



97
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

2ey
FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

**EFEECTO DE LA TRICOLORINA A SOBRE
LA CONTRACTILIDAD DEL UTERO
GRAVIDO DE LA RATA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

ANDREA RANGEL CORDERO



MEXICO, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	DRA. RACHEL MATA ESSAYAG
VOCAL	DRA. MERCEDES PERUSQUÍA NAVA
SECRETARIO	DR. ROGELIO GREGORIO PEREDA-MIRANDA
1er. SUPLENTE	M. en C. ARTURO VICTOR ROSALES OLIVARES
2do. SUPLENTE	M. en C. PERLA CAROLINA CASTAÑEDA LÓPEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA :

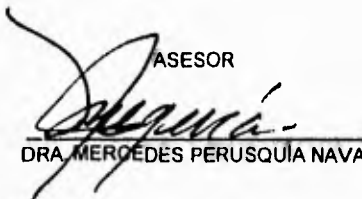
LABORATORIO DE ENDOCRINOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN DEL
DEPARTAMENTO BIOLOGÍA CELULAR DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

EL PRESENTE TRABAJO ES PARTE DEL PROYECTO IN203494 APOYADO POR
DGAPA.

SUSTENTANTE


ANDREA RANGEL CORDERO.

ASESOR


DRA. MERCEDES PERUSQUÍA NAVA.

DEDICATORIAS

Este trabajo y toda mi vida esta dedicada a tí Miguel, gracias por estar siempre conmigo, por todo lo que hemos vivido juntos y lo que nos falta, por ser mi amigo y mi compañero. TE AMO.

A Fabián, que junto con Miguel han sacrificado el tiempo valioso para estar juntos, que Dios te colme de bendiciones mi niño, mi amor.

A Edith E. Cordero, por todo el cariño, amor y comprensión que me haz brindado, por ser un ejemplo de tenacidad y fortaleza en todo momento, por tus valiosos sinceros e incondicionales consejos, por permanecer a mi lado en los momentos más importantes, buenos y malos de mi vida. Gracias mamá.

A Jesús Rangel, por el ejemplo de honestidad y responsabilidad, por haberme dado una educación, que constituye la herencia más valiosa que pudiste haberme dado, te quiero mucho papá.

A mi hermano Pepé, por todo lo que hemos compartido y el apoyo brindado en las buenas y en las malas. Con mucho cariño, te deseo lo mejor de la vida siempre.

A mi hermano Julio, ahora que empiezas tu larga carrera por la vida lucha mucho, esperando que tu camino este lleno de triunfos.

A la señora Guillemina Serrano que junto con Norma y Liz, me han ayudado siempre. Gracias por permitirme formar parte de sus vidas. Con gran cariño y respeto.

A mi familia, mis incondicionales, gracias por todo, especialmente a tío Carlos, que es una persona maravillosa y a tía Blanca, mi amiga.

AGRADECIMIENTOS

Dedicada especialmente a la Dra. Mercedes Perusquia, que gracias a sus sabios consejos, profesionalismo, paciencia, motivación y asesoría se logró llevar a cabo este trabajo. Que sigan los triunfos junto con el bebé.

Al Dr. Rogelio Pereda, ya que sin su gran aportación en el aislamiento y purificación del compuesto Tricolorina A no habría podido llevarse a cabo el presente estudio farmacológico. Así como a todo su equipo de trabajo: Moustapha, Adolfo, Miriam, Alma quienes fueron también colaboradores para la realización de esta tesis.

A Irma Rodríguez por ayudarme con el trabajo del laboratorio y haber hecho la estancia muy agradable.

A todos los integrantes del laboratorio Endocrinología de la Reproducción: Ricardo, Saturnino, Bety, Alejandro, La Sra. Margarita.

A Paty Casas, Norma Ramírez, Javier, Salvador, Fanny, Mayela, Chelo Ovalle, Verónica González (QA/88), y a todos mis demás compañeros de generación, que a pesar de no haber llevado una relación profunda, existe una amistad sincera.

CONTENIDO

	Página
Lista de figuras	i
Lista de gráficas	ii
Lista de tablas	iii
	Página
Resumen	1
I. Antecedentes.	
a) Generalidades.	3
b) Propiedades medicinales de género <i>Ipomoea</i> .	7
c) Antecedentes de <i>Ipomoea tricolor</i> Cav. (Convolvulaceae).	9
d) Distribución.	11
e) Estudio fitoquímico.	13
f) Estructura química.	17
g) Estudios farmacológicos.	19
II. Justificación.	
Planteamiento del problema.	21
III. Hipótesis.	23

IV. Objetivos.	24
V. Metodología.	
a) Material biológico.	25
b) Sistema de registro.	27
c) Experimentos con la Oxitocina.	29
d) Experimentos con la Tricolorina A.	30
e) Evaluación de Datos.	31
VI. Resultados.	
a) Experimentos con la Oxitocina.	33
b) Experimentos con la Tricolorina A.	37
VII. Discusión.	46
VIII. Conclusiones.	48
IX. Bibliografía.	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	<i>Ipomoea tricolor</i> Cav. (Convolvulaceae).	10
Figura 2	Distribución geográfica de <i>Ipomoea tricolor</i> Cav. (Convolvulaceae) en la República Mexicana.	11
Figura 3	Alcaloides aislados de las partes aéreas de <i>Ipomoea tricolor</i> .	14
Figura 4	Estructura de la Tricolorina A.	18
Figura 5	Derivados de la Tricolorina A: Ácido tricolórico (A) y peracetiltricolorina (B).	19
Figura 6	Sistema de registro para tejido aislado, A) anillos uterinos, B) Cámara de incubación, C) Transductor y D) Polígrafo.	28
Figura 7	Planímetro digital utilizado para medir el área bajo la curva de la actividad uterina.	32
Figura 8	Registro típico del efecto excitador de oxitocina (CE ₅₀) sobre la contracción espontánea del útero de rata en la etapa de <i>estro</i> .	33
Figura 9	Registros típicos del efecto de Tricolorina A (Tric.A) sobre la actividad contráctil espontánea del útero aislado de rata gestante (5, 10, 15 y 20 días), observando el efecto de las concentraciones efectivas medias (CE ₅₀) para cada período gestacional.	39
Figura 10	Efecto excitador de la Tricolorina A (Tric. A) a la CE ₁₈ (A, 5.1 µM), CE ₅₀ (B, 13.0 µM) y CE ₈₄ (C, 33.0 µM), sobre la actividad espontánea de útero de rata a la mitad de la gestación (10 días).	45

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1 Curva concentración-respuesta del efecto excitador de oxitocina sobre la contracción espontánea uterina de ratas en la etapa de <i>estro</i> .	33
Gráfica 2 Curva concentración-respuesta del efecto excitador de la Tricolorina A sobre la contracción espontánea de útero grávido aislado de rata de 5 días.	41
Gráfica 3 Curva concentración-respuesta del efecto excitador de la Tricolorina A sobre la contracción espontánea de útero grávido aislado de rata de 10 días.	41
Gráfica 4 Curva concentración-respuesta del efecto excitador de la Tricolorina A sobre la contracción espontánea del útero grávido aislado de rata de 15 días.	42
Gráfica 5 Curva concentración-respuesta del efecto excitador de la Tricolorina A sobre la contracción espontánea de útero grávido aislado de rata de 20 días.	42
Gráfica 6 Comparación de las curvas concentración-respuesta del efecto excitador de la Tricolorina A sobre la contracción espontánea del útero grávido aislado de rata a diferentes días de gestación.	43

LISTA DE TABLAS

Tabla I	Usos populares de algunas especies del género <i>Ipomoea</i> en la medicina tradicional mexicana.	8
Tabla II	Nombres comunes de acuerdo a la distribución de <i>Ipomoea tricolor</i> .	12
Tabla III	Porcentaje del efecto excitador de oxitocina en el útero aislado de rata en <i>estro</i> .	34
Tabla IV	Concentración efectiva del efecto de oxitocina sobre la contracción espontánea del útero de rata en <i>estro</i> .	35
Tabla V	Concentración efectiva media de oxitocina sobre la contracción espontánea del útero de rata <i>in vitro</i> .	36
Tabla VI	Efecto de la Tricolorina A a diferentes días de la gestación sobre la actividad espontánea del útero aislado de rata.	40
Tabla VII	Valores de las concentraciones efectivas (CE) de la Tricolorina A a diferentes días de gestación del útero de rata <i>in vitro</i> .	44
Tabla VIII	Comparación de las concentraciones efectivas medias de la Tricolorina A en diferentes días de la gestación del útero de rata <i>in vitro</i> .	44

RESUMEN

RESUMEN

Con el propósito de ampliar el conocimiento de las propiedades farmacológicas de las resinas glicosídicas presentes en las especies medicinales del género *Ipomoea* (Convolvulaceae) con propiedades laxantes, catárticas y emenagogas, lo cual implica una posible acción sobre el músculo liso, el presente estudio pretende establecer si el uso popular de varias especies de este género como abortivo y promotor del parto se encuentra relacionado con un efecto de los constituyentes de las resinas glicosídicas sobre el músculo liso uterino, para lo cual se determinó la acción de la **Tricolorina A**, glicolípidio mayoritario de la resina de *Ipomoea tricolor*, en diferentes etapas del útero grávido aislado de rata, cubriendo todo el período gestacional del animal (21 días). El compuesto de prueba se evaluó a diferentes concentraciones durante los días 5, 10, 15 y 20 de la gestación, se obtuvieron curvas concentración-respuesta del efecto de la **Tricolorina A** para cada etapa gestacional y su acción se comparó con el efecto excitador de oxitocina. Los resultados mostraron que el efecto de la **Tricolorina A** sobre el útero grávido aislado de rata a los 5, 10, 15 y 20 días provocó un aumento de la actividad contráctil en una relación lineal dependiente de la concentración. Las concentraciones efectivas medias calculadas (CE_{50}) fueron de 51.2, 13.0, 13.0 y 13.2 μM , para cada etapa gestacional. Por otra parte, el efecto excitador de la oxitocina fue considerablemente mayor que el del compuesto estudiado, con una CE_{50} de 33 pM en ratas en *estro*. El

efecto uterotónico encontrado para la **Tricolorina A** puede estar relacionado con el uso que se le ha dado a algunas especies del género *Ipomoea* como abortivo y promotor del parto y, de esta manera, se valida su uso etnomédico. Por otro lado, la diferencia de potencia entre la oxitocina y la **Tricolorina A** puede ser resultado de un diferente sitio de acción en la musculatura lisa, ya que la oxitocina actúa directamente sobre los receptores específicos localizados en la membrana plasmática de la célula miometrial.

ANTECEDENTES

I. ANTECEDENTES.

a) Generalidades.

Las plantas medicinales son un buen ejemplo de la relación existente entre el conocimiento empírico y el científico, y es el análisis de la herbolaria autóctona uno de los antecedentes directos de las ciencias fisiológicas en nuestro país.

Los antecedentes con respecto a la etnomedicina datan desde tiempos de la colonia. Los franciscanos llegados a la Nueva España (1529), entre ellos Fray Bernardino de Sahagún, comisionado por el obispo Zumárraga en 1557 recopiló datos sobre los indígenas, dando origen al llamado "*Códice Florentino*" en náhuatl y a su versión en español, la célebre "*Historia General de las cosas de las Nueva España*", el cual describe nombres y usos de múltiples plantas medicinales usadas por los indígenas (Díaz, 1977). De igual forma, se encomienda a Martín de la Cruz, un curandero indígena, la descripción de sus conocimientos y como resultado aparece en 1552 un códice extensamente ilustrado con dibujos de plantas medicinales, sus nombres náhuas, la descripción de sus efectos y su aplicación. La versión en latín fue realizada por el humanista indígena Juan Badiano, de donde el códice recibe su nombre (De la Cruz y Badiano, 1552). Este manuscrito desapareció por mucho tiempo hasta que fue hallado por el Dr. Upson Clerck en 1929, en la biblioteca del Vaticano. En 1940, una primera edición de "*El Badiano*" fue realizada por la Dra. Emmart (Walcot, 1940) y una segunda fue

hecha en la ciudad de México en 1964 por el fisiólogo Efrén del Pozo en el Seguro Social (De la Cruz y Badiano, 1964).

Otras fuentes adicionales que incluyen la basta información de la etnomedicina mexicana son la "*Historia Natural de la Nueva España*" realizada por Francisco Hernández entre los años de 1571-1576, "*Gazetas de Literatura*" publicación semanal realizada por José Antonio de Alzate (1737-1799). La obra de Sessé y Mociño publicada en México en 1889 y 1894 bajo los títulos: "*Flora Mexicana y Plantae Novae Hispaniae*", "*Ensayo para la Materia Médica Mexicana*" editada en 1832 por la Sociedad Farmacéutica de México, obra que, según Díaz (1977) es la primera de las *Farmacopeas Mexicanas*, dicha obra representa el antecedente más inmediato a una de las etapas de mayor importancia en el estudio de las plantas medicinales a partir del México Independiente de fines del siglo pasado y principios del actual. En la actualidad, existe un extensísimo catálogo de plantas medicinales realizado por el botánico Maximino Martínez, quién en 1934 publica su libro llamado "*Las plantas medicinales de México*" donde recopiló información científica del tema desde el siglo XVI hasta la basta información producida en México entre 1888 y 1917 (Díaz, 1977).

La investigación del potencial terapéutico de los constituyentes bioactivos de las plantas es extensa y existen numerosos ejemplos de aplicación clínica de productos vegetales, como es, en el tratamiento del cáncer, de enfermedades infecciosas de origen microbiano y parasitario, de inflamaciones y alergias, así como para la regulación de la fertilidad.

Son muchos los ejemplos de compuestos bioactivos aislados de plantas y dada la importancia terapéutica encontrada en ellos han sido desarrollados como drogas comerciales, entre los más relevantes tenemos a los **salicilatos** y sus derivados (ácidos y sales), el compuesto que destaca entre éstos es, el ácido acetilsalicílico, su origen es a partir de un glicósido amargo denominado salicina aislado primeramente de la corteza del sauce blanco *Salix alba*, encontrado también en varias especies de los géneros *Salix* y *Populus*, en general son utilizados como analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios (Ferreira *et al.*, 1971; Smith y Willis, 1971; Vane, 1971; Goodman Gilman *et al.*, 1986). La **efedrina** aislada de *Ephedra nevadensis* y otras especies del mismo género; es un potente simpaticomimético, ya que estimula los receptores α , β_1 y β_2 adrenérgicos, es utilizada como broncoespasmódico en el síndrome de Stoke-Adams, así como descongestionante nasal y en ciertos desordenes alérgicos. (Fairchild y Alles, 1967; Goodman Gilman *et al.*, 1986; Loebly *et al.*, 1986; Tyler *et al.*, 1988). Gran número de alcaloides de origen vegetal poseen actividades biológicas de importancia terapéutica, dentro de estos podemos mencionar a la **atropina** aislada de las hojas secas, flores y frutos de la *Atropa belladonna* y la **scopolamina** aislada de varias especies de los géneros *Scopolia* y *Datura*; estos fármacos compiten con la acetilcolina por la terminal nerviosa parasimpática postganglionar (sitio muscarínico) provocando un efecto antiespasmódico, antisecretor, depresivo del sistema nervioso central (Ketchum *et al.*, 1973; Ostfeld y Arguete, 1962; Brand y Whittingham, 1970). La **cafeína**, **teofilina** y **teobromina**

encontradas en semillas de plantas como *Paullinia cupana*, *P. sorbilis*, *P. yaco*, *Thea sinensis*, *Theobroma cacao*, *Coffea arabica*, *C. liberica* y varias especies relacionadas del género *Cola*, son alcaloides que comparten varias acciones farmacológicas de interés terapéutico como estimulantes del sistema nervioso central, del músculo liso cardíaco, diuréticos y relajantes del músculo liso bronquial (Goldstein *et al.*, 1965; Struud *et al.*, 1955; Jacobs *et al.*, 1976).

Así, son numerosos los ejemplos de fármacos con propiedades terapéuticas obtenidos a partir de plantas, que han contribuido al desarrollo de la medicina alópatica y se puede inferir que el estudio farmacológico de las plantas con base en la etnomedicina es importante para la búsqueda de los efectos terapéuticos de las plantas con propiedades curativas para la obtención de principios activos que conlleven al desarrollo de nuevos medicamentos y/o diseño de fármacos.

b) Propiedades medicinales del género *Ipomoea*.

La aplicación más importante en la medicina tradicional mexicana de varias especies de los géneros: *Convolvulus*, *Ipomoea*, *Exogonium*, *Operculina* y *Merremia*, pertenecientes a la familia Convolvulaceae, es como laxantes, propiedad asociada a las resinas glicosídicas características de esta familia, la parte vegetal comúnmente empleada es la raíz (Millspaugh, 1974).

En el presente trabajo es de particular interés la información acerca del uso de varias especies del género *Ipomoea* en el tratamiento de trastornos gastrointestinales (catártico y laxante), así como en trastornos relacionados con la reproducción de la mujer (emenagogo, trastornos menstruales) y su uso se ha relacionado también en la producción de leche durante la lactancia (MacDougall, 1960; Matuda, 1965; Wallis, 1966; Martínez, 1953, 1979; González Elizondo, 1984; Soto Nuñez, 1987; Castro Ramírez, 1988; Linares *et al.*, 1990), (ver Tabla I).

Tabla 1. Usos populares de algunas especies de género *Ipomoea* en la medicina tradicional mexicana.

Nombre científico	Nombre común	Parte vegetal	Uso
<i>Ipomoea purga</i>	Toiompali, Jalapa mexicana, de Veracruz.	extractos acuosa de las partes aéreas tubérculos desecados	Propiedades diuréticas, para curar llagas y úlceras Potente catártico, laxante, emético, antielmíntico, emmenagogo.
<i>Ipomoea batatas</i>	Camote	partes aéreas (fomentos) tubérculo	Tratamiento de tumores Como alimento
<i>Ipomoea tyrianthina</i> (<i>Ipomoea orizabensis</i>)	Jalapa de Orizaba	raíz desecada	Propiedades semejantes a <i>I. purga</i> .
<i>Ipomoea stans</i>	Tumbavaqueros Qulebraplatos (Durango) Soyoquilitil (Puebla)	rizomas cocimiento de la raíz Infusión de la raíz cocimiento de las hojas	Purgante drástico colecínico, males cardíacos, tratamientos de desordenes neurológicos: epilepsia, histeria, Mal de San Vito, ataques epilépticos Trastornos biliares Se toma durante la menstruación para evitar el embarazo, Producción de leche durante la lactancia.
<i>Ipomoea purpurea</i>	Manto	hojas	Evitar el embarazo y producción de leche
<i>Ipomoea tricolor</i> (<i>Ipomoea violacea</i>)	Manto de Virgen Badah negro	semillas	analgésico y alucinógeno.
<i>Ipomoea nil</i> (L.)	Amolillo	semillas	Catártico Enjuagues para promover el crecimiento del cabello.
<i>Ipomoea pes-caprae</i>	Rifonina	infusiones, fomentos, emplastos y cataplasmas de las hojas	Afecciones renales, antitumoral
<i>Ipomoea pauciflora</i>	Corteza de Cahahuatl Palo flojo Palo bobo	corteza (agua de uso o baños) hojas	Tratamiento de tumores cancerosos, antihistamínico.

Información obtenida de: MacDougall, 1960; Matuda, 1965; Wallis, 1966; Martínez, 1953, 1979; González Elizondo, 1984; Soto Nuñez, 1987; Castro Ramírez, 1988; Linares *et al.*, 1990.

c) Antecedentes de *Ipomoea tricolor* Cav. (Convolvulaceae).

La planta *Ipomoea tricolor* Cav. (sinonimia *I. violacea* L.), pertenece a la familia Convolvulaceae (Fig. 1), el nombre de la familia proviene del latín *convolvere* que significa entrelazarse, refiriéndose a la forma de crecimiento de la planta, ya que generalmente estas son enredaderas que se trepan enroscándose bajo un soporte (volubles) (Grieve, 1982). La planta es ramificada, lampiña, hojas enteras ovaladas con terminación en punta y nervaduras prominentes en ambas caras, de 4-11 cm de largo por 3-9 cm de ancho, corola infundibuliforme azulosa de 5-7 cm de largo, cápsulas ovaladas 12-13 mm de largo, vellosas, hilio aterciopelado, semillas negras o parduscas de 5 mm de largo finamente aterciopeladas, florece de agosto a noviembre (Matuda, 1965; Lilloa, 1953). Una característica quimiotaconómica de las convolvuláceas es la presencia de hileras de células secretoras de resinas glicosídicas en los tejidos florales y sobre todo en las raíces (Wallis, 1966; Millspaugh, 1974; Tyler *et al.*, 1988).



Figura.1. *Ipomoea tricolor* Cav. (Convolvulaceae).

d) Distribución.

La localización de *Ipomoea tricolor* en la República Mexicana se limita a los estados de Durango, Jalisco, Michoacán, Veracruz, estado de México, Guerrero, Morelos, Oaxaca y Yucatán (Fig. 2.). Esta especie se introdujo en Centro y Sudamérica, hasta Argentina, como una planta ornamental (Matuda, 1965).



Figura 2. Distribución geográfica de *Ipomoea tricolor* Cav. (Convolvulaceae) en la República Mexicana.

La diversidad de nombres comunes con los que se asigna a *Ipomoea tricolor* se encuentran relacionados con su localización y, las características del microambiente en que crece la planta son climas semiáridos-húmedos (ver Tabla II).

Tabla II. Nombres comunes de acuerdo a la distribución de *Ipomoea tricolor*.

Localización	Nombre común	Microambiente
D.F. (Coyoacán)	Manto	Cultivada
Estado de México	Manto	
Guanajuato	Tumbavaqueros Yedra	Semiárido
Guadalajara	Manto de Virgen	
Guerrero		Cálido-seco
Durango	Quebraplatos	Semiárido
Hidalgo	Tumbavaqueros	Semiárido
Morelos (noreste)	Manto de la virgen Quebraplatos Don Diego de día	Semicálido-húmedo Suelo arenoso bosque tropical deciduo
Michoacán		Cálido-semihúmedo
Oaxaca	Badon negro Quebraplatos	Semiárido-húmedo
Puebla	Soxoquilitil	
Querétaro	Tumbavaqueros	Semitropical
Veracruz	Manto	Semicálido- subtropical
Yucatán	Tumbavaqueros	Semicálido-húmedo

Los datos de esta tabla fueron recopilados de muestras florales de *Ipomoea tricolor* registradas en el Herbario Nacional del Instituto de Biología de la UNAM.

e) Estudio fitoquímico.

Las especies pertenecientes a las convolvuláceas poseen glicolípidos de estructura compleja en forma de resinas, además de un alto peso molecular lo que ha dificultado el aislamiento de sus constituyentes individuales, siendo los productos de su hidrólisis alcalina (ácidos glicosídicos y los ácidos volátiles) la única información utilizada por los farmacognostas para fines de identificación y clasificación de las materias primas (Wagner, 1973; Wagner *et al.*, 1978), recientemente, varios investigadores se han dedicado a la purificación y al conocimiento de la compleja estructura molecular de los constituyentes individuales de las resinas glicosídicas de varios géneros de la familia Convolvulaceae, entre los que se pueden mencionar, los trabajos dirigidos por Kawasaki y Miyahara (Ono y cols., 1989 a, b, 1990, 1991; Noda y cols., 1987, 1988a, b, c, 1990, 1992 a, b).

Las semillas de *Ipomoea tricolor* son usadas como alucinógenos en los rituales mágicos de los indios zapotecas (MacDougall, 1960). Esta actividad biológica se asocia con el contenido alcaloideo de tipo ergolina, encontrado en las semillas (Hoffman, 1963; Hernández, 1982), como en las partes aéreas (Pereda-Miranda, 1994), ver Fig. 3, donde se ha demostrado que la distribución de ergolinas en plantas superiores está limitada a algunos géneros de la familia Convolvulaceae (Der Maderosian, 1967; Tyler *et al.*, 1988).

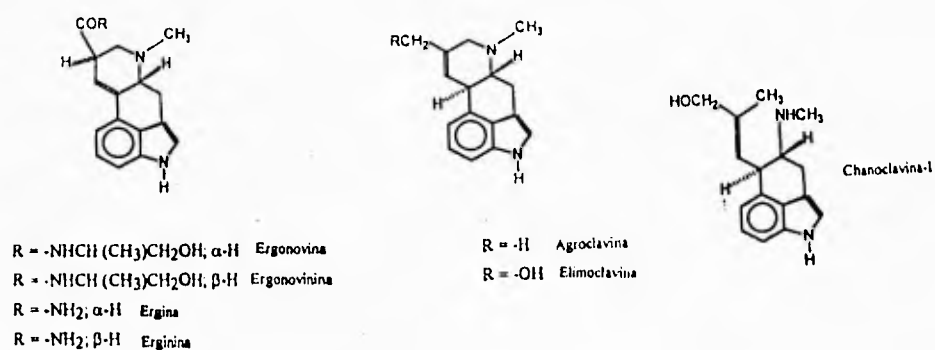


Figura 3. Alcaloides aislados de las partes aéreas de *Ipomoea tricolor*.

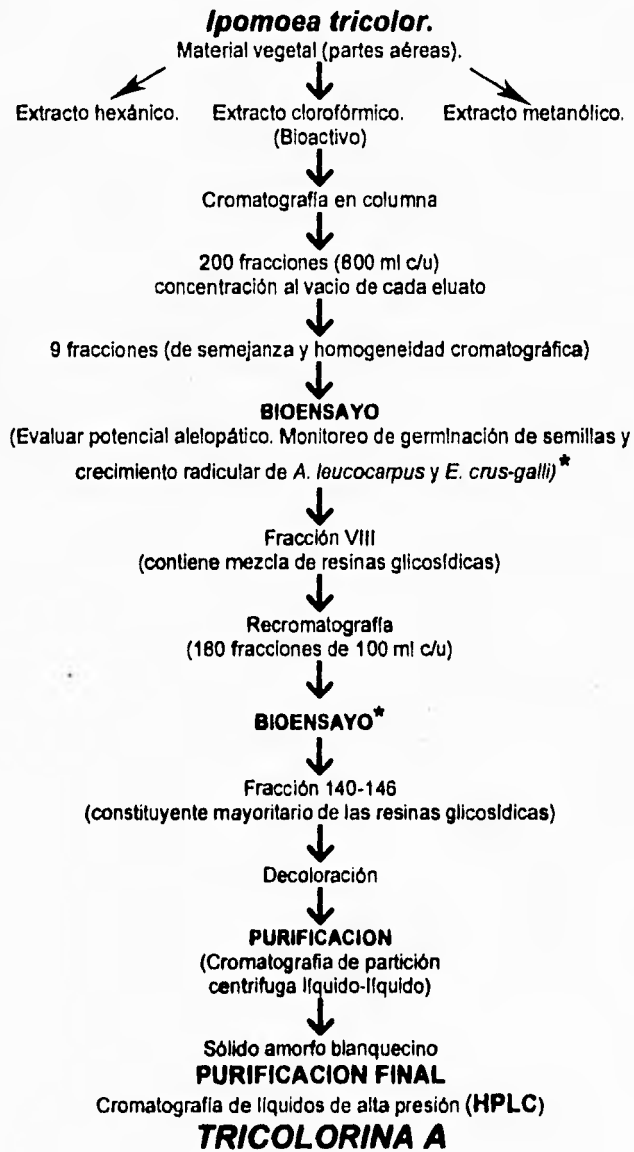
En diversas partes del mundo varias especies del género *Ipomoea* se ha utilizado como potentes catárticos, actividad asociada a las resinas glicosídicas características de las convolvuláceas (Wallis, 1966; Millspaugh, 1974). En zonas tropicales de México, esta planta es utilizada para el control del crecimiento de plantas nocivas (Ramos *et al.*, 1973; Anaya *et al.*, 1987a, b). De igual forma, en los plantíos de caña de azúcar en el estado de Morelos, Méx., es utilizada como cultivo de cobertura, especialmente durante los meses de agosto a octubre,

asociando su poderosa actividad como un herbicida natural (potencial alelopático) a la presencia de las resinas glicosídicas (Anaya *et al.*, 1990).

El aislamiento del constituyente bioactivo mayoritario (**Tricolorina A**) de la resina, se realizó mediante un fraccionamiento cromatográfico biodirigido del extracto orgánico total. Este proceso permitió la obtención de varias fracciones primarias que fueron evaluadas utilizando ensayos de germinación de semillas y crecimiento radicular para monitorear la actividad biológica (evaluación del potencial alelopático). Estos mismos se emplearon en las distintas etapas del proceso de aislamiento del principio activo (Pereda-Miranda *et al.*, 1993). A continuación se resume el proceso para el aislamiento de la **Tricolorina A**. (ver diagrama).

Este compuesto representa el 85% del crudo de la mezcla de los constituyentes de las resinas glicosídicas.

A pesar de desconocer el mecanismo de acción de la **Tricolorina A** como herbicida natural, se postula una posible acción ionofórica por parte de las resinas glicosídicas sobre la membrana vegetal (Kitagawa *et al.*, 1989; Pereda-Miranda, 1994).



f) Estructura química.

La **Tricolorina A** corresponde a la fórmula molecular $C_{50}H_{86}O_{21}$, se aisló como un sólido blanco, ópticamente activo ($[\alpha]_D -30.34^\circ$), peso molecular de 1022, pf 118-120°C. Las técnicas empleadas para su aislamiento-purificación y elucidación estructural fueron la cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC) y la resonancia magnética nuclear de alta resolución (300 y 500 MHz), respectivamente. El análisis espectrocópico de la molécula permitió establecer la presencia de un tetrasacárido lineal integrado por, tres moles de metilpentosa, una correspondiente a la fucosa y dos correspondientes a la ramnosa, una mol de hexosa correspondiente a la glucosa en la que el C-3 se encuentra parcialmente acilado y se combina con el grupo carboxilo de la aglicona, el ácido jalapínico (ácido 11(S)-hidroxihexadecanoico), formando un éster macrocíclico y un ácido volátil correspondiente al ácido metilbutanoico (mba) unido en las posiciones C-2 y C-4 de la ramnosa interna, el nombre químico asignado es el de: 11-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-O- α -L-{2-O-(2S-metilbutiril)-4-O-(2S-metilbutiril)}-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-O- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido 11(S)-hidroxihexadecanoico-(1,3"-lactona), (ver Fig. 4).

Se obtuvieron varios derivados de la **Tricolorina A**: el **ácido tricolórico**, producto de la hidrólisis alcalina (Fig. 5A) y la **peracetiltricolorina**, producto de la acetilación (Fig. 5B). En el primer derivado, la **Tricolorina A** pierde la estructura macrocíclica y en el segundo los grupos hidroxilo se encuentran acetilados (Pereda-Miranda *et al.*, 1993).

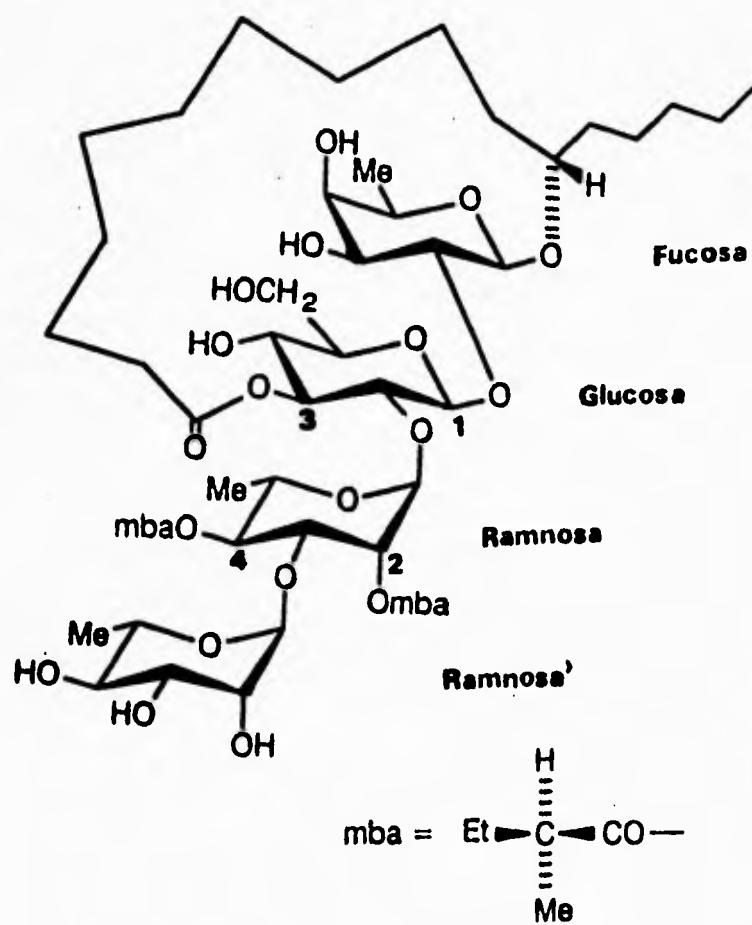


Figura 4. Estructura de la Tricolorina A.

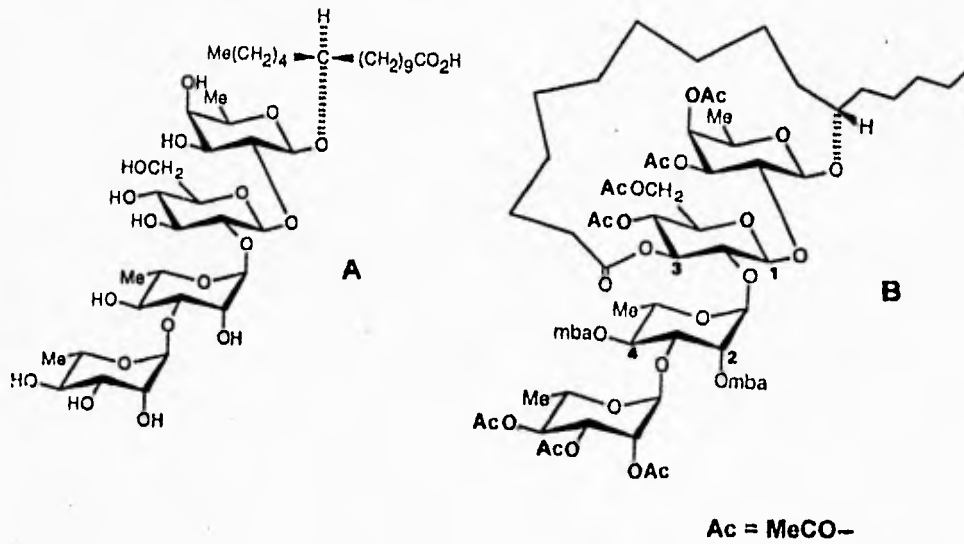


Figura 5. Derivados de la Tricolorina A: Ácido tricolórico (A) y peracetiltricolorina (B).

g) Estudios farmacológicos.

Teniendo como antecedente etnomédico que algunas especies del género *Ipomoea* se han utilizado como potentes caláticos, laxantes o purgantes en la medicinal tradicional mexicana (Linares *et al.*, 1990; Martínez, 1953) y de estudios farmacológicos previos, los cuales reportan efectos antimicrobianos (Beiber *et al.*, 1986; Calson *et al.*, 1948), citotóxicos (Harrison *et al.*, 1985), antitumorales (Beiber *et al.*, 1986; Sarin *et al.*, 1973; Hartwell, 1968), antiespasmódicos (Pongprayoon *et al.*, 1989; 1991; Wasuwats, 1970; Gupta *et al.*, 1967; Khana y Gupta, 1967),

antiinflamatorios (Ponprayoon *et al.*, 1990), espasmogénicos y actividad oxiótica (Matin *et al.*, 1969), se realizó una valoración del potencial biológico de *Ipomoea tricolor*, específicamente de la **Tricolorina A**, demostrando un efecto inhibitor del crecimiento de *Staphylococcus aureus* (efecto antimicrobiano), la concentración mínima inhibitoria es de 1.8 µg/ml. Este mismo compuesto presentó una importante acción tóxica para las larvas de *Artemia salina*, obteniéndose una concentración letal media (CL₅₀) de 18.2 µg/ml. Este glicolípido demostró un efecto citotóxico significativo en un panel de líneas celulares cancerosas y la dosis efectiva media (DE₅₀) para los cultivos de células de tumores mamarios y de leucemia de múridos es de 2.2 µg/ml. Los derivados de la **Tricolorina A** (ác. tricolórico y peracetiltricolorina) no muestran ningún efecto citotóxico, asociándose entonces esta actividad con la presencia de la macrolactona y de las propiedades hidrofílicas conferidas por los carbohidratos del producto natural. Además la **Tricolorina A** presenta una acción moduladora sobre la actividad enzimática de la proteína cinasa C (PKC), la concentración inhibitoria media (CI₅₀) fue de 44.1 µg/ml (Pereda-Miranda *et al.*, 1993).

***JUSTIFICACIÓN,
HIPÓTESIS
Y
OBJETIVOS***

II. JUSTIFICACIÓN.

Planteamiento del problema.

La evaluación farmacológica del género *Ipomoea* ha sido poco estudiada, considerando las principales propiedades curativas que se le otorgan a *Ipomoea purga*, *I. tyrianthina* e *I. stans*, para el alivio de enfermedades gastrointestinales (catártico, laxante) y, en específico, su uso como abortivo e inductor del parto, pueden ser atribuidas a la presencia de las resinas glicosídicas presentes en estas especies, lo cual sugiere que otras especies del mismo género, como es la *Ipomoea tricolor*, que contiene metabolitos similares presenten las mismas propiedades.

Con el reciente aislamiento y purificación del componente bioactivo mayoritario, de la planta *Ipomoea tricolor* denominado con el nombre trivial de **Tricolorina A**, se ha podido valorar algunas propiedades biológicas como: citotoxicidad, efecto sobre el crecimiento microbiano y tumoral, así como el efecto modulador de la actividad enzimática de la proteína cinasa C (PKC). Sin embargo, aún no se ha determinado su posible efecto sobre la actividad del músculo liso y, de esta manera, correlacionar la actividad biológica con las propiedades medicinales del género *Ipomoea*.

Debido al restablecimiento de problemas gastrointestinales, así como, al empleo de estas plantas como abortivo y promotor del parto, el presente protocolo

propone la evaluación del potencial modulador de la actividad contráctil de la musculatura lisa mediante la acción de los constituyentes de las resinas del género *Ipomoea*. De tal suerte que, resulta de gran interés el estudio preclínico del nuevo compuesto, aislado de *Ipomoea tricolor*, la **Tricolorina A**, y se pretende correlacionar su acción biológica en el útero grávido de rata , sustentando esta posible actividad uterotónica en la información etnomédica sobre el empleo en la medicina tradicional mexicana de varias especies del género *Ipomoea* para prevenir y detener embarazos (González Elizondo, 1984; Castro Ramírez, 1988; **Matin et al.**, 1969).

III. HIPÓTESIS.

Con base en las propiedades catárticas de las resinas glicosídicas presentes en el género *Ipomoea* y el uso como emenagogo de algunas especies. Es factible que la **Tricolorina A**, componente bioactivo mayoritario de *Ipomoea tricolor* Cav. (Convolvulaceae), presente un efecto modulador de la actividad contráctil espontánea del útero grávido, produciendo un efecto excitador al promover las contracciones uterinas.

IV. OBJETIVOS.

GENERAL.

Caracterizar el efecto de la **Tricolorina A** sobre la contractilidad uterina espontánea de la rata en diferentes etapas de la gestación.

SECUNDARIOS.

a) Probar diferentes concentraciones de la **Tricolorina A** y construir las curvas concentración-respuesta del efecto observado en diferentes etapas gestacionales del útero de la rata *in vitro*.

b) Comparar la potencia del efecto excitador de la **Tricolorina A** con el efecto de la oxitocina.

c) Determinar en que etapa de la gestación, el útero es más sensible al efecto de la **Tricolorina A**, estableciendo la acción de este compuesto durante la gravidez.

METODOLOGÍA

V. METODOLOGÍA.

a) Material biológico.

Se utilizó el útero grávido proveniente de ratas gestantes hembra adultas de la cepa Wistar, con un peso aproximado de 180-200 g. Los animales se mantuvieron en un bioterio a una temperatura de 20-22°C, bajo un ciclo de luz-obscuridad de 12-12 hrs y alimentadas con purina 5001 y agua *ad libitum*.

La gestación se determinó de la siguiente manera; se obtuvieron muestras del exudado vaginal con una pipeta pasteur de punta roma que contenía una solución salina isotónica al 0.9% (0.5 ml), la cual se introdujo en la vagina, retirándola inmediatamente con un succionador de goma. La muestra fresca se colocó en un portaobjetos y se observó en un microscopio óptico Zeiss, utilizando el aumento de 10x (10/0.22). La diferencia en la citología vaginal sirvió para identificar las diferentes fases del ciclo estral de la rata. Transcurridos dos ciclos estrales consecutivos, el primer grupo de animales se destinó para los bioensayos en la fase del *proestro*, caracterizado en el frotis por abundancia de células basales (células redondas con núcleos grandes y ausencia de leucocitos), en esta fase estral cada hembra fue colocada con una rata macho adulta de la cepa Wistar de un peso aproximado de 300 g, con la finalidad de apareamiento, para obtener ratas gestantes de 5, 10, 15 y 20 días, y de esta manera cubrir todo el período gestacional del animal (21 días). El primer día de gestación fue determinado por la presencia de espermatozoides en el frotis (90% de los casos) o la presencia de abundantes leucocitos (un *diestro*

aparente), ya que durante todo el período gestacional los leucocitos son permanentes, considerando el primer *diestro* como día uno de la gestación. Un segundo grupo de animales se destinó para los bioensayos en la fase del *estro*, diferenciado por la presencia en el frotis de abundantes células de descamación (células amorfas y ausencia de leucocitos). Esta etapa se caracteriza por la presencia de niveles elevados en la concentración de estrógenos (Hafez, 1970, Austin y Short, 1972, De Alba, 1985).

Una vez cumplida la fase estral o la etapa gestacional requerida, los animales fueron sacrificados por dislocación cervical, posteriormente se obtuvo el útero mediante una incisión en el abdomen y se procedió a hacer la histerectomía. El útero se colocó en una caja de Petri que contenía una solución Ringer (Krebs-Henseleit) cuya composición fue la siguiente (en mM): glucosa 12.0, NaHCO₃ 25, NaCl 119, KCl 4.6, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.2, CaCl₂ 1.5. La solución se mantuvo a un pH de 7.4, que se ajustó mediante burbujeo constante de una mezcla gaseosa de O₂-CO₂ (95:5) y a una temperatura de 37°C. Para los casos de ratas en *estro* y úteros grávidos de 5 y 10 días, los cuernos uterinos fueron cortados transversalmente en anillos de aproximadamente 1 cm de longitud; para los casos de úteros grávidos de 15 y 20 días, donde el útero se encuentra bastante distendido (debido al crecimiento de los embriones), se recurrió a un corte longitudinal a través del lumen con el fin de sacar los embriones y las placentas y utilizar segmentos uterinos longitudinales de

aproximadamente 1 x 0.5 cm; los fetos de las ratas de 20 días de gestación fueron sacrificados en una cámara de éter.

b) Sistema de registro

Para este estudio se empleó un sistema de registro isométrico vertical para tejido aislado. Cada fracción de tejido se colocó en una cámara de incubación, la cual contenía 10 ml de solución Ringer Krebs-Henseleit a la composición antes descrita, burbujeada constantemente mediante la mezcla gaseosa de 5 % de CO₂ en O₂ con el fin de mantener el pH a 7.4 y a una temperatura de 37°C (mantenida mediante un baño recirculador). En estas condiciones, el tejido en cada cámara, se sujetó de un extremo al piso de esta y del otro extremo a un transductor de fuerza Grass Mod. FT 03C, el cual detectó las señales mecánicas de las contracciones y las envió a un polígrafo Grass Mod. 79 de cuatro canales (Fig. 6). La fuerza de tensión empleada en el tejido fue de 10 mN (1 g), lo cual corresponde a 2 cm de desplazamiento de la pajilla.

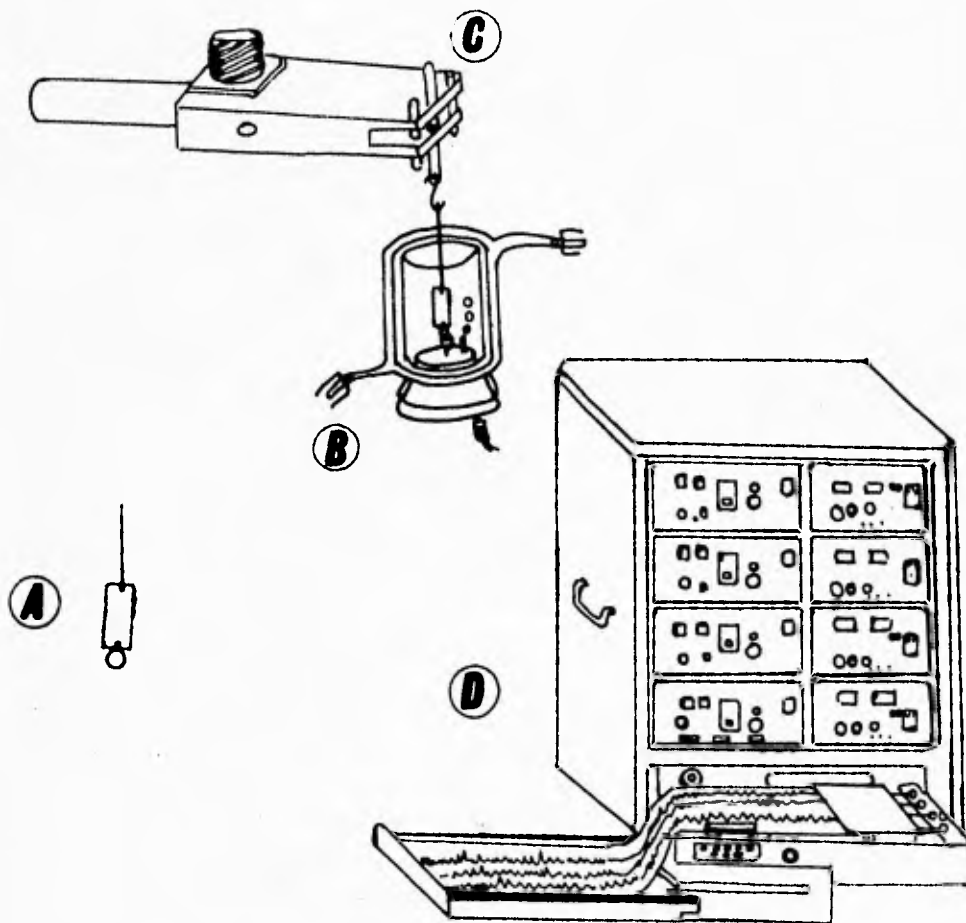


Figura 6. Sistema de registro isométrico convencional para tejido aislado, A) Anillos uterinos, B) Cámara de incubación (con sistema recirculador y de burbujeo de gas), C) Transductor y D) Polígrafo.

Después de un período de tensión de aproximadamente 20 min, siguió un período de 20-30 min para estabilizar al tejido a las condiciones *in vitro*, seguido de un período de 10 min que fue considerado como control (100% de actividad contráctil), inmediatamente se adicionó el compuesto de prueba, registrando su efecto durante 10 min para ser comparado con el control.

c) Experimentos con la Oxitocina.

Oxitocina, L- Cisteinil - L-tirosil - L- isoleucil - L-glutaminil- L- asparaginil- L- cisteinil - L- prolil - L- leucinglicinamida ciclica (1→6) disulfuro 9 Cl, obtenida en solución inyectable por los Laboratorios Pisa, México, conocida con el nombre comercial de Oxitopisa, cada ampoyeta contiene 1 ml de hormona sintética a una concentración de 5UI (Vademecum Farmacéutico, 1993).

Con la finalidad de obtener un punto de referencia (control positivo) para comparar la potencia de la **Tricolorina A**, al producir un efecto excitador en el útero, se decidió construir una curva concentración-respuesta de un compuesto conocido con actividad uterotónica, como es la oxitocina (Caldeyro-Bercia y Haller, 1961; Fuchs y Poblete, 1970; Harvey, 1975; Geenspon, 1988). Esta hormona se disolvió en agua bidestilada, cuyo volumen final en la cámara de

incubación fue de 0.1%, el cual no afecta al experimento y se ensayaron diferentes concentraciones de manera no acumulativa, es decir, que cada concentración se probó en experimentos independientes (6.15, 12.40, 24.80 y 49.60 μM) en ratas en *estro*. Esta etapa se eligió debido a que es bien conocido que en la rata los receptores oxitócicos son dependientes de estrógenos (Soloff y Swartz, 1974; Soloff, 1975; Alexandrova y Soloff, 1980 a, b, c.).

d) Experimentos con la Tricolorina A.

La **Tricolorina A**, 11-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-O- α -L-(2-O-(2S-metilbutiril)-4-O-(2S-metilbutiril))-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-O- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido 11(S)-hidroxihexadecanoico-(1,3"-lactona), fue proporcionada por el Dr. Rogelio Pereda Miranda del Depto. de Farmacia de la División de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Química, UNAM. Se ensayaron diferentes concentraciones, en forma no acumulativa, a los 5 días de gestación (12.50, 25.00 y 50.00 μM), y a los 10, 15 y 20 días de gestación (6.25, 12.5 y 25.00 μM). El compuesto de prueba fue disuelto en etanol absoluto a una concentración final en el baño de 1.71×10^{-2} M para el disolvente utilizado como vehículo (esta concentración no produce ningún efecto sobre la actividad uterina), La actividad del compuesto de prueba se evaluó inmediatamente después de los 10 min utilizados para registro del control (actividad espontánea

del mismo tejido). También, el efecto del compuesto de prueba se ensayó durante 10 min y su respuesta se comparó con la generada por el control inicial antes mencionado.

e) Evaluación de los datos.

Se construyeron las curvas concentración-respuesta en la etapa de *estro* para la oxitocina (control positivo) y en el útero grávido de la rata para el compuesto de prueba, la **Tricolorina A**. Se obtuvo la concentración efectiva media (CE_{50}) que representa la concentración a la cual el compuesto de prueba causa el 50% de excitación máxima sobre la contracción espontánea uterina. Los límites de confianza y la pendiente de la recta se calcularon de acuerdo con el método de Litchfield y Wilcoxon (1949).

La actividad contráctil uterina se evaluó porcentualmente midiendo el área bajo la curva mediante el uso de un planímetro digital TAMAYA Mod. Planix 6 (Fig.7). Los resultados fueron cuantificados obteniendo las medias \pm desviación estándar (DE), basados en un número total de anillos/tejido uterino de $n \geq 6$.



Figura 7. Planímetro digital utilizado para medir el área bajo la curva de la actividad uterina.

RESULTADOS

VI. RESULTADOS.

a) Experimentos con la Oxitocina.

Como era de esperarse, la oxitocina produjo un efecto excitador de la contracción espontánea del útero de rata en *estro* (Fig. 8), el cual fue dependiente de la concentración.

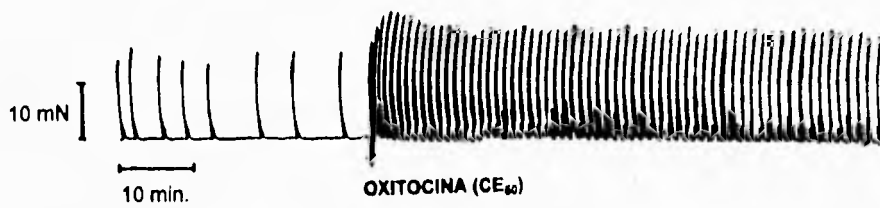
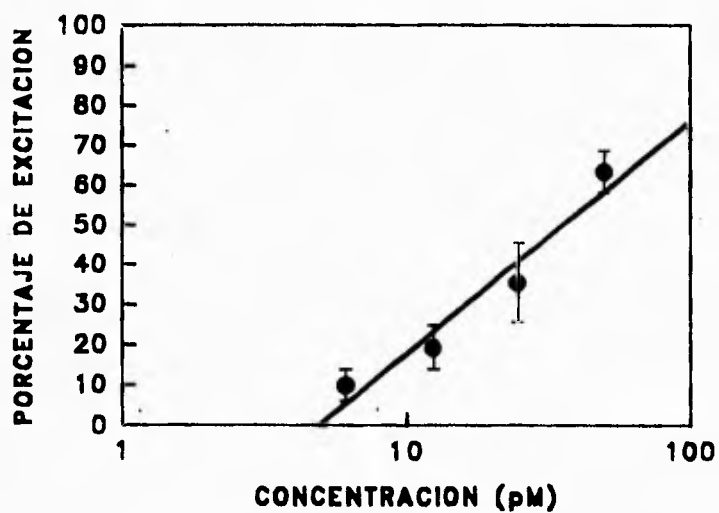


Figura 8. Registro típico del efecto excitador de la oxitocina ($CE_{50}=33 \text{ pM}$) sobre la contracción espontánea de ratas en la etapa de *estro*.

Las diferentes concentraciones probadas de oxitocina se muestran en la Tabla III, donde se observa que el efecto excitador tiene una relación lineal dependiente de la concentración, con estos datos se construyó la curva concentración-respuesta (Gráfica 1) y, por interpolación, se obtuvieron las concentraciones efectivas para el 16, 50 y 84 % de respuesta, obteniendo una concentración efectiva media (CE_{50}) de 33 pM (Tabla IV). Se calcularon los límites de confianza de la concentración efectiva media y la pendiente de la recta (Tabla V).

Tabla III. Porcentaje del efecto excitador de oxitocina en el útero aislado de rata en *estro*.

concentración (pM)	% Excitación $n \geq 6 \pm DE$
6.15	9.93 \pm 4.06
12.40	19.92 \pm 5.37
24.80	35.40 \pm 9.83
49.60	63.30 \pm 5.16



Gráfica 1. Curva concentración-respuesta del efecto excitador de oxitocina sobre la contracción espontánea uterina de ratas en *estro*. Los puntos representan las medias ($n \geq 6$) y las barras verticales la desviación estándar (DE).

Tabla IV. Concentraciones efectivas del efecto de oxitocina sobre el útero aislado de rata en *estro*.

CE 16 (pM)	CE 50 (pM)	CE 84 (pM)
8.2	33	130*

Los valores fueron obtenidos por interpolación en la gráfica 1, según el método de Litchfield y Wilcoxon (1949).

*Valor teórico obtenido por extrapolación en la gráfica 1.

Tabla V. Concentración efectiva media de oxitocina sobre la contracción espontánea del útero de rata *in vitro*.

CE 50 (pM)	Límite inferior - Límite superior	Pendiente
33	15.11 - 72.07	1.21

Valores obtenidos por el método de Litchfield y Wilcoxon (1949).

b) Experimentos con la Tricolorina A.

El vehículo utilizado para disolver la **Tricolorina A** (Etanol 1.71×10^{-2} M) no afectó la actividad contráctil uterina. Por su parte, la **Tricolorina A** mostró un efecto excitador sobre la contracción espontánea del útero grávido de la rata a lo largo de todo el período gestacional (Fig. 9). El porcentaje del efecto excitador para cada una de las diferentes concentraciones utilizadas se muestra en la Tabla VI, donde se observa que este efecto sigue una relación lineal dependiente de la concentración, (gráficas 2-5). Por interpolación en las curvas concentración-respuesta se obtuvieron las concentraciones efectivas para el 16, 50 y 84% de respuesta (Tabla VII) y a partir de las respectivas concentraciones efectivas medias de cada período gestacional se obtuvieron sus límites de confianza y la pendiente de la recta (Tabla VIII). En la gráfica 6 se observa que la mayor pendiente corresponde a la curva generada para los 15 días de gestación en contraste con el efecto producido a los 5 días de gestación.

La figura 10 muestra el efecto excitador de la **Tricolorina A** a las concentraciones efectivas CE_{16} , CE_{50} y CE_{84} sobre la contracción espontánea del útero de rata a los 10 días de gestación, donde se observa el aumento de la actividad contráctil al momento de la adición del compuesto. La CE_{50} provoca un aumento de la frecuencia de las contracciones y la CE_{84} genera un aumento del tono, la frecuencia y la amplitud de las contracciones. Sin

embargo, se observó que la amplitud de la contracción disminuye una vez que transcurren 20 min del ensayo y al cabo de 2 hrs disminuyó hasta en un 60%; en contraste la frecuencia persistió, aumentado el tono de la contracción. Al cabo de varios lavados el tejido uterino no recuperó su actividad contráctil espontánea y continuo deteriorándose con el transcurso del tiempo.

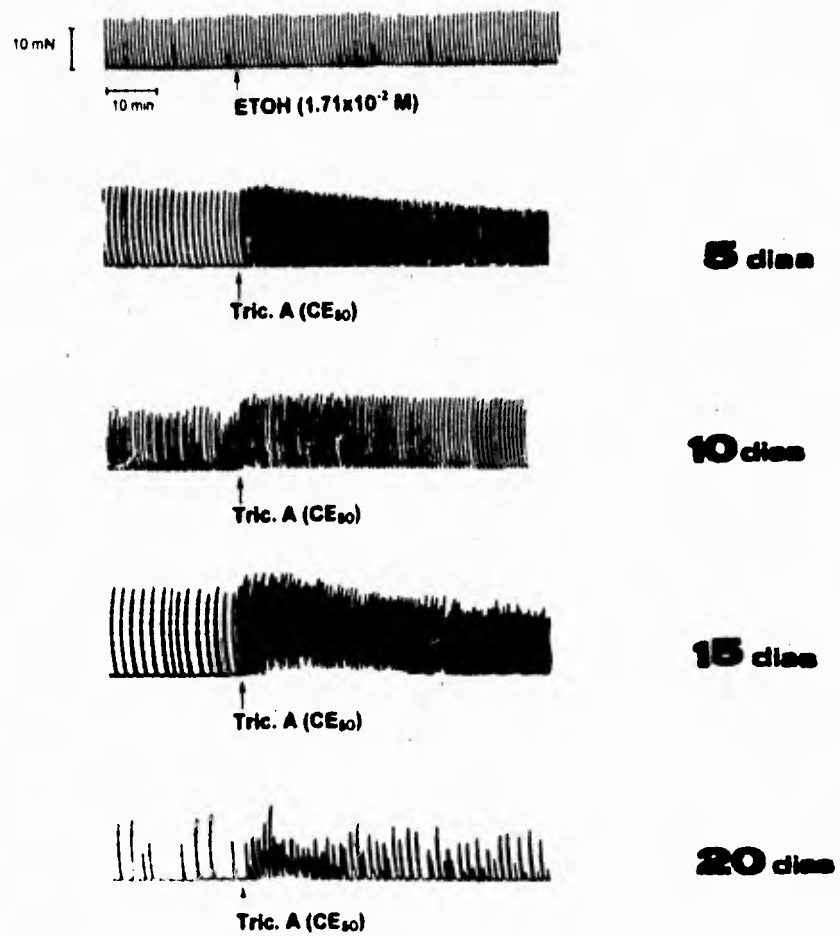
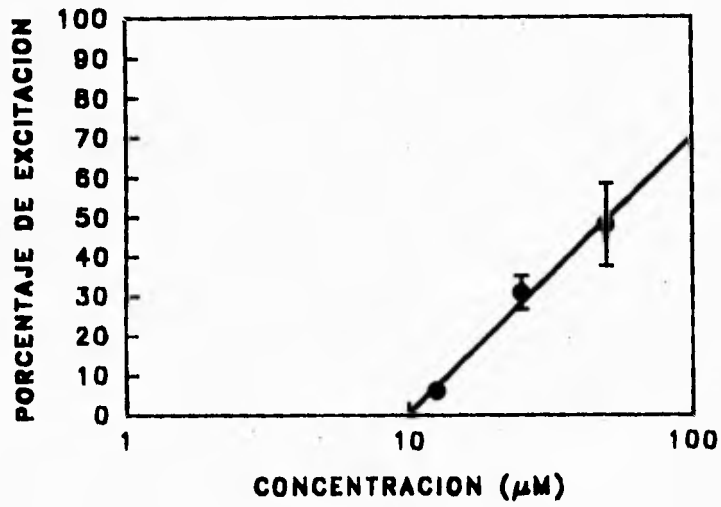


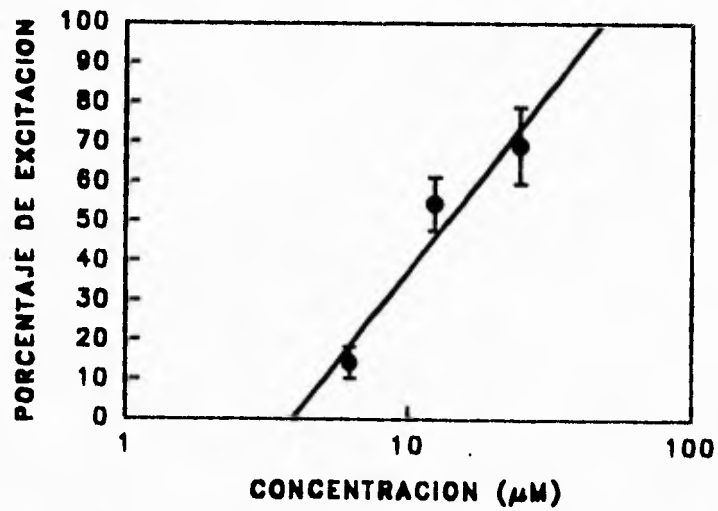
Figura 9. Registros típicos del efecto excitador de la *Tricolorina A* (Tric. A) sobre la actividad contráctil espontánea del útero aislado de rata gestante (5, 10, 15 y 20 días), observando el efecto de las concentraciones efectivas medias (CE_{50}) para cada período gestacional: 51.2 μ M, 13.0 μ M, 13.0 μ M, 13.2 μ M, respectivamente. En la parte superior se muestra que el vehículo utilizado: etanol (ETOH) no modifica la actividad contráctil.

Tabla VI. Efecto de la **Tricolorina A** en diferentes días de la gestación sobre la actividad espontánea del útero aislado de rata.

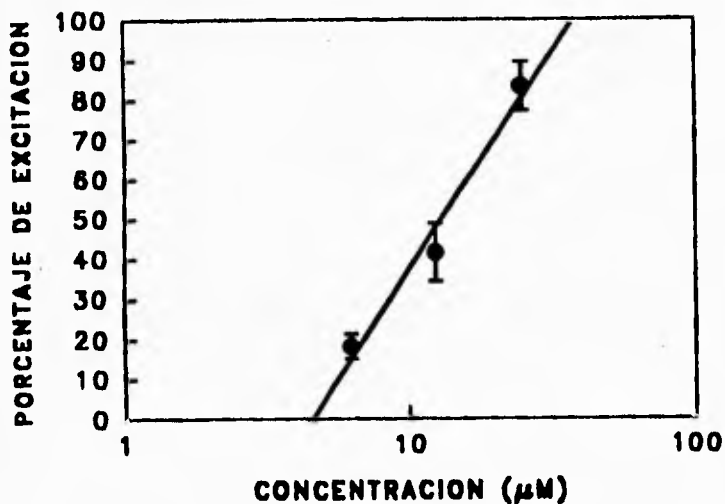
Días de Gestación	Concentración (μM)	Porcentaje de excitación $n \geq 6 \pm DE$
5	12.50	6.10 ± 1.31
	25.00	30.80 ± 4.20
	50.00	47.97 ± 10.58
10	6.25	14.15 ± 4.04
	12.50	54.31 ± 6.72
	25.00	69.12 ± 9.63
15	6.25	18.20 ± 3.08
	12.50	41.60 ± 7.14
	25.00	83.40 ± 6.05
20	6.25	18.30 ± 5.86
	12.50	37.75 ± 5.47
	25.00	78.50 ± 7.37



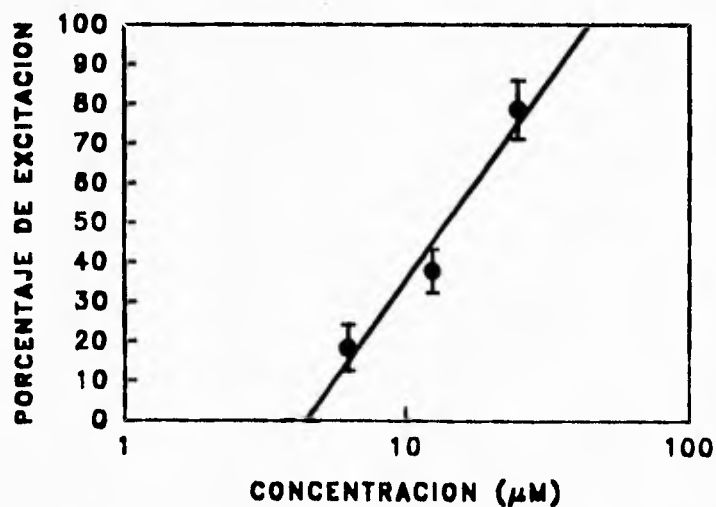
Gráfica 2. Curva concentración-respuesta del efecto excitador de la *Tricolorina A* sobre la contracción espontánea del útero grávido aislado de rata de 5 días.



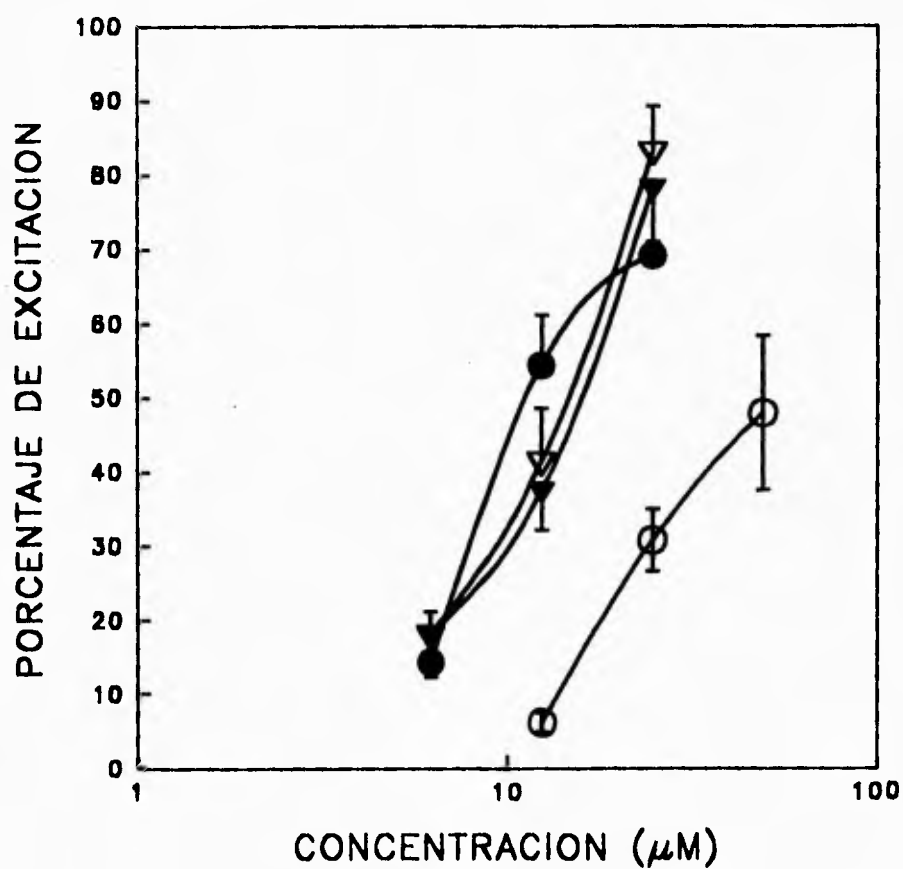
Gráfica 3. Curva concentración-respuesta del efecto excitador de la *Tricolorina A* sobre la contracción espontánea del útero grávido aislado de rata de 10 días.



Gráfica 4. Curva concentración-respuesta del efecto excitador de la **Tricolorina A** sobre la contracción espontánea del útero grávido aislado de rata de 15 días.



Gráfica 5. Curva concentración-respuesta del efecto excitador de la **Tricolorina A** sobre la contracción espontánea del útero grávido aislado de rata de 20 días.



Gráfica 6. Comparación de las curvas concentración-respuesta del efecto excitador de la Tricolorina A sobre la contracción espontánea del útero aislado de rata a diferentes días de gestación: 5 (O), 10 (●), 15 (▽) y 20 (▼) días. Las barras verticales representan la desviación estándar. Nótese la mayor pendiente para el efecto de la Tricolorina A a los 15 días de gestación.

Tabla VII. Valores de las concentraciones efectivas (CE) de la Tricolorina A a diferentes días de gestación del útero de rata *in vitro*.

Días de gestación	CE 16 (μM)	CE 50 (μM)	CE 84 (μM)
5	16.00	51.20	165.00*
10	5.10	13.00	33.00*
15	6.00	13.00	27.00
20	6.00	13.20	31.00

Los valores fueron obtenidos por interpolación en la gráfica de acuerdo al método de Litchfield y Wilcoxon (1949).

*Valor teórico obtenido por extrapolación en la gráfica 2 y 3.

Tabla VIII. Comparación de las concentraciones efectivas medias de la Tricolorina A en diferentes días de la gestación del útero de rata *in vitro*.

Días de gestación	CE 50 (μM)	Limites inferior-superior	Pendiente
5	51.20	24.85 - 105.54	1.05
10	13.00	7.06 - 23.91	2.68
15	13.00	7.97 - 21.24	3.46
20	13.20	7.72 - 22.57	3.22

Valores obtenidos según el método de Litchfield y Wilcoxon (1949).

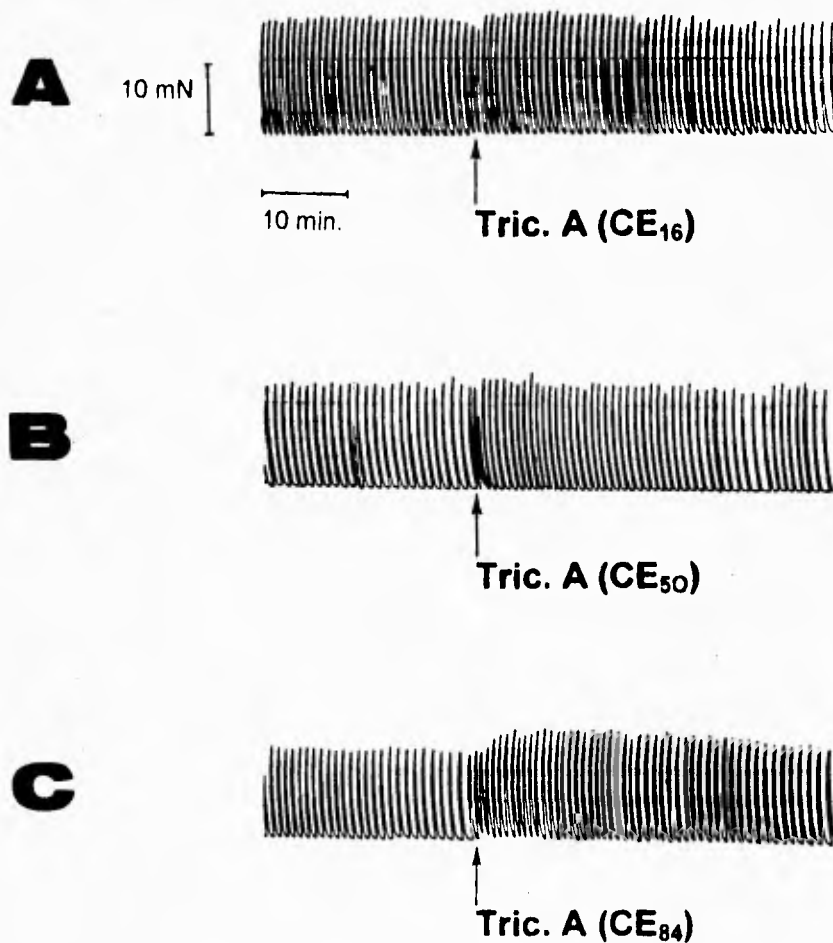


Figura 10. Efecto excitador de la **Tricolorina A** (Tric.A) a la CE_{16} (A, 5.1 μ M), CE_{50} (B, 13.00 μ M) y CE_{84} (C, 33.00 μ M) sobre la actividad espontánea del útero de rata a la mitad de la gestación (10 días).

DISCUSIÓN

VII. DISCUSIÓN.

El compuesto **Tricolorina A**, aislado de *Ipomoea tricolor*, mostró un efecto excitador de la contractilidad uterina de la rata durante la gestación. Este efecto valida el uso etnomédico de algunas especies del género *Ipomoea* como reguladoras de la contractilidad del músculo liso *i.e.*, laxantes catárticos y emenagogos.

Al comparar el efecto excitador de oxitocina se encontró que fue considerablemente mayor que el de la **Tricolorina A**. Esta diferencia puede estar asociada a la interacción directa de la oxitocina con receptores específicos presentes en la membrana de la célula miometrial (Soloff, 1975; Fuchs, 1983), mientras que el mecanismo de acción del compuesto de prueba aún se desconoce.

La menor potencia para producir su efecto uterotónico encontrada al inicio de la gestación por la **Tricolorina A** podría estar relacionada con el aumento de los niveles fisiológicos de estrógenos (17 β -estradiol) y progesterona en plasma, ya que estos niveles se incrementan a partir del día 10 de la gestación (Fajer y Barraclough, 1967; Wiest *et al.*, 1968; Yoshinaga *et al.*, 1968; McCormack y Greenwald, 1974; Murr *et al.*, 1974; Pepe y Rothchild, 1974; Virgo y Bellward, 1975; Beard y Lamming, 1994). Por lo tanto, estos resultados pueden ser consecuencia de diferentes sitios de acción (receptores) para la **Tricolorina A** que

inducen una excitación uterina (oxitócicos *i.e.*; colinérgicos, serotoninérgicos y a oxitocina) y que son dependientes de estrógenos (Soloff, 1975; Alexandrova y Soloff, 1980a, b, c; Purves, 1974; Bolton y Kitamura, 1983; Robson, 1954; Ichida *et al.*, 1985). Es importante destacar que la población de los receptores a oxitocina y a estrógenos, tanto citoplasmáticos como nucleares, se incrementan alrededor del umbral del parto (Alexandrova y Soloff, 1980a), lo cual puede sugerir que alguna parte de la molécula del compuesto de prueba puede interactuar con algunos de estos tipos de receptores, ya que se observó que a partir de la mitad de la gestación el compuesto induce un mayor efecto uterotónico.

La **Tricolorina A** mostró un efecto excitador transitorio, ya que se pudo observar un deterioro paulatino de la amplitud de las contracciones con una tendencia a que desapareciera la actividad espontánea, lo cual apoya el hecho de una acción ionofórica, como ha sido propuesto para los glicósidos del género *Merremia* (Kitagawa, 1989) y se ha sugerido para la **Tricolorina A** en su efecto alelopático (Pereda-Miranda, 1994). Por lo que se postula, que este compuesto podría actuar, en el útero, como un ionóforo de calcio para aumentar la concentración intracelular de este ion y así producir la contracción del músculo liso uterino, con un consecuente desequilibrio en la permeabilidad de la membrana celular.

CONCLUSIONES

VIII. CONCLUSIONES.

1. El compuesto **Tricolorina A**, aislado de *Ipomoea tricolor* Cav. (Convolvulaceae), presenta un efecto uterotónico durante la gestación.
2. El incremento de la actividad contráctil uterina inducido por la **Tricolorina A** valida el uso popular conferido a las resinas de las convolvuláceas como agentes abortivos.
3. Se propone que su efecto podría estar relacionado con los sitios de unión de estrógenos y progesterona y/o con los receptores dependientes de estrógenos.
4. Después del efecto excitador de la **Tricolorina A**, se observó un deterioro de la actividad contráctil con tendencia a abatir la actividad espontánea, sugiriendo un efecto ionofórico para este compuesto.

BIBLIOGRAFÍA

IX. Bibliografía.

Alexandrova, M. y Soloff, S.M. (1980a) Oxytocin Receptor and Parturition I. Control of Oxytocin Receptors Concentration in the Rat Myometrium at Term. *Endocrinology* **106**:730- 735.

Alexandrova, M. y Soloff, S.M. (1980b) Oxytocin Receptors and Parturition II. Concentration of Receptors for Oxytocin and Estrogen in the Gravid and Nongravid Uterus at Term. *Endocrinology* **106**: 736-738.

Alexandrova, M. Y Soloff, S.M. (1980c) Oxytocin Receptors and Parturition. III. Increases in the Estrogen Receptors and Oxytocin Receptor Concentrations in the Rat Myometrium during Prostaglandin F_{2α}- Induced Abortin. *Endocrinology* **106**: 739-743.

Anaya, A.L.; Ramos,L.; Cruz, R.; Hernández, J.G y Nava, V. (1987a) Perspectives on allelopathy in Mexican traditional agroecosystems: A case study in Tlaxcala. *Journal of Chemical Ecology* **13**: 2083-2101.

Anaya, A.L.; Ramos,L., Cruz, R. y Hernández, J.G. (1987b) Allelopathy in México. En G.R. Waller (ed.) *Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry*. American Chemical Society Symposium Series 330, Washington. D.C. pp. 89-101

Anaya, A.L.; Calera, M.R.; Mata, R. y Pereda-Miranda, R. (1990) Allelopathic potential of compounds isolated from *Ipomoea tricolor* Cav. (Convolvulaceae). *Journal of Chemical Ecology* **106**: 2145-2153.

Austin, C.R. y Short R. V. (1972) *Reproduction in mammals. Hormones in reproduction*. Ed. Alden Mowbray LTD. Cambridge. pp. 68-72.

Beard, A.P. y Lamming, G.E. (1994) Oestradiol concentration and the development of the uterine oxytocin receptor and oxytocin induced PGF_{2α} release in ewes. *Journal of Reproduction and Fertility* **100**: 469-475.

Bieber, L.W.; Alves da Silva filho, A.; Corrêa Lima, R.M.O.; De Andrade Chiappeta, A.; Carneiro do Nascimento, S.; De Souza, I.A., De Mélo, J.F. y Jurgen Veith, H. (1986) Anticancer and antimicrobial glycosides from *Ipomoea bahiensis*. *Phytochemistry* **25**: 1077-1081.

Brand, J.J. y Whittingham, P. (1970) Intramuscular Hyoscine in control of motion sickness. *Lancet* **2**: 232-234.

Carlson, H.J.; Douglas, H.G. y Robertson, J. (1948) Antibacterial substances separated from plants. *Journal of Bacteriology* **55**: 241-248.

Bolton, T.B. y Kitamura, K. (1983) Evidence that ionic channels associated with the muscarinic receptor of smooth muscle may admit calcium. *Journal Pharmacology* **78**: 405-416.

Caldeyro - Bercia, R. y Haller, H. (1961) *Oxytocin*. Symposium publication division. Ed. Pergamon Press. L.T.D. pp.159-175.

Castro Ramírez, A.E. (1988) Estudio comparativo del conocimiento sobre plantas medicinales usadas por dos grupos étnicos del municipio de Pahuatlán, Puebla. San Juan Iztacala, México. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México.

De Alba, J. (1985) *Reproducción Animal*. 3a. ed. Ed. Copilco. Prensa Médica Mexicana. pp. 103-110

De la Cruz, M. y Badiano, J. (1552) *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*. Herbario Azteca.

De la Cruz, M. y Badiano, J. (1964) *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*. Herbario Azteca. Instituto Mexicano del Seguro Social.

Der Maderosian, A. (1967) Hallucinogenic indole compounds from higher plants. *Lloydia* **30**: 23-38

Díaz, J.L. (1977) *Usos de las Plantas Medicinales en México*. Instituto Mexicano para el estudio de las Plantas Medicinales. A.C. México. pp.66.

Fajer, A.B. y Barraclough, C.A. (1967) Ovarian Secretion of progesterone and 20 α -Hidroxypregn-4en-3-one during Pseudopregnancy and pregnancy in rat. *Endocrinology* **81**:617-622.

Fairchild, M.D. y Alles, G.A. (1967) The central locomotor stimulatory activity and acute toxicity of the ephedrine and norephedrine isomers in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **158**: 135-140.

Ferreira, S.H.; Moncada, S. y Vane, J.R. (1971) Indometacin and aspirin abolish prostaglandin release from the spleen. *Nature* **231**: 237-239.

Fuchs, A.R. y Poblete, V.F. Jr. (1970) Oxytocin and Uterine function in pregnant and parturient rats. *Biology of Reproduction* **2**: 387-400.

Fuchs, F. (1983) *Endocrinology of pregnancy*. 3.a. edition. Eds. Haroer and Row Publishers. Philadelphia.

Geenspon, F.S. (1988) *Endocrinología Básica y Clínica*. Ed. Manual Moderno. México. pp.131-140.

González Elizondo, M. (1984) *Las Plantas Medicinales de Durango*. Tesis de Licenciatura. Inventario Básico. CIIDIR-Instituto Politécnico Nacional. México.

Goodman Gilman, A.; Goodman, L.S.; Rall, T.W. y Murad, F. (1986) *The pharmacological basis of therapeutics*, 7a. edición. Ed. Médica Panamericana. México. pp. 125,592,682.

Goldstein, A.; Kaizer, S. y Warrer, R. (1965) Psychotropic effects of caffeine in man.II. Alertness psychomotor coordination and mood. *Journal Pharmacology Experimental Therapeutics* **150**: 146-151.

Gupta, M.L.; Tewari, J.O.P.; Khanna, S.N.; Gupta, P.C.; Srivastava, M.C. y Mishra, S.S. (1967) Phytopharmacology studies of *Ipomoea muricata* seeds. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **56**: 771-773.

Grieve, M. (1982) *A Modern Herbal*. 2a. ed. Dover Publications, New York, pp.220.

Hafez, E.S.E. (1970) *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. 1a. edición. Ed. Lea y Fabiger Philadelphia pp.107-118.

Hamburger, M. y Hostettmann, K. (1991) Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry* **30**: 3864-3874.

Harvey, S.C. (1975) *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 15ª edición. Ed. Mack Publishing Company. pp. 874-878.

Hartwell, J.L. (1968) Plants used against cáncer. *A Survey Lloydia* **31**: 158-161.

Hernández, L. (1982) Estudio de los componentes alucinógenos de semillas de *Ipomoea*. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. I.P.N. México.

Harrison, D.A.; Madhusadan, K.P. y Kulshrethta, D.K. (1985) Structure of dichroside D, a fatty acid glycoside from *Ipomoea dichroa*. *Carbohydrate Reseach* **143**: 207-220.

Hofmann, A. (1963) The active principles of the seeds of *Rivea corymbosa* and *Ipomoea violacea*. *Botanical Museum Leaflets Harvard University* **20**: 194-212.

Ichida, S.; Hayashi, T.; Kita, T. y Murakami, T. (1985) Estradiol-induced increase of specific (³H) Ketaserin binding sites on rat uterine membranes. *European Journal Pharmacology* **108**: 257-264.

Jacobs, M.H.; Senior, R.M. y Kessler, G. (1976) Clinical Experience with Theophylline: relationships between dosage serum concentration and toxicity. *Journal American Medical Association* **235**:1983-1986.

Khana, S.N. y Gupta P.C.(1967) Structure of muricatin. *Phytochemistry* **6**: 735-739.

Kitagawa, I.; Ohashi, K.; Kawanashi, H.; Shibuya, H.; Shinkai, K. y Akedo, H. (1989) Ionophoretic activities of oligopeptide lactones and glycosides in human erythrocytes. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* **37**:1679-1681.

Ketchum, J.S.; Sdell, F.R.; Crowell, E.B. Jr.; Aghajanian, G.K. y Hayes, A.H., Jr. (1973) Atropine, scopolamine and ditran: comparative pharmacology and antagonist in man. *Psychopharmacologia* **28**: 121-145

Linares, E., Bye, R. y Flores, B. (1990) *Tés curativos de México*. 2a. edición. Instituto de Biología. UNAM.

Lilloa. (1953) *Ipomoea purpurea*. Índice del Gray Herbarium. Instituto de Biología. UNAM.

Litchfield, J.T. y Wolcoxon, F.A. (1949) A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *Journal Pharmacology Experimental Therapeutics* **96**: 99-113

Loebly, S.; Spratto, G. y Heckheimer, E. (1986) Manual de Farmacología. 1a. edición. Ed. Limusa. pp. 430, 537.

MacDougall, T. (1960) *Ipomoea tricolor* a hallucinogenic plant of the zapotecs. CIIM. Bulletin No. 6. Instituto de Biología. UNAM.

Martínez, M. (1953) *Las plantas Medicinales de México*. 3a. ed. Ed. Botas. México. pp.286-289.

Martínez, M. (1979) *Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas*. 1a. edición. De. Fondo de Cultura Económica. México.

- Marshall, S. (1988) *Pharmaceutical Manufacturing*. Encyclopedia Second Edition. Vol. 2, L-2 Publications Noyes. pp. 1154-1157.
- Matin, M.A.; Tewari, J.P. y Kalani, D.K. (1969) Pharmacological Effects of Paniculatin - a Glicoside Isolated from *Ipomoea dignata* Linn. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **58**:757-759.
- Matuda, E. (1965) *El género Ipomoea en México*. Anales del Instituto de Biología. pp. 45-75.
- McCormack, J.T. y Greenwald, G.S. (1974) Progesterone and oestradiol 17 β concentrations in the peripheral plasma during pregnancy in the mouse. *Journal Endocrinology* **62**: 101-107.
- Millsbaugh, Ch. E. (1974) *American Medicinal Plants*. Dover Publications, New York, pp.479-480
- Murr, S.M.; Stabenfeldt, G.H. y Bradford, G.E. (1974) Plasma progesterone during pregnancy in the mouse. *Endocrinology* **94**:1209-1211.
- Noda, N.; Ono, M.; Miyahara, K.; Kawasaki, T. y Okabe, M. (1987) Resin Glycosides. I. Isolation and structure elucidation of orizabin-I, II, III and IV. genuine resin glycosides from the root of *Ipomoea Orizabensis*. *Tetrahedron* **43**: 3889-3902
- Noda, N.; Kobayashi, H.; Miyahara, K. y Kawasaki, T. (1988a) Resin Glycosides. II. identification and characterization of the component organic and glycosidic acid of the crude resin glycoside from the seeds of *Ipomoea muricata*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* **36**: 627-633.
- Noda, N.; Kobayashi, H.; Miyahara, K. y Kawasaki, T. (1988b) Resin Glycosides. III Isolation and structural study of the genuine resin glycosides, muricatins I- VI, from the seeds of *Ipomoea muricata*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* **36**: 920- 929.
- Noda, N.; Nishi, H.; Miyahara, K. y Kawasaki, T. (1988c) Resin Glycosides. IV. Two new resing glycosides muricatins VII y VIII, from the seeds of *Ipomoea muricata*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* **36**: 1707-1713.
- Noda, N.; Kogetsu, H.; Kawasaki, T. y Miyahara, K. (1990) Simonins I y II, the resin glycosides of radix scammoniae from *Convolvulus scammonia*. *Phytochemistry* **29**: 3565-3569.

- Noda, N.; Kogetsu, H.; Kawasaki, T. y Miyahara, K. (1992a) Simonins VII y VIII, two resin glycosides from *Convolvulus scammonia*. *Phytochemistry* **31**: 2761-2766.
- Noda, N.; Kogetsu, H.; Kawasaki, T. y Miyahara, K. (1992b) Resin glycosides XV. Simonins I- V, ether-soluble resin glycosides (jalapins) from the roots of *Ipomoea batatas* (cv. Simon) *Chemical Pharmaceutical Bulletin* **40**: 3163-3168.
- Ono, M.; Kubo, K.; Miyahara, K y Kawasaki, T. (1989a) Operculin I and II, new ether soluble resin glycosides ("jalapin") with fatty acid ester groups from rhizoma *Jalapae braziliensis* (roots of *Ipomoea operculata*). *Chemical Pharmaceutical Bulletin* **37**: 241-244.
- Ono, M.; Kawasaki, T. y Miyahara, K. (1989b) Resin Glycosides. V. Identification and characterization of the component organic and glycosidic acid of the ether-soluble crude resin glycosides ("jalapin") from rhizoma *Jalapae braziliensis* (roots of *Ipomoea operculata*). *Chemical Pharmaceutical Bulletin* **37**: 3209- 3213.
- Ono, M.; Kishi, M.; Miyahara, K y Kawasaki, T. (1990) Resin glycosides. IX. Operculins I, II, V, VII and VIII, new ether-soluble resin glycosides of rhizoma *Jalapae braziliensis* (the roots of *Ipomoea operculata*). *Chemical Pharmaceutical Bulletin* **38**: 2986-2991.
- Ono, M.; Kawasaki, T. y Miyahara, K. (1991) Resin glycosides. XI. Operculins III, IV, IX, X, XVI, XVII y XVIII, new ether-soluble resin glycosides of rhizoma *Jalapae braziliensis* (the roots of *Ipomoea operculata*). *Chemical Pharmaceutical Bulletin* **39**: 2534-2539.
- Ostfeld, A.M. y Arguete, A. (1962) Central nervous system effects of hyoscine in man. *Journal Pharmacology Experimental Therapeutics* **137**: 133-139.
- Pepe, G.J. y Rothchild, I. (1974) A comparative study of serum progesterone levels in pregnancy and in various types of pseudopregnancy in the rat. *Endocrinology* **95**: 275-279.
- Pereda-Miranda, R.G.; Mata, R.; Anaya, A.L.; Mahinda Wickramarathe, D.B.; Pezzuto, J.M. y Kinghorn, D.A. (1993) Tricolorin A, Major Phytogrowth inhibitor from *Ipomoea tricolor*. *Journal of Natural Products* **56**: 571-582.

- Pereda-Miranda R.G. (1994) Estructura de la tricolorina a, un glicolípido modulador de la actividad enzimática de la proteína cinasa c y principal agente alelopático de *Ipomoea tricolor* Cav. (Convolvulaceae). Tesis de doctorado. Facultad de Química, UNAM.
- Pongprayoon, U.; Bohlin, L. y Sandberg, F. (1989) Inhibitory effect of *Ipomoea pes-caprae* on Guinea-pig ileal smooth muscle. *Acta Pharmaceutica Nordica* 1: 41-44.
- Pongprayoon, U.; Bäckström, P.; Jacobsson, U.; Lindström, M. y Bohlin, L. (1990) Compounds inhibiting Prostaglandin Synthesis Isolated from *Ipomoea pes-caprae*. *Planta Médica* 57:5151-518.
- Pongprayoon, U.; Bäckström, P.; Jacobsson, U.; Lindström, M. y Bohlin, L. (1991) Antispasmodic Activity of β -Damascenone and E-Phytol Isolated from *Ipomoea pes-caprae*. *Planta Médica* 58: 19-21.
- Purves, R.D. (1974) Muscarinic excitation: a microelectrophoretic study on cultured smooth muscle cell. *British Journal Pharmacology* 52: 77-86.
- Ramos, L.; Anaya, A.L. y Nieto de Pascual, J. (1983) Evaluation of allelopathic potential of dominant herbaceous species in a coffee plantation. *Journal Chemistry Ecology* 9: 1079-1097.
- Robson, J.M. (1954) Factors affecting the response of the uterus to serotonin. *Journal Endocrinology* 10: 129-132.
- Sarin, J.P.S.; Garg, H.S.; Khanna, N.M. y Dhar, M.M. (1973) Ipolearoside: a new Glycoside from *Ipomoea leari* with Anti-cancer Activity. *Phytochemistry* 12: 2461-2468.
- Smith, J.B. y Willis, A.L. (1971) Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nature* 321: 235-237.
- Soloff, M.S. y Swartz, T.L. (1974) Characterization of a Proposed Oxytocin Receptor in the Uterus of the Rat and Sow. *The Journal of Biological Chemistry* 245:1376-1381.
- Soloff, M.S. (1975) Uterine Receptor for Oxytocin: Effects of Estrogen. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 65: 205-212.
- Soto Nuñez, J.C. (1987) Las plantas medicinales y su uso tradicional en la Cuenca de Río Balsas, Estados de Michoacán, Guerrero, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. pp. 83, 114, 144, 176 y 177.

- Struud, M.W.; Lambertsen, C.J.; Ewing, J.H.; Kough, R.H.; Gould, R.A. y Schmidt, C.F. (1955) The effects of aminophylline and meperidine alone and in combination on the respiratory response to carbondioxide inhalation. *Journal Pharmacology Experimental Therapeutics* **114**: 461-469.
- Tyler, V.E.; Brady, L.R. y Robbers, J.E. (1988) *Pharmacognosy*. 9th. ed. Lea & Febiger, Philadelphia. p.236.
- Vademecum Farmacéutico*, (1993) Información Profesional Especializada. Ed. Rezza. México. pp.1165.
- Vane, J.R. (1971) Inhibition of prostaglandin syntesis as a mechanism of action for aspirin like drugs. *Nature* **231**: 232-235.
- Virgo, B.B. y Bellward, G.D. (1975) Serum Progesterone Levels in the Pregnant and Postpartum Laboratory Mouse. *Endocrinology* **95**: 1486-1489.
- Wagner, H. (1973) The chemistry of resin glycosides of the Convolvulaceae family. *Nobel Symposium* **25**: 235-240.
- Wagner, H.; Wenzel, G. y Chari, V.M. (1978) The terpehtinic acid of *Ipomoea turpethum* L. *Planta Médica* **33**: 144-151.
- Walcot, E.E. (1940) "*The Badianus Manuscript*" o *Códice Barberini*. Escrito en latín 241. H. de la Biblioteca del Vaticano "An Aztec Herbal of 1552". Traducción de Emily Walcot Emmart. Version de Henry Sigenst Baltimore. The Johns Hopkins Press. US of América.
- Wallis, T.E. (1966) *Manual de Farmacognosia*. Ed. CECSA. México p.477-481.
- Wasuwats, S. (1970) Extract of *Ipomoea pes-caprae* (Convolvulaceae) antagonistic to Histamine and Jelly-fish poison. *Nature* **225**: 758.
- Wiest, W.G.; Kidwell, W.R. y Barogh, K. Jr. (1968) Progesterone Catabolism in the Rat Ovary: A Regulatory Mechanism for Progestational Potency During Pregnancy. *Endocrinology* **82**: 844-859.
- Yoshinaga, H.; Hawkins, R.A. y Stocker, J.F. (1968) Estrogen secretion by the rat ovary in vitro during the estrous cycle and pregnancy. *Endocrinology* **85**: 103-112.