuronas, que se clasifican como neuronas aferentes intrínsecas primarias, neuronas eferentes o motoras e interneuronas; que son las encargadas de detectar, inervar e integrar la información generada por estímulos mecánicos y químicos (Romero-Trujillo y cols., 2012) para enviarla a las capas musculares del intestino e inducir una respuesta mecánica.

El SNE está organizado en 2 plexos ganglionares, el plexo submucoso (o de Meissner) localizado entre la capa del músculo circular y la mucosa; y el plexo mientérico (o de Auerbach), situado entre la capa de músculo longitudinal y el músculo circular. El primero se encarga de la regulación de funciones de digestión y absorción; mientras que el segundo, de la coordinación de la actividad contráctil de las capas musculares (Figura 2) (Hao y cols., 2016).

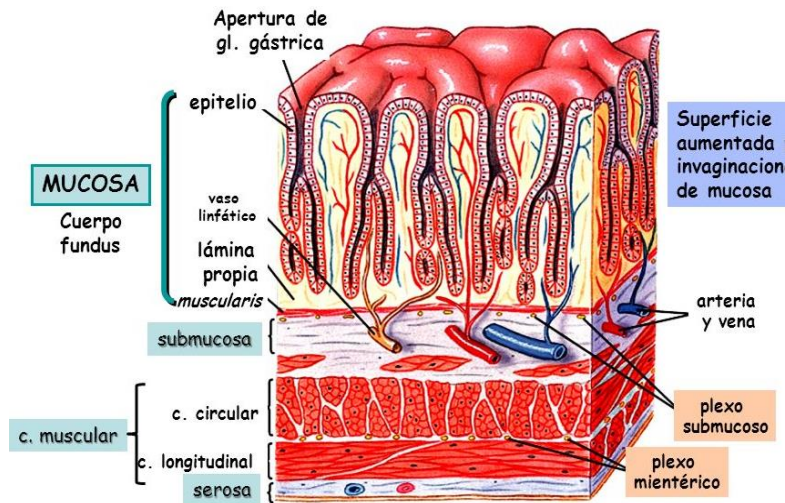


Figura 2. Conformación anatómica del intestino delgado.

1.1.3. Músculo liso intestinal

El músculo liso intestinal es un tejido excitable, cuyas membranas celulares generan gradientes electroquímicos responsables del almacenamiento y liberación de corrientes eléctricas, del flujo de iones, y de la capacidad de relajación y contracción (Sernka y Jacobson, 1982).

Este se compone de láminas de células fusiformes alargadas con finos extremos que forman las fibras musculares. Las células musculares lisas se encuentran interconectadas por uniones de hendidura a las que se les conoce como “*uniones gap*”, que son el medio por el cual se transmite la señal que produce la contracción.

La coordinación de su actividad contráctil (motilidad) se basa en factores químicos y neurológicos, que proveen vínculos de comunicación que regulan la contracción (Bouras y Scolapio, 2004).

1.1.4. Mecanismo de contracción muscular del músculo liso intestinal

La contracción muscular se lleva a cabo por un mecanismo un tanto complejo y difiere en cada tipo de músculo. En el músculo liso solo existen filamentos de actina y miosina, proteínas involucradas en la contracción muscular;

mientras que, en el músculo esquelético también está presente la troponina, lo cual marca algunas diferencias en la cascada de eventos que inducen la contracción. En este trabajo solo describiremos el mecanismo contráctil del músculo liso, porque es el tejido que utilizaremos.

La contracción del músculo liso se produce por un aumento en la concentración de iones de Ca^{2+} en el citoplasma intracelular, consecuente a un impulso eléctrico (como el movimiento peristáltico), una despolarización eléctrica (por liberación de neurotransmisores del SNE), o por estímulos químicos (como las producidas por angiotensina II, vasopresina o el tromboxano A_2 , que actúan sobre receptores de membrana) (Pawlina y Ross, 2008). El Ca^{2+} se une a una proteína llamada calmodulina (CaM) a través de una reacción que requiere la liberación de un fosfato inorgánico que contiene en su estructura. El complejo Ca^{2+} -CaM interacciona con la cinasa de la cadena ligera de miosina; enzima encargada de fosforilar a la miosina para activarla (MLCK, por sus siglas en inglés). Una unidad de la cadena ligera de miosina (MLC, por sus siglas en inglés), en su estado activado, se une con la cadena de actina de manera momentánea. Este proceso se vuelve repetitivo haciendo que ambos filamentos (actina y miosina) avancen produciendo la contracción muscular (Figura 3).

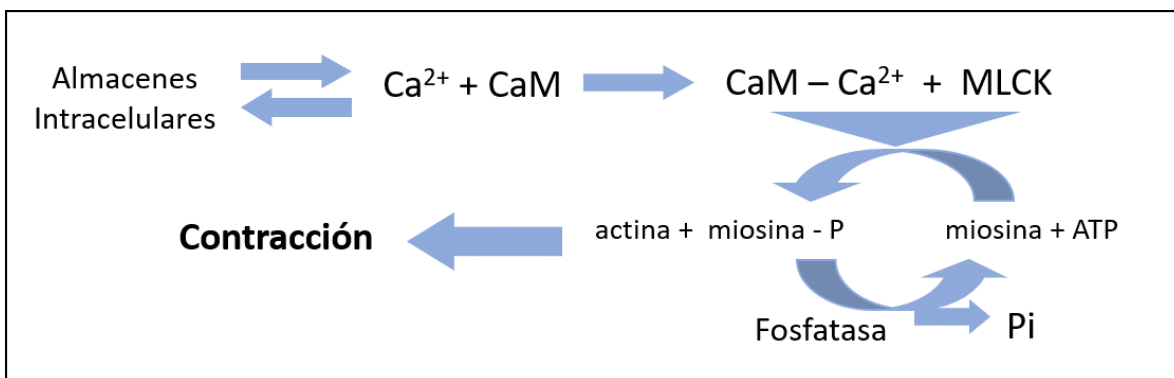


Figura 3. Mecanismo de contracción del músculo liso intestinal.

Cuando la concentración intracelular de Ca^{2+} disminuye, se inhibe el proceso de contracción. En este proceso, la fosforilación de la MLC se detiene a través de una enzima llamada miosina fosfatasa, que se encuentra en el citosol de la célula y

promueve la liberación del fosfato que está unido a la MLC, haciendo que regrese a su estado basal, finalizando la contracción (Figura 4) (Guyton y Hall, 2006).

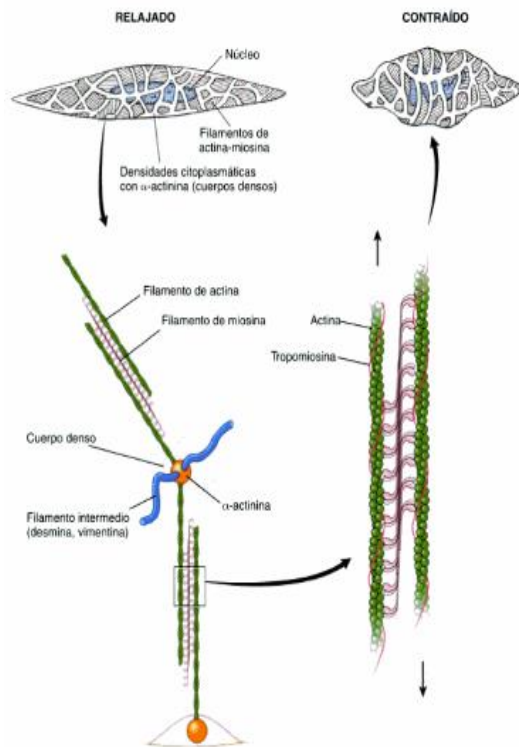


Figura 4. Acomodo de los filamentos contráctiles en el músculo liso antes y después de la contracción muscular

1.2. Espasmos intestinales

De manera natural, existe un equilibrio entre la respuesta contráctil y relajante del músculo liso intestinal para llevar a cabo las funciones del intestino; sin embargo, cuando se pierde este equilibrio y la intensidad, duración y/o frecuencia de las contracciones se incrementan, se produce un espasmo. Bajo estas circunstancias, los espasmos pueden provocar diversos trastornos clínicos que se manifiestan con dolor abdominal, diarrea y/o estreñimiento (Chaitow y Walter, 2006).

Varias condiciones clínicas se caracterizan por inducir espasmos intestinales, como el síndrome del intestino irritable y la dispepsia funcional (Ajaj y cols., 2004). Sin duda, los espasmos intestinales y los trastornos gastrointestinales que provocan estas patologías son un síntoma de alerta del organismo que indica que algo no está bien. En este sentido se tiene que acudir al médico para determinar con precisión la patología que induce los espasmos e indique el tratamiento adecuado,

al mismo tiempo que tratan los síntomas clínicos como el dolor intestinal con espasmolíticos.

1.2.1 Tratamiento farmacológico para los espasmos

Los antiespasmódicos o espasmolíticos, son un grupo de fármacos que disminuyen la intensidad, frecuencia y/o duración de los espasmos musculares que provocan dolor en diversas patologías que involucran al sistema gastrointestinal.

Estos se clasifican en varios grupos de acuerdo a su mecanismo de acción:

- **Agentes relajantes directos del músculo liso** (en donde se encuentra la mebeverina y agentes derivados de la papaverina), estos actúan sobre las miofibrillas del músculo liso del aparato digestivo bloqueando canales (ya sea de Ca^{2+} , K^+ o Na^+) y/o inhiben vías (como la fosfodiesterasa) sin la intervención del SNA, reducen el tono y el peristaltismo, y alivian los espasmos sin afectar de forma sustancial a la motilidad gastrointestinal.
- **Anticolinérgicos** (como butilhioscina, hioscina, levocina, entre otros), que atenúan los espasmos por bloqueo competitivo de receptores muscarínicos, y tienen el potencial de reducir el dolor abdominal.
- **Agentes bloqueadores de canales de calcio** (como bromuro de pinaverio, alverina, pirenzepina, etc.), que relajan el intestino al prevenir la entrada de Ca^{2+} en las células del músculo liso intestinal (Hani, 2014).

El más utilizado a nivel clínico es la BUTILHIOSCINA.

Otra alternativa para el tratamiento de los espasmos intestinales es el uso de las plantas medicinales. En la medicina tradicional mexicana se cuenta con diversas plantas que se utilizan como antiespasmódicos y de las cuales ya se cuenta con evidencia científica que sustenta su uso. El grupo de investigación del laboratorio de Desarrollo de medicamentos del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UNAM ha demostrado el efecto espasmolítico de diversas plantas mexicanas, entre ellas encontramos al extracto acuoso de la *Tagetes erecta* (Córdova, 2015), el extracto metanólico de la *Agastache mexicana* ssp.

xolocotziana, (Ramírez, 2014), y los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* L. (Ventura-Martínez y cols., 2011) y de *Annona diversifolia* (Jiménez, 2015), todos éstos estudios han sido realizados utilizando el modelo de íleon aislado de cobayo.

1.3. Modelo de íleon aislado de cobayo

El cobayo es una especie denominada como “no roedora” (Figura 5) y su íleon se emplea frecuentemente para la evaluación de la actividad contráctil o relajante del músculo liso intestinal. Este modelo se utiliza como referencia ya que posee una gran similitud con los seres humanos en cuanto a fisiología de la contracción intestinal (Eddinger y cols., 2016). Es considerado uno de los más importantes métodos *in vitro* que se utilizan en estudios farmacológicos para evaluar actividad contráctil, relajante y/o la elucidación de posibles mecanismos de acción responsables de estos efectos. Su utilidad se basa en que es una preparación simple y fácil de manejar que conduce a resultados reproducibles (Ramírez y cols., 2007).

En este modelo se pueden inducir las contracciones musculares a través de la estimulación química con diversos compuestos como cloruro de potasio (KCl), acetilcolina (ACh), angiotensina, ácido araquidónico, bradicinina, histamina, prostaglandina E, serotonina y sustancia P; y/o por estimulación eléctrica, ya que induce la liberación de diversos neurotransmisores desde las neuronas mientéricas. Este modelo es usado para la evaluación de actividad espasmolítica y/o espasmogénica de diversos compuestos o extractos derivados de plantas medicinales (Samuelsson, 1991) y se compone de cámaras de órgano aislado, para colocar los tejidos; un polígrafo, que registra las contracciones; y un Software, que captura las contracciones del tejido (Figura 6).



Figura 5. Cobayo como especie experimental.



Figura 6. Modelo de órgano aislado [Utilizado en el laboratorio de Desarrollo de Medicamentos, Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina. UNAM].

1.4. Plantas medicinales

Algunas especies de plantas han sido utilizadas desde el comienzo de la humanidad por su efecto terapéutico, y su conocimiento ha sido transferido de generación en generación, por esta razón se han vuelto la base para el tratamiento de diversas afecciones y en el mantenimiento de la salud en varios países del mundo (Marques y cols., 2015).

En países desarrollados se ha registrado el aumento de su uso, un ejemplo de esto es visto en Europa, donde se calcula alrededor de 100 millones de usuarios y se estima que son muchos más en el resto de los continentes (Serrano y cols., 2003). El uso popular de las plantas medicinales, en la mayoría de los casos, está

relacionado con aspectos culturales y conocimientos empíricos más que con su efectividad; esto aunado al costo elevado de los medicamentos alopáticos, la carencia de servicios médicos en ciertas zonas del mundo, así como la atención farmacéutica, y la tendencia generalizada a creer que los productos naturales son opciones seguras y saludables (Palma y cols., 2015); favorecen su uso.

Lo anterior no es necesariamente cierto para todas las plantas, y mucho menos cuando se combinan con tratamientos alopáticos. Los efectos adversos pueden ser producto de su uso irracional, así como al desconocimiento de su información en materia de seguridad y eficacia. Por eso, la Organización Mundial de la Salud recomienda usar remedios herbolarios, pero respaldándolos con información confiable que garantice su seguridad y eficacia (Serrano y cols., 2003; Palma y cols., 2015). Además, las plantas medicinales tienen una enorme importancia en la investigación farmacológica y el desarrollo de medicamentos, no solo por los metabolitos con actividad terapéutica que integran su composición química, sino porque estos también son la base de la síntesis de nuevos fármacos (López y Cañellas, 2012). Una sola planta puede contener varios metabolitos con actividad terapéutica, lo que nos indica la complejidad y riqueza bioquímica que existe en ellas (Ocegueda y cols., 2005).

1.4.1. Plantas medicinales en México

En México, se tiene conocimiento de la medicina tradicional desde tiempos prehispánicos debido a nuestra diversidad cultural y étnica (Villarreal-Ibarra y cols., 2015), los jardines eran muy importantes debido a que se reconocía el valor de cada planta (Quintero-Romanillo y cols., 2014).

En nuestro país existen aproximadamente 4,000 especies de plantas a las que se les atribuyen propiedades curativas, esto equivale al 15% de la flora total del país; y de éstas, solo el 5% tiene por lo menos una actividad terapéutica comprobada por estudios científicos de algunos de sus principios activos (Ocegueda y cols., 2005).

Entre los usos en la medicina tradicional que se estudian de algunas plantas mexicanas por diversos grupos de investigación, se encuentra su uso como

espasmolíticos. Uno de los géneros utilizados en la medicina tradicional para éste propósito es la *Tagetes*, que se encuentra clasificada dentro de la familia Asteraceae, a la cual pertenecen 36 especies de las cuales *T. erecta*, *T. petula* y *T. minuta* son de las especies más usadas por sus propiedades analgésicas, antisépticas y diuréticas, entre otras (Singh y cols., 2016). Recientemente, en nuestro laboratorio se determinó con el extracto acuoso de la *T. erecta* que posee actividad espasmolítica (Córdova, 2015); sin embargo, no tenemos evidencia que indique que la *T. lucida*, otra especie de este género, produce el mismo efecto farmacológico.

1.4.2. *Tagetes lucida* Cav.

La *Tagetes lucida*, comúnmente conocida como “pericón”; pertenece a la familia Asteraceae y se cultiva como planta ornamental y como especia para preservar la carne o darle sabor a los elotes durante el cocimiento (Figura 7). Se ha utilizado en la medicina tradicional en el alivio de trastornos digestivos (dolores de estómago), diarrea, disentería, empacho, tifoidea y vómito. Otros nombre con los que se le puede identificar son: santamaria, anisillo, atagote, cedrón, flor de xuchitl, hierbanís, hierba anís, hierba de nubes, hierba santa, Santa María de jardín, tatalencho, jericón, pericón vomol, curchucumín, falso hipericón, flor de Santa María, hierba añil, periquillo, yerbanís y amarillo espiritado (Jiménez, 2013).



Figura 7. Imagen de *Tagetes lucida* Cav. Tomada de: Biblioteca Digital de la Medicina tradicional mexicana: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?!=3&t=pericón&id=80>

02

1.4.2.1. Características morfológicas.

La *T. lucida* es una planta herbácea perenne de 30 cm a 1 m de altura, muy ramificada de tipo aromática (tiene un fuerte olor anisado al estrujarse) (García-Sánchez y cols., 2012). Sus tallos son erectos, las hojas son opuestas simples, sésiles, de base connada, lanceoladas, agudas o atenuadas en el ápice, el margen es finamente serrulado con numerosas glándulas. Las flores son liguladas en número de 3 a 4, las lígulas son de color amarillo intenso, brillante. Las flores del disco se disponen en número de 5 a 8, las corolas son amarillas y estrechamente tubulares, infundibuliformes y glabras. Los estambres son exertos y sus ramas estilares son de 1.5 a 2.0 mm de largo. Las flores liguladas y las tubulosas tienen papus. Los aquenios son de 5.0 a 6.0 mm de largo (Figura 8) (Martínez y cols., 2013).

1.4.2.2. Distribución

La *T. lucida* es originaria de México, Guatemala y Honduras (Olvera, 2007). Crece de manera silvestre en lugares con clima templado húmedo a subtropical

templado muy húmedo con lluvias en verano, a un rango de altitud de entre 1000 y 2600 metros sobre el nivel del mar, a una temperatura promedio de 15 y 20°C; en suelos franco, franco arenosos con suficiente materia orgánica y de textura arcillosa (Acosta y cols., 2010).

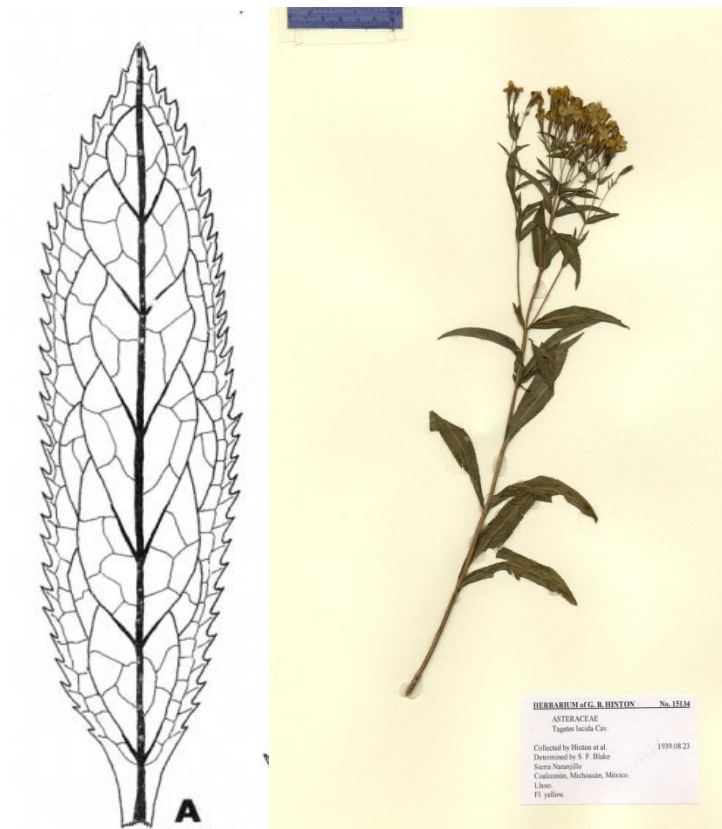


Figura 8. Morfología de una hoja de *Tagetes lucida* Cav.

Es común encontrarla en terrenos de cultivo abandonado o cerca de milpas; y, en ocasiones ocupa las partes altas de las laderas y montañas en bosques de encino, pino, mixto y de junípero (Olvera, 2007).

1.4.2.3. Aspectos históricos de su uso en la medicina tradicional

En el Códice Florentino se menciona que esta planta sobresale por su característico olor a anís (Broda y Ramírez, 2004) y se utilizaba en rituales religiosos especialmente en ofrendas a deidades de la lluvia en la fiesta de Atlacahualo (Ortiz, 1980). Se menciona que era utilizada por los indígenas Náhuatl y Huicholes para

“embrutecer” los sentidos de las víctimas de sus sacrificios humanos y como un psicotrópico cuando se fumaba mezclado con *Nicotina rústica* (Tabora y cols., 1984). En el escrito “*Historia de las Plantas de Nueva España*”, se menciona a esta planta con el nombre de Yauhtli (Flor de ofrenda) o hierba de las nubes (Figura 9), ya que sus flores están agrupadas en el extremo superior de la planta (Hernández, 1943).



Figura 9. Ilustración de *Tagetes lucida* Cav. del escrito “*Historia de las Plantas de la Nueva España*”.

En este escrito se mencionan algunos usos medicinales que se le atribuyen al administrarse en diferentes formas de preparación, un fragmento se muestra a continuación:

“Cura las úlceras, evacua la orina, estimula las reglas, provoca el aborto, y atrae los fetos muertos, es favorable al pecho, alivia la tos, quita la flatulencia, estriñe el vientre demasiado suelto, corrige el mal aliento, aumenta la leche, combate los venenos, estimula el apetito venéreo, quita el dolor de cabeza, alivia a los dementes y a los espantados y atontados por el rayo, contiene el flujo de sangre, apaga la sed de los hidrópicos, aleja los fríos de las fiebres, repara las venas rotas, alivia el flujo excesivo de la nariz, sana los oídos enfermos, resuelve los tumores, calienta el estómago y cura el empacho. Arroja las piedrecillas de los riñones y de la vejiga, adelgaza los humores, contiene el vómito, cría pus, sana las úlceras, aprovecha al

útero, destierra las chinches, quita las jaquecas, sana el salpullido y las erupciones" (Hernández, 1943).

A inicios del siglo XVIII, Juan de Esteyneffer usa *T. lucida* en cocimiento para almorranas y para la detención de la orina, mal de madre y otros malestares (Esteyneffer, 1978). En el siglo XX, Maximino Martínez la describe con propiedades antidisentéricas, antiespasmódicas, antipalúdicas, para tratamiento de caquexia y gastroenteritis; también como carminativo, diaforético, diurético, emético y relajante (Martínez, 1969). Por último, la Sociedad Farmacéutica de México la considera una planta con propiedades antipalúdicas, antiparasitarias y como emenagogo (SSAFNEUM, 1952).

1.4.2.4. Análisis fitoquímico

En la literatura se encuentran diversos estudios sobre la identificación de la composición química de los extractos de *T. lucida*. De esta manera, se establece que los metabolitos varían dependiendo del extracto evaluado, ya que se obtienen con diferentes solventes en función de su polaridad.

En el análisis del extracto metanólico de las partes aéreas de la planta, Castañeda y cols. (2013) identificaron algunos fenilpropanoides (ácido protocatecuico y clorogénico); y algunos flavonoides (apigenina y quercetina). Céspedes y cols. (2006) aisló diversas cumarinas como: umbeliferona, escoparona, esculetina, herniarina, escopoletina, 6-hidroxi-7-metoxicumarina y 7,8-dihidrocumarina; así como algunos flavonoides como patuletina, quercetagetina y quercetina. Otro reporte de Bonilla-Jaime y cols. (2015) determinó la presencia de quercetina.

El análisis del extracto n-butanólico, otro extracto con carácter polar, también se han encontrado derivados de quercetina, fenilpropanoides y un derivado de cumarina, la 7-metoxicumarina (Aquino y cols., 2002).

Con relación al análisis de un extracto no polar (hexano: acetato de etilo, 80:20) se encontraron 2 derivados de cumarinas (Mejía-Barajas y cols., 2011), y en del aceite esencial se identificaron hidrocarburos, así como algunos terpenos (estragol,

linalol, clavicol y eugenol, entre otros) (Smith y cols., 2014; Regalado y cols., 2011; Muñoz-Acevedo y cols., 2009).

1.4.2.5. Propiedades biológicas y farmacológicas

En la actualidad, varios investigadores se han enfocado en estudiar, a través de experimentos controlados, las actividades farmacológicas de la *T. lucida*. De esta manera, se reportó que el extracto metanólico tiene actividad antioxidante (Aquino y cols., 2002; Muñoz-Acevedo y cols., 2009), nematocida (Elsayed y cols., 2015) y larvicida (Smith y cols., 2014); el extracto etanólico/metanólico tiene actividad antibiótica sobre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *pyogenes* (Cáceres y cols., 1991; Damian-Badillo y cols., 2008; Elsayed y cols., 2015); y el extracto de acetato de etilo, contra *Shigella boydii*, *Staphylococcus aureus* y *epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea* y cepas de *Vibrio cholerae* (Hernández y cols., 2006; Regalado y Fernández, 2011). También, el extracto etanólico/acuoso de las hojas (Mejia-Barajas y cols., 2011) y el aceite esencial tienen propiedades antifúngicas contra *Candida albicans* (Cáceres y cols., 1991; Elsayed y cols., 2015), *Trichophyton Mentagrophytes* y *Rhizoctonia solani* (Cespedes y cols., 2006).

Con relación al extracto acuoso, que es el que se utilizará en este estudio, se ha demostrado que produce hipotensión ortostática (Cambar cols., 1984); se utiliza como plaguicida natural (Villavicencio-Nieto y Pérez-Escandón, 2010), y se ha reportado su posible efecto toxico en testículo y esperma de rata (García y cols., 2015). También ha mostrado actividad sobre el SNC, produciendo efectos antidepressivos, ansiolíticos y sedantes (Bonilla-Jaime y cols., 2015; Pérez-Ortega y cols., 2016); sin embargo, no ha sido explorado a detalle su efecto sobre los trastornos gastrointestinales, que es uno de sus usos en la medicina tradicional mexicana (Pérez-Ortega y cols., 2016), sólo existe un reporte que muestra su efecto relajante sobre el músculo liso de útero de rata (Jayme y cols., 1998).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Tagetes lucida Cav. o Pericón es una planta de uso medicinal que es utilizada desde tiempos ancestrales con diferentes fines, uno de ellos es en el alivio de trastornos gastrointestinales. Entre estos trastornos se pueden encontrar los espasmos del músculo liso intestinal, que suelen venir acompañados por dolor. Por esta razón, se han buscado opciones terapéuticas que reduzcan o eliminen los espasmos intestinales, produciendo un efecto espasmolítico o antiespasmódico.

En 1998, Jayme y cols. reportaron que tanto el extracto clorofórmico como el acuoso de *T. lucida* producían un efecto de inhibición de la contracción en músculo liso en útero de rata, con una CI_{50} de 37 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y de 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente. En este trabajo se estudiaron los extractos de las hojas de *T. lucida* en músculo liso de íleon de cobayo. Es bien conocido que la proporción de metabolitos presentes en las plantas varían de acuerdo a la parte de la planta que se encuentre bajo estudio debido a las condiciones climáticas, de luz, de humedad, etc; de manera que, las raíces se encuentran sometidas al medio que le confiere el suelo en el que se encuentre, las hojas dependen de la cantidad de luz y agua que llegue a ellas, etc. De lo anterior, la respuesta que produzcan los extractos dependerá del tejido que se encuentra bajo estudio, ya que el perfil de actividad espontánea de cada tejido es diferente dependiendo del tipo de fibra muscular.

Con relación a la medicina tradicional, en la cual se utilizan las plantas medicinales como remedios herbolarios, muchas veces se hace a través de un conocimiento empírico aprendido de generación en generación. En este sentido, es cada vez más frecuente que organizaciones como la Organización Mundial de la Salud, recomienden que las plantas utilizadas en la medicina tradicional, cuenten con estudios científicos y controlados que den un sustento sobre su eficacia y seguridad. Es por estos antecedentes que en el presente estudio evaluaremos la actividad espasmolítica de la *T. lucida*.

3. HIPÓTESIS

El extracto acuoso de la *Tagetes lucida* producirá efecto espasmolítico en el íleon aislado de cobayo precontraído con diferentes espasmógenos y, por su contenido en quercetina, el mecanismo de acción involucrará, al menos en parte, la inhibición de canales de calcio voltaje dependientes.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Determinar el efecto espasmolítico del extracto acuoso de las inflorescencias de *Tagetes lucida* Cav. (“Pericón”) en un modelo de íleon aislado de cobayo y su posible mecanismo de acción.

4.2 Objetivos particulares

- Evaluar el efecto espasmolítico del extracto acuoso de *Tagetes lucida* Cav. en tejido precontraído con KCl en un modelo de íleon aislado de cobayo.
- Evaluar el efecto espasmolítico del extracto acuoso de *Tagetes lucida* Cav. en el tejido precontraído con estimulación eléctrica en el modelo de íleon aislado de cobayo.
- Evaluar el efecto espasmolítico del extracto acuoso de *Tagetes lucida* Cav. en presencia de ACh en el modelo de íleon aislado de cobayo.
- Determinar el posible mecanismo de acción del efecto espasmolítico del extracto acuoso de *Tagetes lucida* Cav. utilizando diversos bloqueadores ó antagonistas específicos.

5. METODOLOGÍA

Este trabajo forma parte de un proyecto aprobado por las Comisiones de investigación y ética de la Facultad de Medicina de la UNAM con el número de proyecto: 012-2015.

5.1 Materia vegetal

Las inflorescencias de la planta fueron colectadas en septiembre del 2011 en Amatlán de Quetzalcóatl, municipio de Tepoztlán, en el estado de Morelos; con coordenadas: 18° 58'16.32" N; 99°3'1.74" W, a una altitud de 1620 m sobre el nivel del mar. Una muestra del espécimen fue conservado en el herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social con voucher IMSSM No-15878 donde fue identificada por la M. en C. Abigail Aguilar Contreras.

5.1.1 Obtención del extracto

El extracto acuoso de *T. lucida* fue proporcionado por la Dra. María Eva González Trujano del Laboratorio de Neurofarmacología de Productos Naturales del Instituto Nacional de Psiquiatría, donde se obtuvo bajo el siguiente procedimiento:

Las inflorescencias secas de la planta, se trituraron y se pesaron 218.80 g, se sumergieron en un litro de agua en ebullición y se retiró de la fuente de calor manteniéndolas tapadas durante 15 min. Posteriormente se filtró y el líquido resultante se liofilizó en un equipo Labconco durante 12 horas. Del extracto acuoso se obtuvieron 8.94 g, correspondiente a un rendimiento de 4.08%, donde la muestra resultante era un polvo café con olor anisado, que al disolverse coloreaba el líquido de color amarillo-naranja (Pérez-Ortega y cols., 2016).

5.2 Animales

Para la evaluación del efecto espasmolítico se utilizaron cobayos machos híbridos de color de entre 300 y 400 g de peso corporal obtenidos del bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM. Los animales se mantuvieron en un cuarto de experimentación del Departamento de Farmacología a una temperatura controlada de 21±2°C y bajo un ciclo de 12 horas luz/oscuridad. Veinticuatro horas antes del

procedimiento experimental, se les retiró el alimento a los animales y se mantuvieron con agua *ad libitum*.

5.3 Modelo *in vitro* de íleon aislado de cobayo.

5.3.1 Preparación de soluciones.

Una solución de Krebs-bicarbonato se preparó para mantener al tejido en las condiciones fisiológicas en las cámaras de órgano aislado, con las siguientes concentraciones de sales: 118 mM de cloruro de sodio (NaCl), 4.7 mM de cloruro de potasio (KCl), 2.5 mM de cloruro de calcio (CaCl_2), 1.2 mM de cloruro de magnesio (MgCl_2), 1.2 mM de fosfato de sodio (NaHPO_4), 25 mM de bicarbonato de sodio (NaHCO_3), 11 mM de glucosa y 0.3 mM de colina (Figura 10); la cual se mantuvo a 37°C, con la ayuda de un recirculador de agua, con burbujeo constante de una mezcla de O_2 y CO_2 (95% y 5%).

Las concentraciones de ACh [1×10^{-9} a 1×10^{-5} M], KCl [32 mM], BaCl_2 [10 mM] y todos los demás compuestos utilizados en este estudio, así como las del extracto acuoso de *T. lucida* [31.6, 100, 316, 562, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$] se disolvieron con solución salina (SS al 0.9%) y se prepararon el día del experimento. Las concentraciones se expresan en función de la concentración final en la cámara.



Figura 10. Stocks preparados para la elaboración de la solución Krebs-bicarbonato.

5.3.2 Extracción del tejido

Para la extracción del tejido, el animal se sacrificó por dislocación cervical de acuerdo con la normatividad oficial vigente (NOM-062-ZOO-1999). Posteriormente, se realizó una incisión abdominal y se expuso el íleon del animal tomando de referencia la unión ileocecal, y se extrajeron de 10 a 12 cm del íleon, descartando aproximadamente los 10 cm unidos a la unión ileocecal. El tejido extraído se sumergió inmediatamente en la solución K-B, a las condiciones previamente mencionadas (Figura 11A).

A continuación, el tejido mesentérico del segmento intestinal extraído se retiró y se limpió la luz intestinal expulsando el bolo alimenticio restante con la ayuda de una jeringa de vidrio. Seis anillos de aproximadamente 2 cm de longitud se cortaron, y se les colocó un hilo de algodón de diferente color en cada extremo para identificar el extremo proximal y el extremo distal (Figura 11B). Posteriormente se fijaron de manera individual en las cámaras de órgano aislado con solución K-B a 37°C y con burbujeo constante de O₂/CO₂ (Figura 12A). El extremo proximal se sujetó a un transductor de presión, el cual envía la respuesta de contracción a un polígrafo GRASS (Figura 12B), y traduce la señal mecánica a una señal eléctrica que se registra en papel (Figura 12C) a un sistema de captura de datos POLIVIEW.

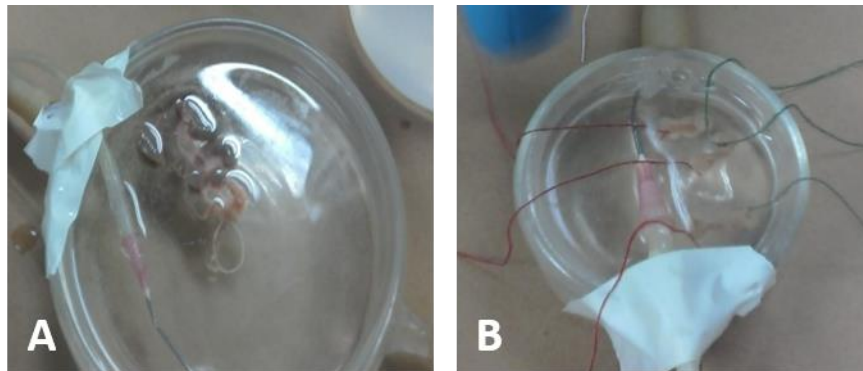
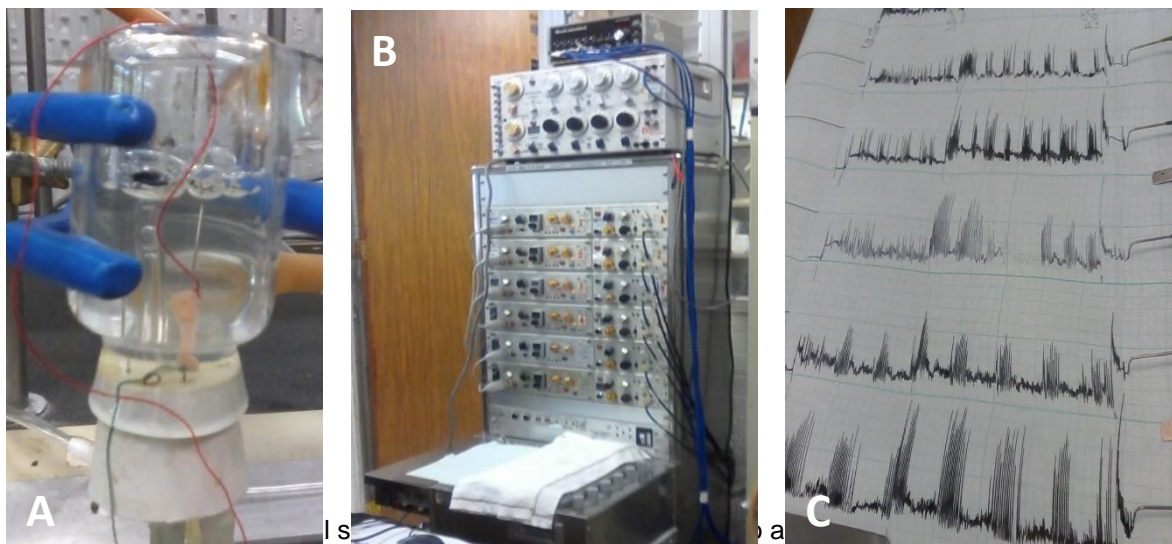


Figura 11. Segmento intestinal extraído (A) y anillos marcados con hilo de algodón (B).

Los tejidos se dejan para alcanzar un equilibrio bajo una tensión de 1 g durante 30 min. Posteriormente, se verifica la viabilidad de los tejidos adicionando a cada cámara 0.2 mL de ACh a 1×10^{-5} M. Posteriormente, los segmentos intestinales se lavan con K-B para retirar toda la ACh de la cámara y se dejan reposar durante 20 min antes de comenzar con el protocolo experimental. Los tejidos que no alcancen una contracción de 3 centímetros con ACh se descartan del estudio.



GRASS (B) y registro resultante de la actividad espontánea de los segmentos (C).

5.4 Determinación del efecto espasmolítico del extracto acuoso de *T. lucida*

5.4.1 Tejido precontraído con KCl (32 mM)

En este protocolo experimental, a cada cámara se adicionaron 0.2 mL de una solución de KCl [32 mM] para precontraer a los tejidos. Una vez que se alcanzó una contracción sostenida se adicionó el extracto de *T. lucida* (31.6, 100, 316, 562 y 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) o papaverina (30 μM), como control positivo. Cada concentración del extracto se adicionó por separado con periodos de lavado con K-B y 20 minutos de reposo entre cada uno.

Para el análisis de datos se calculó el porcentaje de relajación de los tejidos en respuesta a cada tratamiento utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de relajación: } \frac{g \text{ inicial} - g \text{ final}}{g \text{ inicial}} \times 100$$

Donde:

g inicial, representa la respuesta del tejido al ser estimulado con KCl;

g final, representa la respuesta del tejido precontraído con KCl al tratamiento (extracto o papaverina).

5.4.2 Tejido precontraído con estimulación eléctrica (EE)

En otro protocolo experimental, a los tejidos se les aplicó EE (14 V a 3 ms de duración y 0.3 Hz de frecuencia) para inducir un patrón de contracciones rítmicas. Los tratamientos a evaluar se adicionaron cuando los tejidos alcanzaron una respuesta contráctil de la misma magnitud durante por lo menos 5 minutos. Las concentraciones del extracto acuoso de *T. lucida* (31.6, 100, 316, 562 y 1000 µg/mL) se adicionaron de manera individual para determinar su ventana de activación. Al término de ésta, se lavó el tejido, se dejó estabilizar por 20 minutos y se volvió a estimular eléctricamente para determinar el efecto relajante de la papaverina (30 µM), el control positivo.

Para el análisis de datos se calculó el porcentaje de relajación de los tejidos en respuesta a cada tratamiento utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de relajación: } \frac{g \text{ inicial} - g \text{ final}}{g \text{ inicial}} \times 100$$

Donde:

g inicial, representa la respuesta del tejido al ser estimulado con EE;

g final, representa la respuesta del tejido al tratamiento (extracto o papaverina) en el tejido precontraído con EE.

5.4.3 La contracción inducida por acetilcolina (ACh).

Finalmente, en otro grupo de tejidos y para determinar el efecto del extracto sobre la contracción inducida con ACh, los tejidos fueron preincubados con 0.2 mL del extracto acuoso de *T. lucida* (31.6, 100, 316, 562 y 1000 µg/mL) o papaverina (30 µM) y posteriormente se les agregó 0.2 mL de ACh (1×10^{-9} a 1×10^{-5} M), para construir una CCR acumulativa de ACh de cada tratamiento. Cada curva se comparó con una CCR control a ACh, es decir, sin pretratamiento. Cada concentración del extracto fue evaluado por separado, de manera que después de cada CCR, el tejido se lavó con K-B y se dejó estabilizar durante 20 minutos antes del otro tratamiento.

Las CCR a ACh se construyeron en ausencia y en presencia de cada tratamiento tomando como 100 % la máxima contracción obtenida con ACh (1×10^{-5} M) en la curva control.

5.4.4. Evaluación de la integridad del músculo liso del íleon de cobayo a través de la contracción producida BaCl₂

Al finalizar cada uno de los protocolos antes descritos, a cada tejido se le adicionó 0.2 mL de BaCl₂ (0.01 M) para comprobar la integridad del tejido y asegurarnos que ninguno de los tratamientos dañó los tejidos.

5.5. Determinación del posible mecanismo de acción del efecto espasmolítico del extracto acuoso de *T. lucida*

Para determinar el posible mecanismo de acción responsable del efecto espasmolítico del extracto acuoso de *T. lucida* se evaluaron varios grupos experimentales:

5.5.1. Posible interacción con canales de calcio voltaje dependientes

En este grupo de experimentos se construyeron CCR acumulativas a diferentes concentraciones de calcio en tejidos preincubados durante 30 min con solución K-B libre de calcio con la siguiente composición (mM): 78.5 de NaCl, 87.7 de KCl, 1.2 MgCl₂, 1.2 de NaH₂PO₄, 25 de NaHCO₃, 11 de Glucosa, 0.3 de Colina

y 0.1 de EDTA; a 37°C con burbujeo constante de O₂ y CO₂ (95% y 5% respectivamente).

La contracción de los tejidos se determinó al adicionar CaCl₂ (0.05 mM a 25 mM) en ausencia (curva control) y en presencia de la CE₅₀ del extracto (300 µg/mL, calculada a partir del efecto espasmolítico del extracto en el protocolo de KCl) y 562 µg/mL, y de verapamilo (0.1 µg/mL, como control positivo). Los tejidos con tratamientos previos fueron preincubados con el tratamiento correspondiente durante 5 minutos.

Entre cada curva de calcio, los tejidos se lavaron con solución K-B y se dejaron reposar durante 20 minutos. Los porcentajes de contracción inducida con calcio de los grupos experimentales se calcularon considerando como 100 % la contracción obtenida con la concentración más alta de CaCl₂ (25 mM) en la curva control.

5.5.2. Posible interacción del extracto acuoso de *T. lucida* con la síntesis del óxido nítrico (ON) y con los receptores a ACh ganglionares.

Se determinó el efecto relajante del extracto acuoso de *T. lucida* en ausencia (grupo 1) y presencia de hexametonio (grupo 2), un bloqueador ganglionar; o bien, L-NAME (grupo 3), un inhibidor de la SON; en tejidos precontraídos con KCl.

Para esto, una vez obtenida la máxima contracción con KCl (32 mM), a los tejidos se les adicionó 0.2 mL de SSI (grupo 1), hexametonio (0.05 mM, grupo 2); o bien L-NAME (100 µM, grupo 3). Después de un periodo de incubación de 10, 10 y 30 min, respectivamente, a cada grupo se adicionó el extracto a una concentración de 300 µg/mL para determinar su efecto relajante.

5.5.3. Posible interacción del extracto acuoso de *T. lucida* con receptores de serotonina o de histamina.

Para determinar la posible participación de serotonina en el efecto espasmolítico del extracto, primero se construyó una CCR acumulativa de serotonina ($1 \times 10^{-9} \text{M}$ a $1 \times 10^{-5} \text{M}$) en tejidos con K-B normal. Posteriormente, los tejidos se preincubaron con 300 $\mu\text{g/mL}$ del extracto ó 1 $\mu\text{g/mL}$ de Ketanserina (antagonista de los receptores 5-HT₂) durante 10 min. Después de este periodo, las diferentes concentraciones de serotonina se adicionaron a cada cámara para construir las CCR acumulativas en presencia de los tratamientos.

Por otro lado, para determinar la posible participación de histamina en el efecto espasmolítico del extracto, primero construyó una CCR acumulativa de histamina ($1 \times 10^{-9} \text{M}$ a $1 \times 10^{-5} \text{M}$) en tejidos con K-B normal. Posteriormente, como se describió en el protocolo anterior, los tejidos fueron preincubados con 300 $\mu\text{g/mL}$ del extracto ó 1 $\mu\text{g/mL}$ de Pirilamina (antagonista de los receptores H₁) durante 10 min antes de adicionar las diferentes concentraciones del agonista.

Entre cada CCR del respectivo agonista, los tejidos se lavaron y se dejaron reposar durante 20 min. El porcentaje de contracción inducido por cada agonista en ausencia y presencia de los tratamientos se calculó tomando como 100% el efecto inducido con la máxima concentración en las curvas control de serotonina e histamina, respectivamente.

5.6. Análisis de datos

El efecto espasmolítico del extracto acuoso de la *T. lucida* se expresa como porcentaje de relajación en los tejidos precontraídos con KCl o EE; mientras que, en el protocolo de las CCR a ACh, este efecto se expresó como inhibición de la contracción inducida por ACh. En este caso, también se calcularon la CE₅₀, el efecto máximo (E_{max}) y el área bajo la curva (ABC) de cada curva a ACh (en ausencia y presencia de los tratamientos) y estos parámetros se compararon a través de un análisis de varianza (ANDEVA) seguido de una prueba de Dunnett con una significancia de $*p < 0.05$.

Con relación a la elucidación del posible mecanismo de acción del efecto espasmolítico del extracto acuso de *T. lucida*, la participación de cada mecanismo estudiado se determinó comparando el efecto espasmolítico del extracto en ausencia y en presencia de los diferentes tratamientos con bloqueadores, inhibidores o antagonistas específicos.

Todos los grupos experimentales representan un valor promedio de 5 tejidos \pm error estándar; y, en todos los casos los datos se analizaron usando una ANDEVA, seguido de una prueba de Dunnett, con una significancia de $*p < 0.05$.

El análisis de los datos se realizó usando el programa Graph Pad Prism 6.

6. RESULTADOS

6.1. Efecto espasmolítico producido por el extracto acuoso de *T. lucida* en íleon de cobayo precontraído con KCl.

En este protocolo experimental, el K⁺ indujo una contracción fásica seguida por una contracción sostenida que se mantuvo durante más de 5 min. El promedio de la fuerza de contracción sostenida de los tejidos fue de 1.82 ± 0.05 g y el vehículo no alteró esta respuesta. Los tratamientos a evaluar se administraron cuando se alcanzó una contracción sostenida (Figura 13) y la respuesta del tratamiento en la disminución producida sobre esta contracción se interpretó como efecto relajante. El extracto acuoso de *T. lucida* indujo una respuesta relajante casi inmediata en el tejido precontraído con KCl (Figura 13).

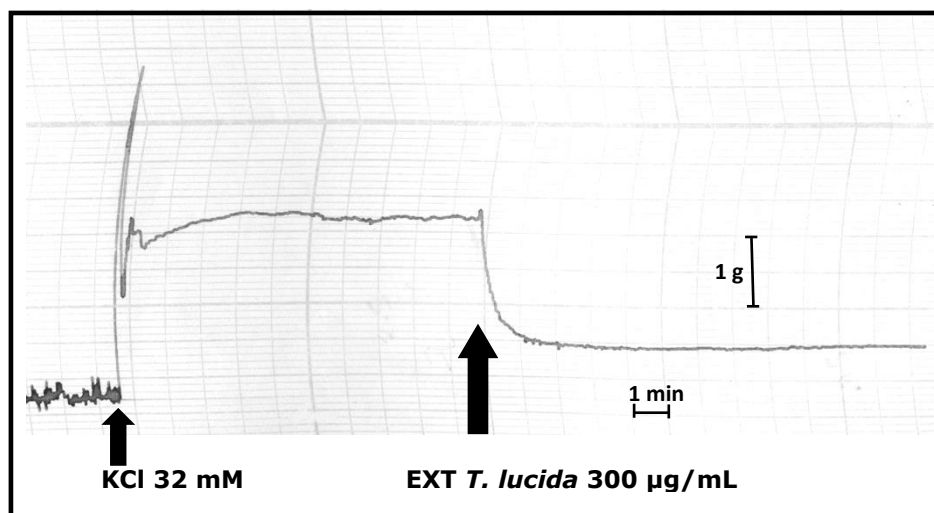


Figura 13. Registro representativo del polígrafo donde se muestra la contracción inducida por KCl (32 mM) en el íleon aislado de cobayo y el efecto del extracto acuoso de *T. lucida* 300 µg/mL sobre el tejido precontraído (1 cm equivale a 1 g de contracción).

El extracto acuoso de *T. lucida* produjo un efecto relajante concentración dependiente en el tejido con KCl que mostró significancia estadística con relación al vehículo desde la concentración de 31.6 hasta la de 1000 µg/mL, concentración con la que se alcanzó el máximo efecto relajante ($E_{m\acute{a}x}$), que fue de $83.71 \pm 1.93\%$ (Figura 14). La CE_{50} del extracto fue de 299.93 ± 27.8 µg/mL en este protocolo experimental. También la papaverina [30 µM], utilizada como control positivo, indujo

un efecto relajante por arriba del 100% en este protocolo experimental ($104.30 \pm 5.22\%$).

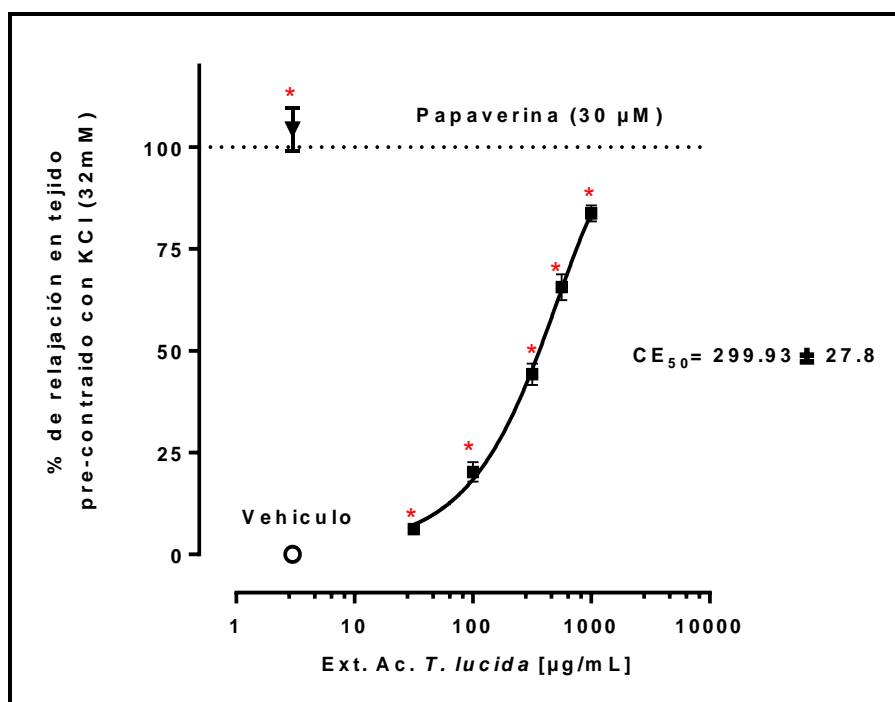


Figura 14. Curva concentración respuesta del efecto relajante del extracto acuoso de *T. lucida* (31.6 a 1000 $\mu\text{g/mL}$) en íleon aislado de cobayo precontraído con KCl (32 mM). También se muestra el efecto relajante de papaverina (30 μM), como control positivo. Cada punto representa la media \pm EEM de una n de 5 a 6 segmentos intestinales. * $p < 0.05$, ANDEVA, seguida de una prueba Dunnett vs vehículo.

6.2. Efecto espasmolítico producido por el extracto acuoso de *T. lucida* en íleon de cobayo precontraído con EE.

Una respuesta contráctil supramáxima del tejido se obtuvo con la EE transmural del íleon de cobayo a 14V, 0.3 Hz de frecuencia y 3 ms de duración. La respuesta contráctil de los tejidos control fue de $1.72\text{g} \pm 0.07\text{g}$ y no se alteró al adicionar el vehículo, pero, al adicionar el extracto acuoso de *T. lucida* se produjo un espasmo breve e intenso (Figura 15A); mientras que, la papaverina, el control positivo, relajó al tejido inmediatamente (Figura 15B).

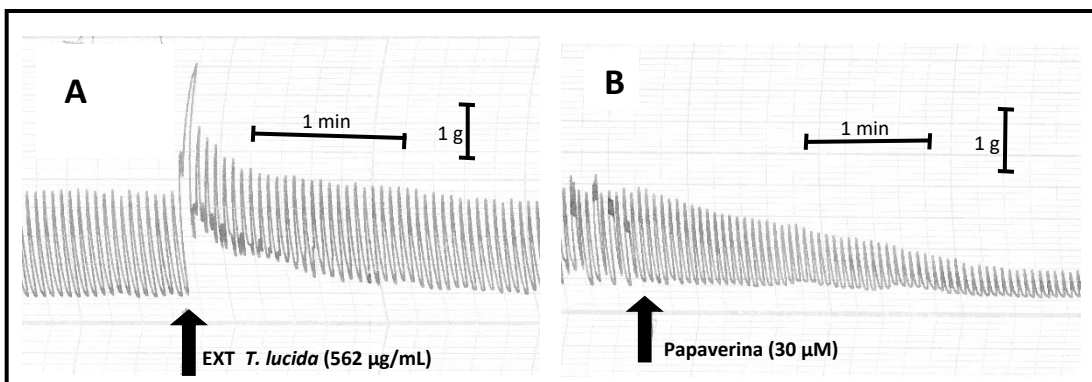


Figura 15. Registro representativo del polígrafo donde se muestra la contracción inducida por EE (14 V, 0.3 Hz, 3 ms) en el íleon aislado de cobayo y el efecto del extracto acuoso de *T. lucida* (562 µg/mL, **A**) y papaverina (30 µM, **B**) sobre la contracción inducido por EE (1 cm es igual a 1 g de contracción).

El extracto acuoso de *T. lucida* no relajó al tejido precontraído con la EE en las concentraciones de 31.6 a 316 µg/mL. La única concentración del extracto que indujo un ligero efecto relajante en este protocolo experimental fue la de 562 µg/mL ($7.28 \pm 5.77\%$), que alcanzó significancia estadística con respecto al vehículo; mientras que, la papaverina produjo un efecto relajante de $83.77 \pm 4.36\%$ que mostró mayor significancia estadística respecto al vehículo (Figura 16).

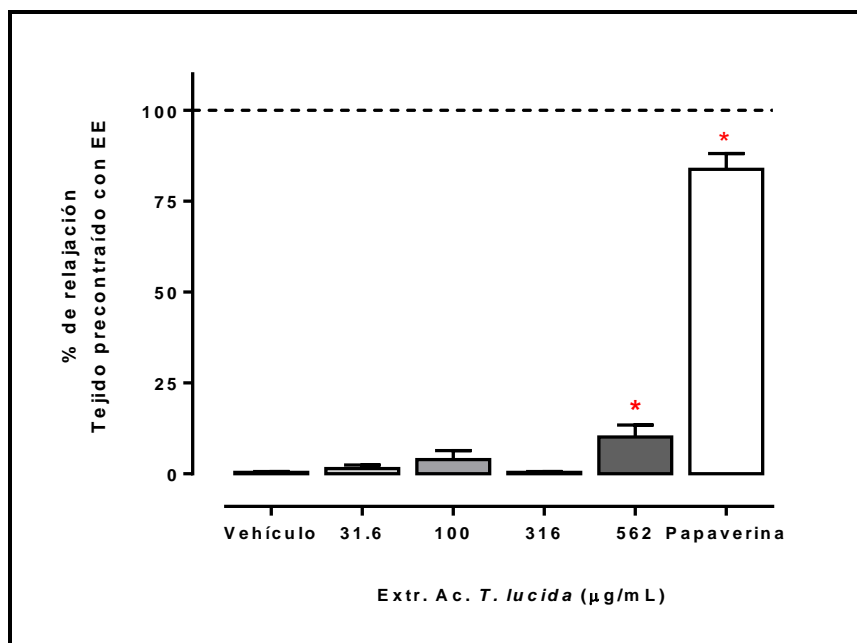


Figura 16. Porcentaje de relajación del extracto acuoso de *T. lucida* (31.6 a 562 µg/mL) o papaverina (30 µM) en el íleon aislado de cobayo precontraído con EE (14 V, 0.3 Hz y 3 ms). Cada barra representa la media \pm EEM de 5 a 6 anillos. * $p < 0.05$, ANDEVA, seguida de una prueba Dunnett vs vehículo.

6.3. Efecto producido por el extracto acuoso de *T. lucida* en la contracción inducida por ACh en el íleon de cobayo.

La adición de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de *T. lucida* (31.6, 100, 316, 562 y 1000 $\mu\text{g/mL}$) sobre el tejido antes de la adición de la ACh (1×10^{-9} a 1×10^{-5} M) produjo respuestas contráctiles concentración-dependientes sobre la actividad espontánea (Figura 17). Estas respuestas fueron de corta duración pero dosis dependientes (9.7 ± 1.1 , 24.6 ± 4.2 , 33.8 ± 7.5 , 69.9 ± 11.0 y 88.2 ± 6.4 %, respectivamente). Los porcentajes de contracción del extracto se calcularon en relación a la respuesta inducida con ACh (1×10^{-5} M), la cual fue considerada el 100%.

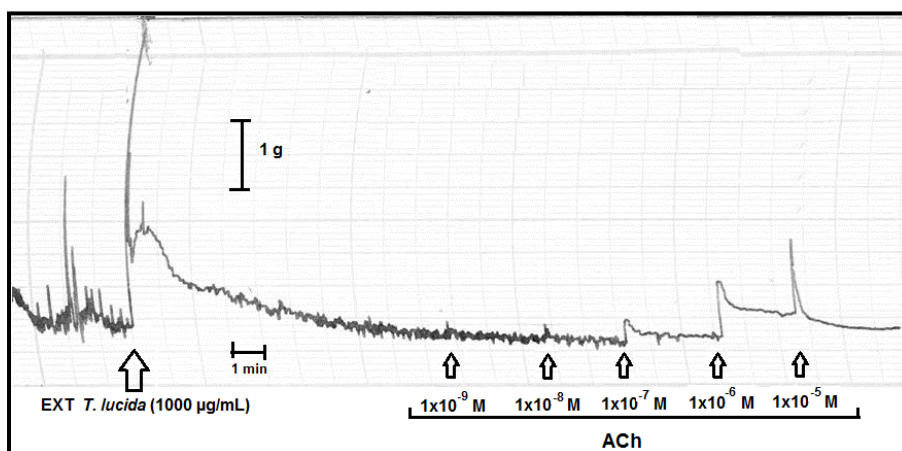


Figura 17. Registro representativo del polígrafo donde se observa la CCR acumulativa de ACh en presencia del extracto acuoso de *T. lucida* (1000 $\mu\text{g/mL}$) en el íleon aislado de cobayo (1 cm equivale a 1 g de contracción).

Por otro lado, la preincubación del tejido con las diferentes concentraciones del extracto acuoso disminuyó la respuesta contráctil producida por ACh en todas las concentraciones evaluadas; de manera que se observó un desplazamiento a la derecha de las CCR a ACh (Figura 18) y un consecuente incremento en la CE_{50} (Tabla 1). La papaverina bloqueó casi completamente el efecto contráctil de la ACh (Figura 18).

El análisis de la $E_{m\acute{a}x}$ de ACh y las áreas bajo la curva mostraron una disminución concentración-dependiente del extracto de la respuesta contráctil inducida por ACh sola, que alcanzó una significancia estadística desde la concentración de 316 $\mu\text{g}/\text{mL}$. La papaverina también alteró éstos parámetros, de manera que la $E_{m\acute{a}x}$ de ACh en presencia de la papaverina fue de 15% y el ABC fue de 29.1 ± 3 ua.(Tabla 1).

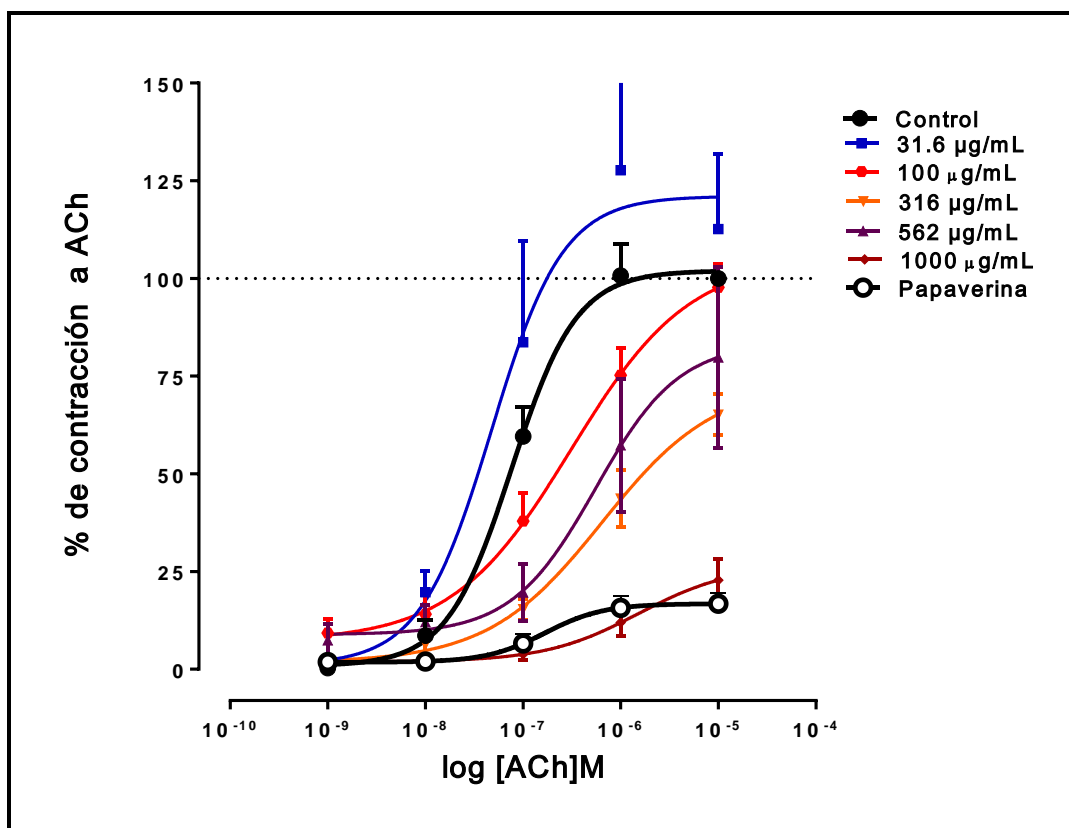


Figura 18. CCR de ACh en tejidos pretratados con sol. salina (control), papaverina (30 μM) o extracto acuoso de *T. lucida* en diferentes concentraciones (31.6 a 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Cada punto representa media \pm EEM de 5 a 6 anillos.

Tabla 1. CE₅₀, E_{máx} y ABC obtenidas de la CCR de ACh en íleon aislado de cobayo en ausencia y en presencia del extracto acuoso de *T. lucida*.

Tratamiento (µg/mL)	CE ₅₀ de ACh (x10 ⁻⁸ M)	E _{máx} (%) de ACh	ABC (ua)
Control	7.7±0.1	100	204.7±9.60
EXT 31.6	4.7±0.4	107.1±9.0	189.4±12.0
EXT 100	31.0±2.4*	97.7 ± 6.1	184.9±21.9
EXT 316	64.5±2.8*	65.2 ± 5.2*	97.6±14.4*
EXT 562	55.2±4.5*	61.5 ± 7.4*	91.8±18.2*
EXT 1000	-----	22.8 ± 5.3*	30.2±9.0*
Papaverina (30 µM)	-----	15.0 ± 2.0*	29.1±3.8*

Se muestra la media ±EEM de 5 a 6 preparaciones

* p<0.5, tratamiento contra control. ANDEVA seguido de una prueba de Dunnett

6.4. Evaluación de la integridad del músculo liso del íleon de cobayo a través de la contracción producida BaCl₂

Finalmente, para determinar si las exposiciones repetidas del tejido al extracto alteran la respuesta contráctil del tejido al BaCl₂ en los diferentes protocolos experimentales, la respuesta contráctil del tejido a este compuesto se evaluó al finalizar cada experimento. Como se muestra en la figura 19, ninguno de los tratamientos realizados en cada uno de los protocolos experimentales, incluyendo la adición de las diferentes concentraciones del extracto, alteró la respuesta contráctil inducida con BaCl₂, que alcanzó un porcentaje muy cercano al 100% con relación a la máxima contracción alcanzada con ACh (1X10⁻⁵ M) de cada tejido al inicio de cada experimento.

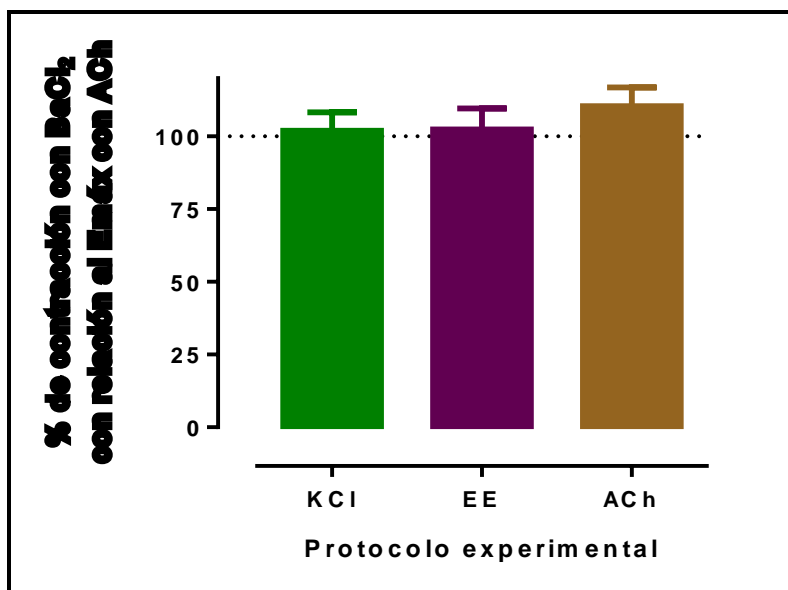


Figura 19. Contracción inducida por BaCl₂ en tejidos expuestos a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *T. lucida* en los diferentes protocolos experimentales utilizados en este estudio.

6.5. Determinación del mecanismo de acción responsable del efecto espasmolítico de *T. lucida*.

Para tratar de elucidar el posible mecanismo de acción involucrado en el efecto espasmolítico del extracto de *T. lucida*, en los siguientes experimentos se utilizó la CE₅₀ del efecto relajante inducido por el extracto en el protocolo experimental del tejido precontraído con KCl, que fue de 300 µg/mL.

6.5.1 Interacción del extracto acuoso de *T. lucida* con canales de calcio voltaje dependientes

Las dos concentraciones utilizadas del extracto acuoso de *T. lucida* (300 y 562 µg/mL) desplazaron las CCRs de CaCl₂ a la derecha y disminuyeron significativamente, aunque en la misma proporción (cerca del 30%), el efecto máximo inducido por el CaCl₂. Por otro lado, el verapamilo, un bloqueador de canales de calcio voltaje dependientes, prácticamente bloqueó el efecto contráctil del CaCl₂ (Figura 20).

El análisis de las CE_{50} , el $E_{m\acute{a}x}$ y las ABCs obtenidas a partir de las CCR's de $CaCl_2$ (Figura 20) mostr3 que ambas concentraciones del extracto incrementaron significativamente las CE_{50} del calcio; y disminuyeron significativamente la $E_{m\acute{a}x}$ y el ABC del calcio (Tabla 2).

El verapamilo relaj3 al 100% el tejido precontraído con potasio; mientras que con la concentraci3n de 300 $\mu g/mL$ del extracto se alcanz3 un efecto relajante de $44.2 \pm 5.8 \%$ de tejido precontraído con KCl.

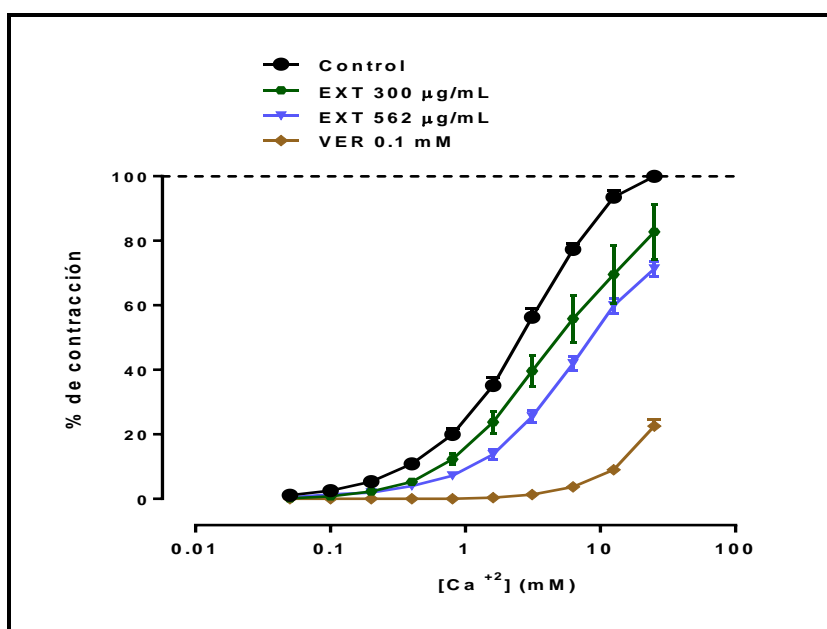


Figura 20. CCR del efecto contráctil del cloruro de calcio ($CaCl_2$) sobre el íleon de cobayo en ausencia (control) y presencia de dos concentraciones del extracto acuoso de *T. lucida* (EXT 300 $\mu g/mL$ y EXT 562 $\mu g/mL$) o verapamilo (VER 0.1 mM). Cada punto representa la media \pm EEM de 5 a 6 segmentos.

Tabla 2. CE_{50} , $E_{m\acute{a}x}$ y ABC obtenidas de la CCR de Ca^{2+} en íleon aislado de cobayo en ausencia y en presencia del extracto acuoso de *T. lucida*.

Tratamiento	CE_{50} (Ca^{2+} mM)	E_{max} (%) de Ca^{2+}	ABC (ua)
Control	2.8 ± 1.05	100	2052.3 ± 31.70
EXT (300 $\mu g/mL$)	4.1 ± 1.34	$82.7 \pm 8.5^*$	$1559.9 \pm 187.6^*$
EXT (562 $\mu g/mL$)	6.4 ± 1.12	$71.3 \pm 2.4^*$	$1284.8 \pm 51.80^*$
VER (0.1 μM)	-----	$22.6 \pm 1.9^*$	$246.8 \pm 31.50^*$

Se muestra la media \pm EEM de 5 a 6 preparaciones

* $p < 0.5$, tratamiento contra control. ANDEVA seguido de una prueba de Dunnett

6.5.2 Interacción del extracto acuoso de *T. lucida* con la síntesis del óxido nítrico (ON) y con los receptores a ACh ganglionares.

Ni el pretratamiento con L-NAME (100 μ M, un inhibidor de la sintasa de ON); ni con hexametonio (0.05 mM, un bloqueador ganglionar) alteró significativamente la respuesta relajante inducida por el extracto acuoso de *T. lucida* (66.6 ± 5.7 y 68.7 ± 9.0 vs 46.4 ± 4.2 %, ANDEVA) sobre el tejido precontraído con KCl (Figura 21).

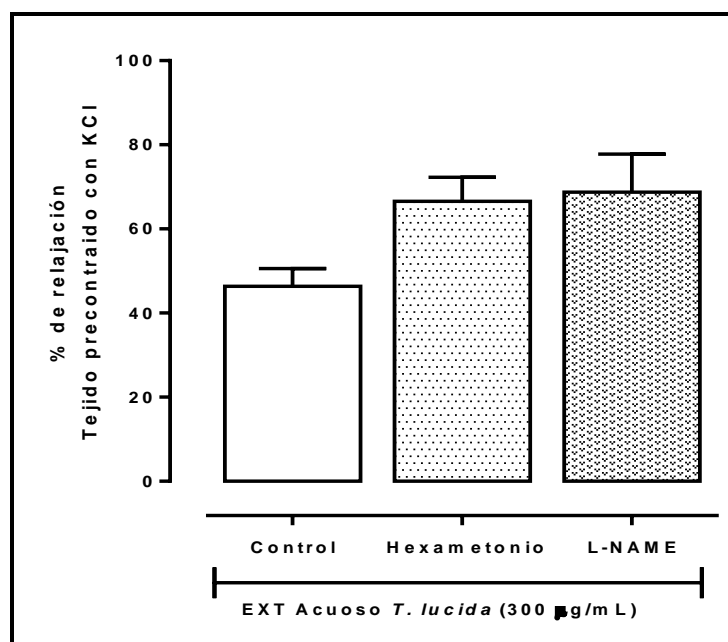


Figura 21. Efecto espasmolítico del extracto acuoso de *T. lucida* (300 μ g/mL) en íleon de cobayo precontraído con KCl 32 mM en ausencia (control) y en presencia de Hexametonio (0.05 Mm) o L-NAME (100 μ M). Cada barra representa la media \pm EEM de 4 anillos. ANDEVA.

6.5.3. Interacción del extracto acuoso de *T. lucida* con receptores de serotonina o de histamina en el íleon aislado de cobayo.

Por último, el extracto acuoso de *T. lucida* (300 μ g/mL) desplazó a la derecha las CCRs del efecto contráctil inducido por serotonina (Figura 22A) e histamina (Figura 22B). En el caso de las CCRs de serotonina, tanto el extracto como la ketanserina, un antagonista selectivo de los receptores a serotonina 5-HT_{2A}, desplazaron significativamente su curva hacia la derecha (Figura 22A), calculándose una CE₅₀ del agonista de: 2.3 ± 0.02 ($\times 10^{-7}$ M), 3.9 ± 0.07 ($\times 10^{-6}$ M) y 1.9 ± 0.08 ($\times 10^{-6}$ M) en ausencia y en presencia del extracto y ketanserina, respectivamente. También el E_{máx} de la serotonina (100 %) disminuyó en presencia

del extracto y la ketanserina (68.1 ± 8.5 y 79.1 ± 6.5 %, respectivamente), aunque no hubo diferencia significativa entre ambos tratamientos.

Por otro lado, en el caso de las CCRs de histamina, el extracto acuoso de *T. lucida* desplazó significativamente su curva hacia la derecha (Figura 22B), calculándose una CE_{50} del agonista de: 3.2 ± 0.1 ($\times 10^{-8}$ M), en ausencia, y de 4.1 ± 0.07 ($\times 10^{-6}$ M) en presencia del extracto; mientras que la pirilamina, un antagonista selectivo de los receptores H_1 , bloqueó completamente el efecto contráctil del agonista (Figura 22B). También el $E_{m\acute{a}x}$ de la histamina (100%) disminuyó en presencia del extracto y la pirilamina (63.9 ± 5.9 y $12.7 \pm 3.5\%$, respectivamente), mostrando una diferencia significativa entre ambos tratamientos.

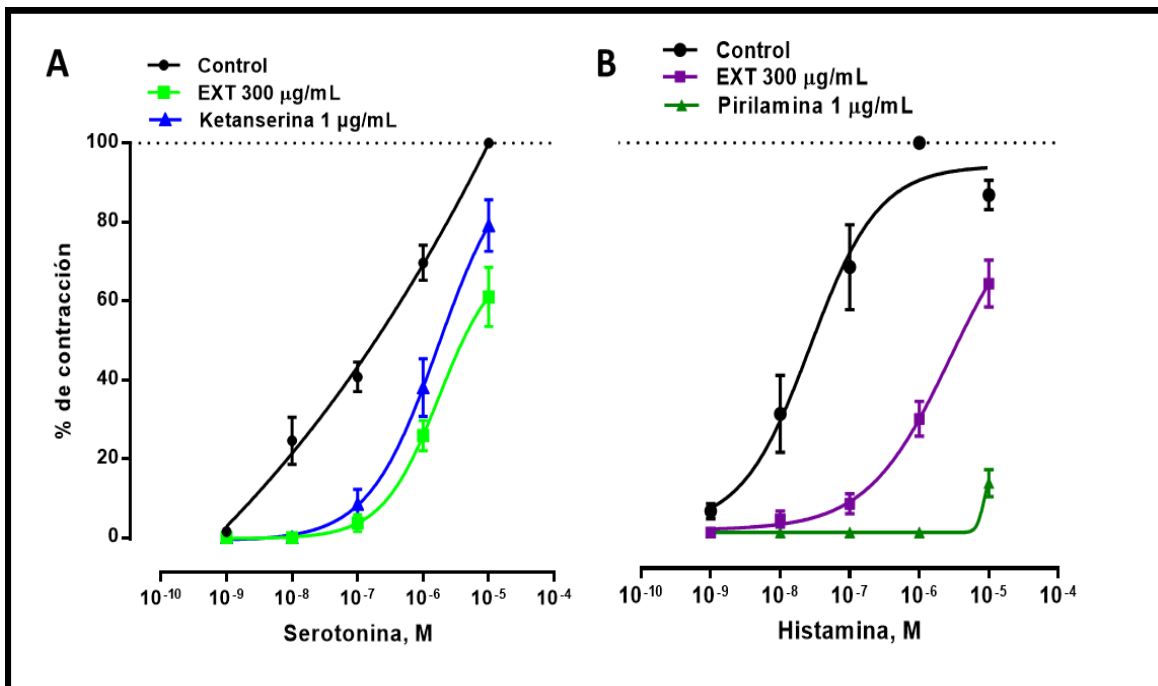


Figura 22. Porcentaje de efecto contráctil de Serotonina (A) e Histamina (B) en ausencia (control) y presencia del extracto acuoso de *T. lucida* (300 µg/mL); o bien, de sus respectivos antagonistas, ketanserina (A, antagonista $5-HT_{2A}$) y pirilamina (B, antagonista H_1). Cada punto representa la media \pm EEM de 5 a 6 segmentos.

7. DISCUSIÓN

Tagetes lucida Cav. es una planta comúnmente conocida como “pericón” que pertenece a la familia Asteraceae. Esta es ampliamente utilizada en la cultura mexicana con motivos religiosos, así como en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades entre ellos en el tratamiento de malestares gastrointestinales (Hernández, 1943). Sin embargo, existen pocos estudios que se enfoquen al alivio de dichos efectos; por tanto, en este trabajo se estudió el efecto espasmolítico del extracto acuoso de la *T. lucida* en el íleon aislado de cobayo, un modelo *in vitro* ampliamente utilizado para el estudio del efecto a compuestos puros y/o extractos de plantas medicinales.

En el primer protocolo experimental se utilizó KCl (32 mM) para contraer al tejido. Este protocolo se basa en la contracción del músculo liso como consecuencia de la despolarización membranal producida por una alta concentración de potasio (K^+). El incremento de K^+ extracelular induce la despolarización de la membrana, ocasionando la apertura de canales de Ca^{2+} tipo L dependientes de voltaje. Con esto se induce un incremento en la concentración de Ca^{2+} intracelular (Karaki y cols., 1984) que al unirse a la calmodulina forma un complejo que actúa como intermediario para la activación de la cinasa de la cadena ligera de miosina (MLCK, por sus siglas en inglés). La fosforilación de la cadena ligera de miosina induce su desplazamiento con los filamentos de actina de las células produciendo la contracción de las fibras musculares del músculo liso (Webb, 2003). Los resultados de este trabajo muestran que el extracto acuoso de *T. lucida* produjo un efecto espasmolítico similar al obtenido con otra especie del mismo género, *T. erecta* (Córdova, 2015); por lo que se analizó si éste efecto podría deberse a un bloqueo de canales de Ca^{2+} voltaje dependientes. Lo anterior se confirmó cuando se determinó que el extracto desplazo a la derecha la curva concentración respuesta al Ca^{2+} , aunque no con la misma eficacia que el verapamilo (bloqueador de canales de Ca^{2+} voltaje dependientes); ello sugiere que alguno de los componentes del extracto puede estar bloqueando los canales de Ca^{2+} voltaje dependientes

contribuyendo con esto a su efecto espasmolítico. Además existe evidencia que sugiere que los bloqueadores de canales de Ca^{2+} pueden ser útiles en el alivio de desórdenes que involucren hiperactividad intestinal, tales como espasmos y diarrea (Pasricha, 2006; Khan y Gilani, 2009).

En el segundo protocolo experimental se utilizaron tejidos precontraídos con EE. Se sabe que la EE produce la despolarización de la membrana neuronal de neuronas mientéricas, esto induce la apertura de canales de Ca^{2+} voltaje dependientes e induce la liberación de neurotransmisores (Naidoo y cols., 2010). Las neuronas que se activan principalmente son las neuronas colinérgicas que liberan ACh. La ACh estimula a los receptores muscarínicos M_2 y M_3 en las células del músculo liso. Los receptores M_3 están acoplados a una proteína Gq que activa a una fosfolipasa C, catalizando la reacción de fosfatidil inositol difosfato (PIP_2) a fosfatidil inositol trifosfato (IP_3) y diacilglicerol (DG). El IP_3 se une a su receptor en el retículo sarcoplásmico liberando Ca^{2+} desde almacenes intracelulares e incrementando su concentración en el citosol. El incremento de Ca^{2+} intracelular provoca la contracción del tejido por el mecanismo anteriormente descrito (Ehlert y cols., 1995; Sanders y cols., 2012). Por otro lado, los receptores M_2 están acoplados a una proteína Gs, para inhibir al adenilato ciclasa y disminuir los niveles intracelulares de AMPc, condición bajo la cual está activado el mecanismo relajante de la fosfatasa de MLC (Sanders y cols., 2012). Sin embargo, además de la liberación de ACh desde las neuronas mientéricas, la EE también puede liberar otros neurotransmisores excitadores (serotonina e histamina) o inhibidores (noradrenalina, el péptido vasoactivo, sustancia P y óxido nítrico) (Agoston y cols., 1988). En este protocolo, el extracto acuoso de *T. lucida* no produjo un efecto relajante significativo, excepto en la concentración más alta, a diferencia de los resultados obtenidos con *T. erecta*, en donde se muestra que desde la concentración más pequeña (100 mg/mL) disminuye significativamente la contracción inducida por EE (Córdova, 2015). Los resultados de nuestro estudio sugieren que el efecto espasmolítico inducido por la *T. lucida* no involucra directamente la activación de las neuronas mientéricas. Esto se confirmó cuando el hexametonio, un bloqueador ganglionar, no alteró su efecto espasmolítico, ya que

se sabe que el hexametonio inhibe la liberación de neurotransmisores de las neuronas mientéricas de las terminales colinérgicas, entre ellos la ACh, inhibiendo así el efecto contráctil producido por la acción de este neurotransmisor en el músculo liso (Eglen y cols., 1989).

El efecto espasmolítico de la *T. lucida* se confirmó en este estudio cuando su extracto disminuyó la respuesta contráctil inducida por ACh, a diferencia de lo reportado con *T. erecta*, en donde el extracto no produce un efecto espasmolítico en el mismo protocolo experimental (Córdova, 2015). Se sabe que la ACh es el principal neurotransmisor excitador en el TGI, cuyo mecanismo por el cual la ACh induce contracciones en el tejido fue discutido anteriormente.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por López y cols. (1990), en donde determinan que el efecto espasmolítico del extracto clorofórmico de la *T. lucida* sobre la actividad espontánea del yeyuno de conejo (López y cols., 1990), así como de los extractos clorofórmico y etanólico sobre el útero de rata (Jayme y cols., 1998). En estos trabajos se determina que el efecto espasmolítico inducido por *T. lucida* es parcialmente mediado por receptores muscarínicos, pero no por la activación de los receptores adrenérgicos.

En el efecto espasmolítico del extracto de *T. lucida* se determinó que la vía del ON-GMPc no se encuentra involucrada, ya que el inhibidor de la SON (L-NAME, que impide la producción de ON) no alteró su efecto espasmolítico. Esta vía fue explorada porque se sabe que el ON es un neurotransmisor importante en el sistema gastrointestinal que induce relajación de la musculatura lisa. Es un importante mensajero intra e inter celular que se encuentra en todo el organismo y se sintetiza a partir de L-arginina por la acción de la enzima SON (Furfin y cols., 1993). El ON activa a la guanilato ciclasa, la enzima encargada de la síntesis del GMPc, induciendo un aumento en su concentración intracelular. Este segundo mensajero activa a la proteína cinasa C, que inhibe la vía de Rho cinasa de sensibilización al Ca^{2+} y también activa a la telocina, que a su vez aumenta la actividad de la fosfatasa de la MLC e impide la unión de la MLC a la actina (Sanders y cols., 2012) inhibiendo la contracción (Liddle, 2006). El L-NAME es un inhibidor de

la SON que actúa como sustrato competitivo de la L-arginina, el sustrato natural de la SON. De esta manera, con la administración de la L-NAME se inhibe la síntesis de ON (Das y cols., 1999).

También se sabe que el mecanismo de contracción en músculo liso involucra la participación de otros neurotransmisores además de la ACh, como la serotonina y/o la histamina, y que la inhibición en su liberación o el bloqueo de sus receptores podrían inhibir el mecanismo contráctil de estos agonistas, favoreciendo un efecto espasmolítico. En este sentido se analizó si en el efecto espasmolítico del extracto estudiado podría estar involucrado alguno de estos sistemas. Los resultados muestran que el extracto de *T. lucida* inhibe parcialmente el efecto contráctil de la serotonina y de la histamina sugiriendo que alguno(s) de los componentes del extracto impide la activación de los receptores a serotonina 5HT_{2A} y los receptores a histamina H₁. La participación de estos receptores se determinó utilizando antagonistas selectivos para cada uno, la ketanserina para los receptores 5-HT_{1A} (Montes y cols., 2005) y la pirilamina para los receptores H₁ (Jia-Ming y cols., 2011).

En los tres protocolos experimentales utilizados en este estudio se utilizó papaverina como control positivo, un agente antiespasmódico bien caracterizado (Ventura-Martinez y cols., 2011). Esto nos permitió confirmar que el íleon de cobayo es capaz de relajarse completamente con un agente antiespasmódico, como la papaverina, en las tres situaciones experimentales; además de comparar la eficacia con la del extracto.

La papaverina es un alcaloide extraído del opio que induce relajación del músculo liso por la inhibición de la enzima fosfodiesterasa de los tipos PDE4B, PDE5 y PDE10 (Weber y cols., 2009; Xin y cols., 2003), produciendo un aumento de AMPc que activa a la fosfatasa de MLC, removiendo el grupo fosfato de la MLC e impidiendo su interacción con la actina, lo que finalmente produce relajación (Shimizu y cols., 2000). Además, la elevación intracelular de este segundo mensajero estimula la acumulación de calcio hacia almacenes intracelulares disminuyendo sus concentraciones citosólicas ocasionando la relajación del

músculo liso. También altera la función respiratoria de la mitocondria de las células por inhibición de la fosforilación oxidativa (Kaneda y cols., 1998).

También es importante mencionar que ninguna de las concentraciones utilizadas del extracto fue capaz de dañar a las células del músculo liso intestinal, dado que la estimulación de los tejidos con BaCl₂, independientemente de sus tratamientos previos, produjo el mismo efecto contráctil. Recordemos que el BaCl₂ induce contracción en el íleon de cobayo a través de un mecanismo directo sobre la musculatura del tejido, y no al SNE, ya que el bario, al ser un ión bivalente, actúa como si fuera Ca²⁺ afectando el potencial normal de la célula, provocando la apertura de los canales de Ca²⁺. A través de este mecanismo, el bario ingresa a la célula y generará la contracción del músculo liso al actuar directamente sobre las proteínas que forman la maquinaria contráctil (Karakı y cols., 1984).

De acuerdo con la literatura, se sugiere que uno de los componentes responsables del efecto espasmolítico de la *T. lucida* puede ser la quercetina, ya que se sabe que es uno de los flavonoides presentes en la planta (Aquino y cols., 2002). Además, existe evidencia que señala que el efecto espasmolítico inducido por quercetina se debe al bloqueo de canales de Ca²⁺ tipo L de la placa muscular lisa del íleon de cobayo y de la aorta de rata (Fanning y cols., 1983; Roghania y cols., 2006). Por otro lado, López y cols. (1990) mencionan que los componentes responsables del efecto espasmolítico del extracto clorofórmico de las hojas de *T. lucida* podrían ser la 7-metoxi cumarina y la 6,7-dimetoxi cumarina.

Es importante mencionar que a pesar de que la *T. lucida* pertenece al mismo género que la *T. erecta*, otra especie estudiada por nuestro grupo de investigación (Códova, 2015), sus efectos farmacológicos en diferentes condiciones experimentales pueden ser opuestos. Esto nos alienta a continuar con estudios controlados para determinar a detalle él o los metabolitos responsables de este efecto para cada especie y no suponer que por ser del mismo género, dos especies se pueden utilizar indistintamente en la medicina tradicional para el mismo efecto farmacológico.

Tampoco hay que olvidar que el extracto acuoso de *T. lucida* indujo un efecto contráctil en el tejido, antes de adicionar la ACh, lo cual sugiere que alguno de sus componentes produce un efecto espasmogénico que, aunque es de corta duración, se debe estudiar a detalle. Sin embargo, la corta duración de este efecto sugiere que en el extracto prevalecen las sustancias espasmolíticas; o bien, los componentes espasmogénicos se degradan rápidamente.

8. CONCLUSIONES

El extracto acuoso de las inflorescencias de *T. lucida* induce un efecto espasmolítico en el íleon aislado de cobayo previamente contraído, es decir, cuando se simula la presencia de espasmos intestinales, situación clínica en la que usualmente se emplea esta planta. Esto, aunado al efecto espasmolítico que nuestro grupo de trabajo determinó de otra especie de *Tagetes*, la *T. erecta*; sustentan el uso de esta especie en la medicina tradicional para el alivio de los cólicos y constituye una aportación científica al conocimiento etnomédico de esta planta.

Como pudimos determinar en este estudio, el efecto espasmolítico del extracto de *T. lucida* se debe en parte al bloqueo de canales de calcio dependientes de voltaje, así como al probable antagonismo de receptores serotoninérgicos (5-HT_{2A}) e histaminérgicos (H₁); pero no involucra la producción de óxido nítrico ni la liberación de neurotransmisores del SNE.

Por otro lado, el efecto contráctil producido por el extracto acuoso de *T. lucida* sobre el tejido sin contraer; es decir, sobre su actividad espontánea, sugiere que, en los pacientes que utilizan esta planta para otros efectos terapéuticos que no involucren espasmos intestinales como parte de su sintomatología (como sedante, antibiótico, antidepresivo o ansolítico); el extracto podría producirles como efecto adverso malestares gastrointestinales. Aunque es necesario realizar más estudios sobre este efecto farmacológico para determinar su importancia sobre el uso de la planta en la medicina tradicional.

9. PERSPECTIVAS

- Continuar con el estudio fitoquímico para conocer la composición química del extracto acuoso de las inflorescencias de la *T. lucida* y aislar los compuestos responsables de su efecto espasmolítica.
- Determinar el efecto espasmolítico sobre el alivio del dolor visceral en un modelo *in vivo* en ratones.
- Estudiar la relevancia clínica del efecto espasmogénico del extracto; así como su mecanismo de acción.
- Realizar estudios de toxicidad aguda y crónica de la *T. lucida* para establecer su seguridad en la medicina tradicional.

10. REFERENCIAS

- Acosta L., Rodríguez C., Hechevarría I., Milanés M. (2010). Determinación de la fecha de plantación en *Tagetes lucida* Cav. Rev Cubana Plant Med. 15(4):236-245.
- Agoston D. (1988). The Cholinergic co-transmission. In: The Cholinergic synapse. Handb exp pharmacol. pp. 479-533.
- Ajaj W., Goehde S., Papanikolaou N., Holtmann G., Ruehm S., Debatin J., Lauenstein T. (2004). Real time high resolution magnetic resonance imaging for the assessment of gastric motility disorders. GUT. 53(9): 1256-1261.
- Aquino R., Cáceres A., Morelli S., Rastrelli L. (2002). An extract of *Tagetes lucida* and its phenolic constituents as Antioxidants. J Nat Prod. 65(12): 1773-1776.
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana 2009, Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana.
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=pericón&id=8002>
- Bonilla-Jaime H., Guadarrama-Cruz G., Alarcon-Aguilar F., Limón-Morales O., Vazquez-Palacios G. (2015). Antidepressant-like activity of *Tagetes lucida* Cav. is mediated by 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors. J Nat Med. 69: 463-470.
- Bouras E. y Scolapio J. (2004). Gastric Motility Disorders: Management that Nutritional Status. J Clin Gastroenterol. 38(7): 549-557.
- Broda J., Ramírez T. (2004). Historia y vida ceremonial en las comunidades mesoamericanas: los ritos agrícolas. 1ª. Edición. Etnografía de los pueblos indígenas de México. México. pp. 180.
- Cáceres A., Alvarez A., Ovando A., Samayoa B. (1991). Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 1. Screening of 68 plants against Gram-positive bacteria. J Ethnopharmacol. 31(2): 193-208.
- Cáceres A., Jáuregui E., Herrera D., Logemann H. (1991). Plants used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal infections. 1: Screening of 38 plant extracts for anticandidal activity. J Ethnopharmacol. 33(3): 277-283.
- Cambar P., Tabora E., Andonie H., Alger J., Figueroa R., Martínez E. y Martínez J. (1984). Estudio preliminar de los efectos farmacológicos de: *Tagetes lucida* ("Pericón"). Rev Med Hondur. 52: 142-147.
- Castañeda R., Vilela D., González M., Mendoza S., Escarpa A. (2013). SU-8/Pyrex microchip electrophoresis with integrated electrochemical detection for class-selective electrochemical index determination of phenolic compounds in complex samples. Electrophoresis. 34: 2129-2135.
- Céspedes C., Avila J., Martínez A., Serrato B., Calderon-Mugica J., Salgado-Garciglia R. (2006). Antifungal and antibacterial activities of *Mexican tarragón (Tagetes lucida)*. J Agric Food Chem. 54(10):3521-33527.
- Chaitow L. y Walker J. (2006). Aplicación clínica de las técnicas neuromusculares II. Parte inferior del cuerpo. TOMO II. Edit. Paidotribo. España. pp. 12-13.
- Córdova A. (2015). Determinación del efecto espasmolítico del extracto acuoso de *Tagetes erecta* en el modelo de íleon aislado de cobayo y su posible mecanismo de acción. TESIS DE LICENCIATURA. Facultad de Química, UNAM.
- Damian-Badillo L., Salgado-Garciglia R., Martínez-Muñoz R., Martínez-Pacheco M. (2008). Antifungal properties of some Mexican medicinal plants. Op. Nat. Prod J. 1:27-33.
- Das R., Kravstov G., Ballard H., Kwanet C. (1999). L-NAME inhibits Mg²⁺ induced rat aortic relaxation in the absence of endothelium. Brit J Pharmacol. 128(2): 493-499.

- Eddinger K., Rondon E., Shubayev V., Grafe M., Scadeng M., Hildebrand K., Page L., Malkmus S., Steinauer J., Yaksh T. (2016). Intrathecal catheterization and drug delivery in guinea pigs: A small-animal model for morphine-evoked granuloma formation. *Anesthesiology*. 125(2): 378-394.
- Eglen R., Michael A., Cornett C., Kunysz E., Whiting R. (1989). The interaction of hexamethonium with muscarinic receptor subtypes in vitro. *Brit J Pharmacol*. 98(2): 499-506.
- Ehlert F., Thomas E. (1995). Functional role of M2 muscarinic receptors in the guinea pig ileum. *Life Sci*. 56(11-12): 965-971.
- Elsayed O., Saber H., Azza N., Fayez Z., Mahfouz A., Awaad K., Ayman I., Rasha I. (2015). Some Biological Activities of *Tagetes lucida* Plant Cultivated in Egypt. *Adv Environ Biol*. 9(2): 82-88.
- Esteyneffer, J. (1978) [1712]. Florilegio medicinal de todas las enfermedades. Edición, estudio preliminar, notas, glosario e índice analítico de María de Carmen Anzures y Bolaños. Academia Nacional de Medicina. México.
- Fanning M., Macander P., Drzewiecki G., Middleton E. (1983). Quercetin inhibits anaphylactic contraction of guinea pig ileum smooth muscle. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 71(4): 371-373.
- Fuentes X., Castiñeiras M., Queraltó J. (1998). Bioquímica clínica y patología molecular. Vol. 2. 2da edición. Editorial Reverté, S.A. España. pp. 887
- Furfine E., Harmon M., Paith J., Garvey E. (1993). Selective inhibition of constitutive nitric oxide synthase by L-NG-nitroarginine. *Biochemistry*. 32(33): 8512-8517.
- García R., Soto A., Tellez M., Betancourt N., Arellano R., Leyva C., Serrano B, Morán J. (2015). Testicular Damage in Wistar rats caused by methanolic extracts of plants from the North of Mexico. *J Med Plant Res*. 9(25): 724-730.
- García-Sánchez F., López-Villafranco E., Aguilar-Rodríguez S., Aguilar-Contreras A. (2012). Etnobotánica y morfo-anatomía comparada de tres especies de *Tagetes* que se utilizan en Nicolás Romero, Estado de México. *Bot Sci*. 90(3): 221-232.
- Guyton A., Hall J. (2006). Textbook of Medical Physiology. 11a edición. Editorial ELSEVIER. España. pp. 93-96.
- Hani A. (2014). Antiespasmódicos. *Acta Gastroenterol Latinoam*. 44(2): 57-60.
- Hao M., Foong J., Bornsteon J., Li Z., Vanden P., Boesmans W. (2016). Enteric nervous system assembly: Functional integration within developing gut. *Dev Biol*. 417(2): 168-81.
- Hernández F. (1943). Historia de las Plantas de Nueva España". Imprenta Universitaria México. México. pp. 968-970.
- Hernandez T., Canales M., Flores C., García A., Duran A., Avila J. (2006). Antimicrobial activity of *Tagetes lucida*. *Pharm Biol*. 44(1):19-22.
- Jayme V., Cortés AR. y Aoki K. (1998). Effect on rat uterus contractility of *Tagetes lucida* Cav leaf extracts. *Phyton*. 62(1/2): 161-165.
- Jia- Ming Y., Paul I., Chun- Tao C., Yeung J. (2011). Relaxant effects of Schisandra chinensis and its major ligands on agonist-induced contraction in guinea pig ileum. *Phytomedicine*. 18(13): 1153-1160.
- Jiménez JA. (2015). Evaluación de la actividad espasmolítica del extracto etanólico de la *Annona diversifolia* Saff, una planta de uso medicinal en México, en un modelo *in vitro*. TESIS DE LICENCIATURA. Facultad de Química, UNAM.
- Jiménez K. (2013). Estudio químico y actividad antimicrobiana de la infusión de *Tagetes lucida* Cav. TESIS DE LICENCIATURA. Facultad de Química, UNAM. 3-21.

- Khan AU., Gilani AH. (2009). Antispasmodic and bronchodilator activities of *Artemisia vulgaris* are mediated through dual blockade of muscarinic receptors and calcium influx. *J Ethnopharmacol.* 126(3):480-6.
- Kaneda T., Shimizu K., Nakajyo S., Urakawa N. (1998). The difference in the inhibitory mechanism of papaverine on vascular and intestinal smooth muscle. 355(2-3): 149-157.
- Karaki H., Urakawa N., Kutsy P. (1984). Potassium-induced contraction in smooth muscle. *J Smooth Muscle Res.* 20(6): 427-444.
- Liddle R. (2006). *Gastrointestinal Hormones and Neurotransmitters*, en Felman M., Friedman L., Brandt L., *Gastrointestina and Liver Disease*, 8a. edition. Elsevier Saunders. pp. 3-25
- López M., Cañellas C. (2012). *Manual de plantas medicinales para guinea ecuatorial*. 1ª. Edición. Fundación de Religiosos para la salud (FRS). G.E. pp. 7-9.
- Lopéz F., Jiménez B., Cortés A. y Aoki K. (1990). *Tagetes lucida* Cav. I: Inhibitory effect on smooth muscle contractility. *Phyton.* 51(1): 71-76.
- Marques M., Farías L., Dias D. (2015). Local ethno-botanical knowledge about medicinal plants: an appraisal of quantitative indexes. *Gale Cengage Learning.* 40(3): 156.
- Martínez M. (1969). *Las plantas medicinales de México*. Ediciones Botas. México.
- Martínez M, Bettucci G, Gattuso M, Cortadi A. (2013) Caracteres micrográficos analíticos de hojas, tallos, inflorescencias-flores de *Tagetes lucida* Cav. (Asteraceae-Helenieae). *Dominguezia.* 29(1):29-37.
- Mejia-Barajas J., Montes-Belmont R., Castrejón F., Flores-Moctezuma H., Serrato M. (2011). Propiedades antifúngicas en especies del género *Tagetes*. *Rev Mex Mic.* 34(1): 85-91.
- Montes J., Flores J., Barrón E. (2005). Histamina, receptores y antagonistas. *Rev Med Hosp Gen Mex.* 68(3): 164-169.
- Muñoz-Acevedo A., Kouznetsov V., Stashenko E. (2009). Composición y capacidad antioxidante in-vitro de aceites esenciales ricos en Timol, Carvacrol, trans-Anetol y Estragol. *Salud UIS.* 41(1): 287-294.
- Naidoo V., Dai X., Galligan J. (2010). R-type Ca²⁺ channels contribute to fast synaptic excitation and action potentials in subsets of myenteric neurons in the guinea pig intestine. *Neurogastroenterol Motil.* 22(12): 353-363.
- Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Secretaría de Agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación.
- Ocegueda S., Moreno E. Y Koleff P. (2005). Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. *CONABIO. Biodiversitas.* 62(1):12-15.
- Olvera E. (2007). Estudio fitoquímico y evaluación antimicrobiana de *Tagetes lucida* (Pericón). Tesis de licenciatura. Facultad de Química, UNAM.
- Ortiz B. (1980). Las hierbas de Tláloc en Estudios de Cultura Náhuatl. Vol. 14 Instituto de Investigaciones Históricas-UNAM. México. pp. 288-291.
- Páez X. Fisiología Digestiva para Medicina. (2015). <https://www.google.com.mx/search?q=P%C3%A1ez.+Fisiolog%C3%ADa+Digestiva%2C+2015&aq=chrome..69i57.20857j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>
- Palma J., Badke M., Heisler E., Heck R., Konzgen S. (2015). Explanatory models of the professional sector in relation to medicinal plants. *J Res Fundam Care Online.* 7(3): 2998-3008.
- Pasricha P. (2006). Tratamiento de trastornos de la motilidad intestinal y del flujo de agua; antieméticos; fármacos utilizados en enfermedades biliares y pancreáticas. En Goodman y Gilman. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. pp 983–1009. México, 11ª edición. McGraw Hill.

Pawlina W. y Ross M. (2008). Histología. Texto y atlas color con biología celular y molecular. 5ta. Edición. Médica Panamericana. Buenos Aires.

Pérez-Ortega G., González-Trujano M., Ángeles-López G., Brindis F., Vibrans H., Reyes-Chilpa R. (2016). *Tagetes lucida* Cav.: Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of its tranquilizing properties. *J Ethnopharmacol.* 181(1): 221-228.

Quintero-Romanillo A., Medina-Márquez E., Quiñonez-López J. (2014). Conocimiento y uso de plantas medicinales en la zona urbana de la ciudad de los Mochis, Sinaloa. *Juyyaania.* 2(2): 235-247.

Ramírez A. (2014). Evaluación de la actividad antiespasmódica y antidiarreica del extracto metanólico de *Agastache mexicana* ssp. *xolocotziana* en modelos experimentales. TESIS DE LICENCIATURA. Facultad de estudios superiores Zaragoza, UNAM.

Ramirez-Ortega M., Zarco G., Maldonado V., Carrillo J., Ramos P., Ceballos G., Melendez-Zajgla J., Garcia N., Zazueta C., Chanona J., Suarez J., Pastelin G. (2007). Is digitalis compound-induced cardiotoxicity, mediated through guinea-pig cardiomyocytes apoptosis?. *566(1):* 34-42.

Regalado E., Fernández M. (2011). Chemical composition and biological properties of the leaf essential oil of *Tagetes lucida* Cav. from Cuba. *J Essent Oil Res.* 23(5):63-67.

Roghani M., Baluchnejadmojarad T., Roghani F. (2006). The involvement of L-Type voltage-operated calcium channels in the vascular effect of quercetin in male rats. *IJPR.* 3(1): 199-202.

Romero-Trujillo O., Frank-Márquez N., Cervantes-Bustamante R., Cadena-León J., Montijo-Barrios E., Zárate-Mondragón F., Cázares-Méndez J., Ramírez-Mayans J. (2012). Sistema nervioso entérico y motilidad gastrointestinal. *Acta Pediatr Mex.* 33(4): 207-214.

Samuelsson G., Farah M., Claeson P., Hagos M., Thulin M., Hedberg O., Warfa A., Hassan A., Elmi A., Abdurahman A. (1991). Inventory of plants used in traditional medicine in Somalia. I. Plants of the families Acanthaceae-Chenopodiaceae. *35(1):* 25-63.

Sanders K., Sang Don K., Seungil R., Ward S. (2012). Regulation of gastrointestinal motility-insights from smooth muscle biology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 9(11): 633-645.

Shimizu K., Ichikawa T., Urakawa N., Nakajyo S. (2000). Inhibitory mechanism of papaverine on the smooth muscle of guinea pig urinary bladder. *Jpn J Pharmacol.* 83(2): 143-149.

SSA (Secretaría de Salubridad y Asistencia), FNEUM. 2da edición. Talleres gráficos de la Nación, 1952.

Sernka T. y Jacobson E. (1982). Fundamentos de fisiología gastrointestinal. Editorial Reverté, S.A. España.

Serrano A., Cabrera L., Saldaña M., Ruiz B., Avendaño C. (2003). Riesgos de las plantas medicinales en uso concomitante con medicamentos. *Inf Ter Sist Nac Salud.* 27(6): 161-167.

Singh P., Krishna A., Kumar V., Krishna S., Singh K., Gupta M., Singh S. (2016). Chemistry and biology of industrial crop *Tagetes* Species: a review. *J Essent Oil Res.* 28(1): 1-14.

Smith S., Zambrano D., Méndez-Sánchez S., Rodríguez-Sanabria F., Stashenko E., Duque J. (2014). Essential oils with insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Parasitol Res.* 113(1): 2647-2654.

Tabora E., Cambar P., Andonie H., Alger J., Figueroa R., Martínez E., Martínez J. (1984). Estudio preliminar de los efectos farmacológicos de: *Tagetes lucida* ("Pericón"). *Rev Med Hondu.* 52(3):143-147.

Ventura-Martínez R., Rivero-Osorno O., Gómez C., González-Trujano M. (2011). Spasmolytic activity of *Rosmarinus officinalis* L. involves calcium channels in the guinea pig ileum. *J Ethnopharmacol.* 137(3):1528-1532.

Villarreal-Ibarra EC., Lagunes-Espinoza L. del C., López PA., García-López E., Palma-López DJ., Ortiz-García CF., Oranday-Cárdenas MA. (2015). Evaluación etnofarmacológica de plantas con propiedades hipoglucémicas usadas en la medicina tradicional del sureste de México. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat.* 14(2): 99-112.

Villavicencio-Nieto M., Pérez-Escandón B. (2010). Plantas Tradicionalmente usadas como plaguicidas en el Estado de Hidalgo, México. *Polibotánica.* 30(1):193-238.

Viswanathan V., Hodges K., Hecht G. (2009). "Enteric infection meets intestinal function: how bacterial pathogens cause diarrhea. *Nat Rev Microbiol.* 7(2): 110-119.

Webb R. (2003) Smooth muscle contraction and relaxation. *Adv Physiol Educ.* 27(4): 201-206.

Weber M., Breier M., Ko D., Thangaraj N., Marzan D., Swerdlow N. (2009). Evaluating the antipsychotic profile of the preferential PDE10A inhibitor, papaverine. *Psychopharmacology.* 203(4): 723-735.

Xin Z., Kim E., Lin C., Liu W., Tian L., Yuan Y., Fu J. (2003). Effects of icariin on cGMP-specific PDE5 and cAMP-specific PDE4 activities. *Asian J Androl.* 5(1):15-18.

GLOSARIO

- **Aquenios:** Tipo de fruto secundario producido por ciertas plantas. Tienen un único carpelo y no se abren al madurar.
- **Ápice:** Punta o extremo.
- **Caquexia:** Alteración profunda del organismo que aparece en la fase final de algunas enfermedades y que se caracteriza por desnutrición, deterioro orgánico y gran debilitamiento físico.
- **Carminativo:** Que favorece la expulsión de gases del tubo digestivo.
- **Diaporético:** Que provoca la secreción de sudor.
- **Disentería:** Enfermedad infecciosa que se caracteriza por la inflamación y ulceración del intestino grueso acompañada de fiebre, dolor abdominal y diarrea con deposiciones de mucosidades y sangre.
- **Dispepsia:** Trastorno de la digestión que aparece después de las comidas y cuyos síntomas más frecuentes son náuseas, pesadez y dolor de estómago, ardor y flatulencia.
- **Emenagogo:** Se refiere a los principios activos, medicamentos o remedios a base de plantas que pueden estimular el flujo sanguíneo en el área de la pelvis y el útero, y en algunos casos, fomentar la menstruación.
- **Emético:** Que provoca o estimula el vómito.
- **Estilares:** Tipo de ramas.
- **Exertos:** Son los estambres cuyas antenas sobresalen de la corola.
- **Glabras:** Hojas y tallos que no contienen pelos o tricomas.
- **Hipotensión ortostática:** Es el descenso de presión resultado de un cambio súbito en la posición del cuerpo
- **Infundibuliforme:** Dicho de una flor que tiene forma de embudo.
- **Lanceolada:** Que tiene la forma de una punta de lanza.
- **Ligulada:** Que presenta lígulas, que son apéndices membranosos ubicados en la línea que une la lámina con la vaina.
- **Mal de madre:** Histeria
- **Matorral Xerófilo:** Ecosistema conformado con matorrales en las zonas de escasas precipitaciones, por lo que predomina la vegetación xerófila.
- **Pastizal:** Ecosistemas donde predomina la vegetación herbácea.
- **Papus:** Conjunto de pelos simples o plumosos, cerdas o escamas que rodean a las diminutas flores que corona en frutos, generalmente en asteráceas.
- **Perenne:** Que dura siempre o mucho tiempo.
- **Sésiles:** Término utilizado para expresar la falta de un órgano que sirva de pie o soporte.
- **Suelo franco:** Partes superficiales de un terreno cuya composición cuantitativa está en proporciones óptimas o muy próximas a ellas.