



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIPROPULSIVA DE PRODUCTOS DERIVADOS
DE PLANTAS MEDICINALES DE LA HERBOLARIA MEXICANA

TESIS

Que para obtener el título de

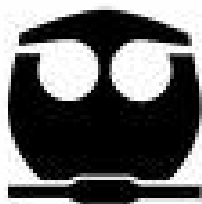
Químico Farmacéutico Biólogo

PRESENTA

RAÚL TOMÁS URBÁN RASCÓN

MÉXICO, D. F.

2009





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: PROFESOR: DRA. MARÍA ISABEL AGUILAR LAURENTS

VOCAL: PROFESOR: DRA. RACHEL MATA ESSAYAG

SECRETARIO: PROFESOR: DR. FERNANDO CALZADA BERMEJO

1ER SUPLENTE: PROFESOR: DR. JOSÉ FAUSTO RIVERO CRUZ

2DO SUPLENTE: PROFESOR: DRA. ISABEL DEL CARMEN RIVERO CRUZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN FARMACOLOGÍA Y PRODUCTOS NATURALES 2º PISO CORCE/ UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD DEL HOSPITAL DE PEDIATRÍA, CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI.

ASESOR DEL TEMA: FERNANDO CALZADA BERMEJO

SUSTENTANTE: RAÚL TOMÁS URBÁN RASCÓN

AGRADECIMIENTOS

- A la Unidad de Farmacología y Productos Naturales, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, en especial a la Dra. Mariana Meckes, que hizo posible que realizara la Tesis en las instalaciones de esta Unidad.
- Al Bioterio del Centro Médico Nacional Siglo XX, Dr. Tena, Dr. Herrera y al Dr. García, que me facilitaron las instalaciones del Bioterio y los animales para el estudio farmacológico.
- Al Dr. Calzada, mi asesor, maestro y amigo que me oriento a lo largo de esta investigación, me brindo los recursos y espacios para la realización de esta tesis.
- A las Doctoras Rachel Mata e Isabel Aguilar por el tiempo ocupado para la revisión de esta tesis.

DEDICATORIAS

- A mis padres que me han apoyado incondicionalmente a lo largo de toda mi vida, sin su educación, consejos y ejemplo no podría haber llegado hasta donde estoy. Gracias.
- A mi hermano, un gran compañero de juegos durante la niñez y un ejemplo de constancia y dedicación en la actualidad. Gracias.
- A la Familia Urbán y la Familia Rascón todos y cada uno de sus miembros son un ejemplo de carácter, bondad, amistad y fraternidad.
- A los Bachocos: Aída, Andrés, Bárbara, Dina, Paulina y Víctor su amistad es de las mejores cosas que me han pasado en mi vida. Gracias por ser mis amigos.
- A Lupita y Pablito, sus consejos, amistad y cariño los llevo presentes todo el tiempo.
- A Erik por su apoyo incondicional.
- A Sandra y Juancho, agradezco y valoro su ayuda durante la Licenciatura pero en especial valoro su amistad. Gracias.
- A mis amigas, jefas y compañeras de Accord Farma, Beatriz, Diana, Flor, Vanessa y Yoseline.

ÍNDICE

Lista de abreviaturas.....	iii
Lista de cuadros.....	v
Lista de figuras.....	v
Lista de tablas.....	vi
Lista de Gráficos.....	vi
I. Planteamiento del problema.....	1
II. Objetivos.....	2
II.1 Objetivo General.....	2
II.2 Objetivos particulares.....	2
III. Hipótesis.....	3
IV. Marco teórico	
IV.1. Medicina tradicional.....	4
IV.2. Diarrea.....	5
IV.3. Antecedentes acerca de <i>Brickellia paniculata</i> (Mill.) Rob.	10
IV.4. Antecedentes acerca de <i>Chiranthodendron pentadactylon</i> Larreat.	12
IV.5. Antecedentes acerca de <i>Decachaeta incompta</i> R.M. King y H. Rob.	14
IV.6. Antecedentes acerca de <i>Geranium mexicanum</i> H.B.K.	15
IV.7. Antecedentes acerca de <i>Helianthemum glomeratum</i> Lag.	18
IV.8. Antecedentes acerca de <i>Punica granatum</i> L.	20
IV.9. Antecedentes acerca de <i>Rubus coriifolius</i> Focke.	24
IV.10. Antecedentes acerca de <i>Teloxys graveolens</i> Willd.	26

V. MATERIALES Y MÉTODOS

V.1 Material vegetal

V.1.1 Obtención de los vegetales.....29

V.1.2 Preparación de extractos.....29

V.1.3 Compuestos puros.....29

V.2 Ensayo biológico

V.2.1 Animales de laboratorio.....30

V.2.2 Dosificación de extractos y compuestos puros.....30

V.2.3 Determinación del por ciento de inhibición del tránsito intestinal y Dosis inhibitoria 50 (DI₅₀).....31

V.3 Análisis estadístico.....32

VI. Resultados

VI.1. Actividad inhibitoria del tránsito intestinal empleando un bolo de goma acacia-carbón activado.....34

VII. Discusión de resultados.....39

VIII. Conclusiones.....46

IX. Perspectivas.....47

X. Bibliografía.....48

LISTA DE ABREVIATURAS

AAHDD	Ácido 3 α -angeloiloxi-2 α -hidroxi-13,14-Z-deshidrocativico
AMPc	3',5'-monofosfato cíclico de adenosina
<i>B. paniculata</i>	<i>Brickellia paniculata</i>
<i>Ch. pentadactylon</i>	<i>Chiranthodendron pentadactylon</i>
DI ₅₀	Dosis inhibitoria 50
DE	Desviación Estándar
cm	Centímetro
<i>D. incompta</i>	<i>Decachaeta incompta</i>
EC	<i>Escherichia coli</i>
<i>E. histolytica</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>
<i>et al.</i>	Otros autores
<i>g</i>	Gramos
<i>G. mexicanum</i>	<i>Geranium mexicanum</i>
<i>G. lamblia</i>	<i>Giardia lamblia</i>
GMPc	3',5'- monofosfato cíclico de guanosina
<i>H. glomeratum</i>	<i>Helianthemum glomeratum</i>
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social.
LOX	Lipooxigenasa
μ g/ml	Microgramos por mililitro
mg/Kg	Miligramo por cada kilogramo
mL	Mililitro
μ M	Micro molar
μ g	Micro gramos

OMS	Organización Mundial de la Salud
p	Página
PEG2	Prostaglandinas
<i>P. granatum</i>	<i>Punica granatum</i>
<i>R. coriifolius</i>	<i>Rubus coriifolius</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SEGOB	Secretaría de Gobernación
SMAI	Síndrome de mala absorción intestinal
SUIVE	Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica
<i>T. graveolens</i>	<i>Teloxys graveolens</i>
TOR	Terapia de rehidratación oral
UIM	Unidad de Investigación Médica

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Estructuras químicas de los nucleótidos AMPc y GMPc.....	5
Cuadro 2. Clasificación de la diarrea de acuerdo a su etiología, sintomatología y el microorganismo causal.....	7
Cuadro 3. Estructuras químicas de algunos fármacos antidiarreicos.....	9
Cuadro 4. Compuestos presentes en <i>Brickellia paniculata</i>	12
Cuadro 5. Compuestos presentes en <i>Ch. pentadactylon</i>	14
Cuadro 6. Estructura de las incomptinas A y B.	15
Cuadro 7. Compuestos presentes en <i>G. mexicanum</i>	17
Cuadro 8. Compuestos presentes en <i>H. glomeratum</i>	19
Cuadro 9. Compuestos presentes en <i>P. granatum</i>	22
Cuadro 10. Compuestos presentes en <i>R. coriifolius</i>	25
Cuadro 11. Compuestos presentes en <i>T. graveolens</i>	27
Cuadro 12. Desarrollo del proceso para determinar el % de inhibición del tránsito intestinal y DI_{50}	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>B. paniculata</i> Mill. Rob.	11
Figura 2. <i>Ch. pentadactylon</i> Larreat.	12
Figura 3. <i>D. incompta</i> R.M. King y H. Rob.	14
Figura 4. <i>G. mexicanum</i> H.B.K.	16
Figura 5. <i>H. glomeratum</i> Lag.	18
Figura 6. <i>P. granatum</i> L.	20
Figura 7. <i>R. coriifolius</i> Focke	24

Figura 8. <i>T. graveolens</i> Willd.	26
--	----

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Especies selectas de la flora medicinal, fuente de los extractos a los que se les determinó el potencial como antidiarreicos.....	30
Tabla 2. Actividad inhibitoria del tránsito intestinal inducido de los extractos de ocho especies selectas de la medicina tradicional mexicana a una dosis de 100 mg/ Kg...	34
Tabla 3. Actividad inhibitoria del tránsito intestinal inducido de los 13 compuestos puros seleccionados. Dosis 10 mg/ Kg.....	35
Tabla 4. DI_{50} de los ocho extractos de las especies selectas de la herbolaria regional mexicana.....	36
Tabla 5. DI_{50} de los 13 compuestos puros seleccionados de las especies selectas de la herbolaria mexicana.	37
Tabla 6. Relación de potencias entre compuestos puros y fármacos control.....	38

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfica 1. Gráfica de barras de la actividad inhibitoria del tránsito intestinal inducido de los extractos de ocho especies selectas de la medicina tradicional mexicana.....	40
Gráfica 2. Gráfica de barras de la DI_{50} del tránsito intestinal inducido de los extractos de ocho especies selectas de la medicina tradicional mexicana.....	41
Gráfica 3. Gráfica de barras de la actividad inhibitoria del tránsito intestinal inducido de los compuestos (puros) aislados de las especies selectas de la medicina tradicional mexicana.....	43
Gráfica 4. Gráfico de barras de la DI_{50} del tránsito intestinal inducido de los compuestos (puros) aislados de las especies selectas de la medicina tradicional mexicana.....	44

I. Planteamiento del problema

Como parte de un estudio sistemático de especies vegetales selectas de la medicina tradicional mexicana usadas en el tratamiento de la diarrea, en la UIM Farmacología y Productos Naturales del IMSS se han demostrado diversas propiedades biológicas (actividad antibacteriana, antiprotozoaria y antisecretora) de algunas de estas especies.

Sin embargo no se conoce si algunos de los productos derivados de ellas (extractos y compuestos puros), poseen actividad como inhibidores de la motilidad intestinal inducida. Por lo que es necesario seguir aportando información en el campo de la farmacología que contribuya a su validación en las prácticas médicas de México.

En este sentido la presente tesis está dirigida a demostrar las propiedades inhibitoras del tránsito intestinal inducido de algunos productos obtenidos de ocho especies vegetales selectas empleando un modelo *in vivo* con un bolo de goma acacia-carbón activado, en ratas.

II. Objetivos

II.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar el potencial como agentes antidiarreicos, empleando como prueba biológica la inhibición del tránsito intestinal inducido en ratas, de 21 productos derivados de ocho especies selectas de la medicina tradicional mexicana.

II.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar el porcentaje de inhibición del tránsito intestinal inducido de los extractos de las especies: *P. granatum*, *H. gomeratum*, *Ch. pentadactylon*, *T. graveolens*, *R. coriifolius*, *G. mexicanum*, *Decachaeta incompta* y *Brickellia paniculata*, a una concentración de 100 mg/Kg.
- Determinar la DI_{50} para la inhibición del tránsito intestinal inducido de ocho plantas seleccionadas de la medicina tradicional mexicana.
- Determinar el porcentaje de inhibición del tránsito intestinal inducido de 13 compuestos obtenidos de las plantas seleccionadas a una concentración de 10 mg/Kg.
- Determinar DI_{50} para la inhibición del tránsito intestinal inducido de los 13 compuestos obtenidos de las plantas seleccionadas.

III. Hipótesis

Si la información etnomédica existente sobre *P. granatum*, *H. gomeratum*, *Ch. pentadactylon*, *T. graveolens*, *R. coriifolius*, *G. mexicanum*, *Decachaeta incompta* y *Brickellia paniculata* en cuanto a su uso como antidiarreico en la medicina tradicional mexicana es verdadera entonces los productos derivados de las especies (extractos y compuestos puros) inhibirán en algún porcentaje el tránsito intestinal inducido en ratas.

IV. MARCO TEÓRICO

IV.1. Medicina Tradicional

La medicina tradicional es la suma del conocimiento, habilidades y prácticas basados en las teorías, creencias y experiencias de las distintas culturas, algunas de estas prácticas aun no tienen una explicación científica, sin embargo se utilizan para el diagnóstico, tratamiento y mantenimiento de la salud. Otros nombres con los que se conoce este tipo de medicina son: complementaria, alternativa o no convencional (OMS, 2000).

La diversidad vegetal con la que cuenta México es considerada como una de las más variadas del mundo, con por lo menos 26,000 especies, la cual es derivada de la ubicación geográfica del país, conteniendo en su territorio la mayoría de los ecosistemas; bosques, selvas y matorrales, que poseen una riqueza vegetal incomparable (Lozoya, 1982).

Por otra parte la presencia de grupos indígenas en México y el aprendizaje que han adquirido a través de los siglos, permite que la medicina tradicional en nuestro país sea muy basta, la gente aprovecha los recursos naturales con los que cuentan a lo largo de la República para atender las enfermedades a las cuales son propensos (Lozoya, 1976). La mayoría de estos conocimientos se han adquirido por la herencia hablada de generación en generación. En la actualidad con los resultados derivados de la investigación científica se puede enriquecer esta información para obtener mejores fármacos y por lo tanto tener mejor respuesta contra los padecimientos.

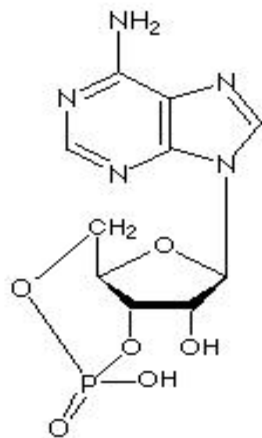
El uso de la medicina alternativa se ha popularizado mundialmente, gracias a que en la elaboración de los fitofármacos se han incluido determinaciones de seguridad y eficacia, también se han mejorado los procesos involucrados en la fabricación y estos

son vigilados de tal forma que son equiparables a los procesos realizados con cualquier fármaco usado por la medicina alopática (OMS, 2000).

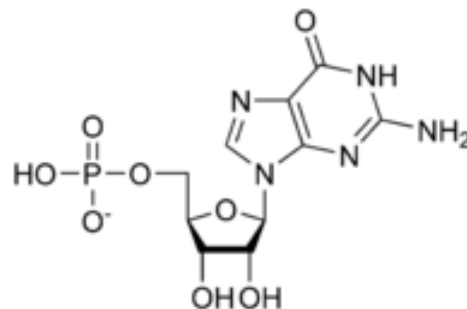
IV.2. Diarrea

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) la diarrea es una alteración en la frecuencia del número de evacuaciones, caracterizado por tres ó más por día (Méndez *et al.*, 2006).

Cuando el estado de salud de un individuo es sano, en el intestino delgado se llevan a cabo varios de los procesos más importantes de la digestión como son: la absorción de los nutrientes, equilibrio electrolítico y absorción de agua. Los enterocitos están encargados de liberar secreciones que ayudan a la digestión del bolo alimenticio, este proceso está mediado por los nucleótidos, 3',5'-monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) **(1)**, 3',5'- monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) **(2)**, las prostaglandinas y el calcio intracelular.



(1) AMPc



(2) GMPc

Cuadro 1. Estructuras químicas de los nucleótidos AMPc y GMPc

En relación a las causas que inducen la diarrea, éstas incluyen productos del metabolismo bacteriano que son capaces de estimular la generación de AMPc a nivel intracelular, incrementando la permeabilidad de la membrana. El efecto inmediato es secretar cloro que a su vez atrae agua al lumen intestinal; otra causa es la estimulación inadecuada del AMPc promoviendo la síntesis y acumulación de GMPc el cual inhibe la absorción de agua y de electrolitos.

Otra causa de diarrea es por el metabolismo de los fosfolípidos, estos compuestos son hidrolizados en el estómago dando como productos de hidrólisis al ácido araquidónico y sus derivados que son precursores de las prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos; su síntesis se lleva a cabo con ayuda de ciclooxigenasas (COX) y otras enzimas. Estos compuestos concentrados en el lumen intestinal provocan que haya hipersecreción de líquidos causando diarrea.

El síndrome diarreico visto desde una perspectiva fisiopatogénica involucra varios mecanismos que pueden actuar de manera individual o combinada, así podemos incluir entre estos: aumento de la carga osmótica, aumento de la secreción intestinal, inflamación y disminución del tiempo de absorción intestinal.

Tomando en consideración la etiología, sintomatología y los agentes infecciosos causales, la diarrea puede clasificarse como aguda, con sangre (disentería) y crónica (persistente) (Cuadro 2).

En México el 81.3% de las diarreas corresponden al tipo agudo, el 9.5% a diarrea con sangre y el 9.2% a diarrea crónica (Romero y Herrera, 2002).

La diarrea aguda también llamada gastroenteritis, consistente en un incremento en la frecuencia de la cantidad de evacuaciones, mismas que se caracterizan por consistencia blanda (líquida) de las heces, que persiste por menos de 14 días. Un

subtipo de diarrea aguda es la diarrea del viajero que se presenta con vomito y dolor abdominal. En el caso de la disentería hay presencia de sangre en las heces. En la diarrea crónica las evacuaciones son tres ó más en un día y con un peso mayor de 200 g con una duración promedio de un mes (Méndez, 2006).

Cuadro 2 Clasificación de la diarrea de acuerdo a su etiología, sintomatología y el microorganismo causal.

TIPO	ETIOLOGÍA	SÍNTOMAS	MICROORGANISMO
Diarrea aguda	a) No inflamatoria -Disminución de la absorción de agua -Disminución de la absorción de la glucosa -Diarrea del viajero	-Evacuaciones aumentadas en número y consistencia líquida. -Fiebre -Vomito -Hiporexia	a) <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Escherichia coli</i> (EC) enteroagregativa y enterotoxigénica en la del viajero, <i>S. aureus</i> y <i>Rotavirus</i> b) <i>EC</i> , <i>Shigella</i> sp., <i>Salmonella</i> sp., <i>Yersinia enterocolitica</i> y <i>Campylobacter</i> sp.
	b) Inflamatoria -Evacuaciones con moco y sangre - Leucocitos (+ 10)		
Diarrea con sangre ó disenteria	Invasión con inflamación de la mucosa colónica	- Evacuaciones con sangre y moco. - Cólicos - Tenesmo - Fiebre	<i>Shigella</i> sp., <i>EC</i> enteroinvasiva y <i>EC</i> enterohemorrágica, <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Salmonella</i> sp., <i>Yersinia</i> y <i>Trichinella spiralis</i> .
Diarrea persistente ó crónica	-Inicia como diarrea aguda, se prolonga por más de 14 días. -Intolerancia a nutrientes -Síndrome de mala absorción intestinal (SMAI) -Agentes infecciosos	Los mismos que en la diarrea aguda.	<i>G. lamblia</i> , <i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Necator americanus</i> y <i>Shigella</i> sp.

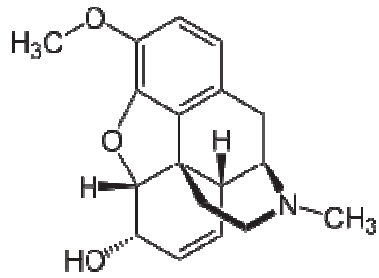
Tomado de Romero y Herrera, 2002

El tratamiento de la diarrea siempre se inicia con terapia de rehidratación oral (TOR) empleando soluciones electrolíticas y glucosa para reestablecer el equilibrio de sales en dosis de 50-200 mL/ Kg/ 24h.

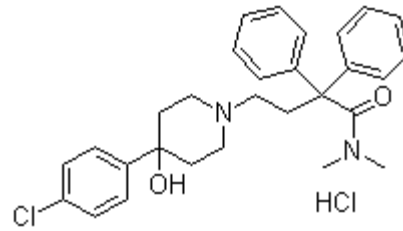
Para aliviar los síntomas se puede recurrir a agentes opioides como codeína **(3)**, loperamida **(4)**, difenoxilato **(5)** y tintura de opio. Estos agentes disminuyen el número de evacuaciones, tienen efectos antiseoretos y disminuyen el peristaltismo.

Otro fármaco al que se recurre para disminuir las molestias es el subsalicilato de bismuto **(6)** que es eficaz en la reabsorción de sodio/agua y tiene efecto antibacteriano (Flores, 2004).

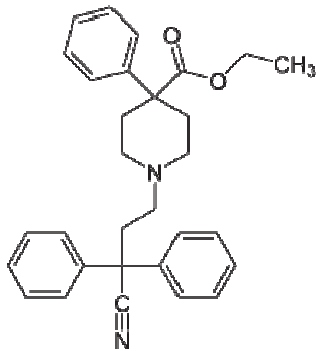
En casos graves es recomendable determinar el o los agentes infecciosos involucrados mediante análisis coproparasitológico y/o un antibiograma para así dar un tratamiento antimicrobiano específico, si la diarrea es causada por protozoarios se sugiere el uso de metronidazol **(7)** y en el caso de las bacterias *Shigella* sp., *Vibrio cholera* ó *Cyclospora* se recomienda la combinación de trimetoprima **(8)** con sulfametoxazol **(9)** (Mendez *et al.*, 2006; Wolfe, 2001).



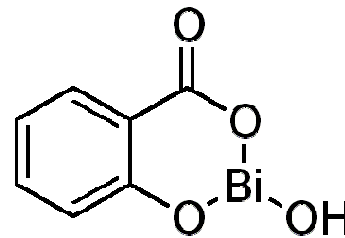
(3) Codeina



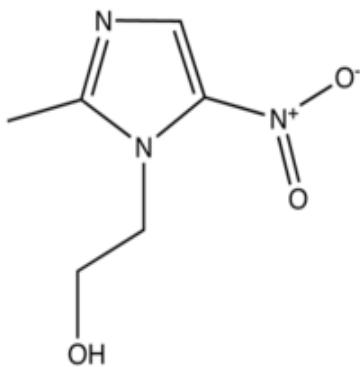
(4) Loperamida



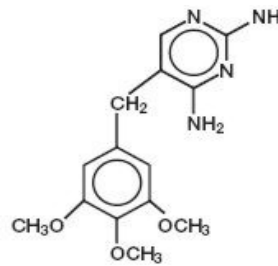
(5) Difenoxilato



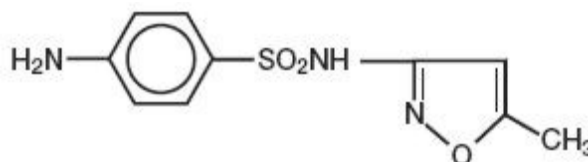
(6) Subsalicilato de Bismuto



(7) Metronidazol



(8) Sulfametoxazol



(9) Trimetoprima

Cuadro 3. Estructuras químicas de algunos fármacos antidiarreicos

En México la diarrea es un problema de salud que afecta a toda la población impactando de manera muy significativa a los menores de 5 años. En el año 2006 se informó de 1, 038, 701 de casos de infección intestinal en niños de entre 1 a 4 años. En ese mismo año las infecciones intestinales no especificadas fueron la segunda causa de morbilidad y afectaron a 4, 716, 011 pacientes. En el sexto lugar se encuentran la amibiasis intestinal y en el décimo noveno las infecciones causadas por otros protozoarios que afectaron a 662 197 y 146 454 personas, respectivamente. La mayoría de las enfermedades intestinales van acompañadas con diarrea. Cabe destacar que estas cifras están subestimadas ya que sólo considera a la población que tiene acceso a los sistemas de salud (SUIVE, 2006).

Aunque la mortalidad por enfermedades diarreicas disminuyó en años recientes, gracias a los programas de saneamiento ambiental, las jornadas y programas de salud y a la mejor higiene que tienen los individuos, la diarrea continúa siendo un grave problema de salud con una tasa de mortalidad de 14.6 muertes por cada 100,000 niños menores de 5 años (SEGOB, 2007).

IV.3. Antecedentes acerca de *Brickellia paniculata* (Mill.) B.L. Rob.

B. paniculata es una planta de la familia Asteraceae, popularmente conocida con los nombres “ch’ailpox” y “prodigiosa”. La planta se encuentra distribuida en los estados de Chiapas, Oaxaca y Jalisco.

En las prácticas médicas populares de México las hojas y los tallos de la ‘prodigiosa’ se emplean para tratar problemas gastrointestinales que incluyen dolor de estómago, cólicos y diarrea. También se usa para aliviar afecciones de las vías respiratorias. Cabe

señalar que *B. paniculata* es una de las especies más utilizadas por los indígenas “tetzales” y “tetziles” de los Altos de Chiapas, México.

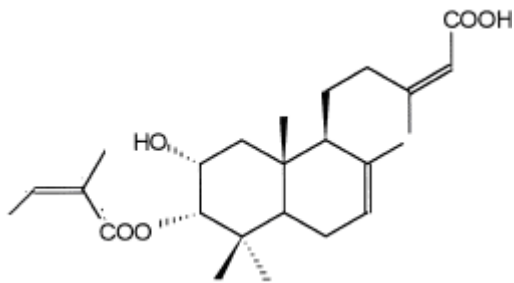


Figura 1. *B. paniculata* Mill. Rob.

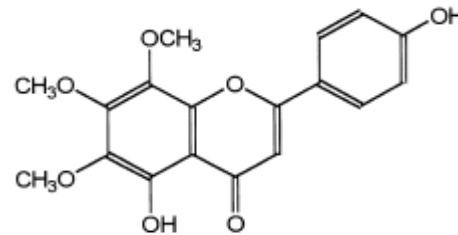
Desde el punto de vista fitoquímico la especie *B. paniculata* ha sido objeto de tres investigaciones químicas previas. Las dos primeras condujeron al aislamiento del diterpeno ácido 3 α -angeloiloxi-2 α -hidroxicatívico (Gómez *et al.*, 1983; Calderón y Viguera, 1990). En el tercer estudio se aisló el diterpeno, 3 α -angeloiloxi-2 α -hidroxil-13,14Z deshidrocátívico (AAHDD) (**10**) y el flavonoide, xantomicrol (**11**) (Meckes *et al.*, 2002).

En relación a su actividad biológica se ha demostrado que los extractos de la planta tienen efecto antiespasmódico en ileon de cobayo estimulado eléctricamente (Tortoriello *et al.*, 1995) ó estimulado con potasio (Meckes *et al.*, 1995; 2002); actividad antibacteriana moderada solo contra *S. aureus* y un efecto anti-inflamatorio moderado

(Meckes *et al*, 2004). Se ha demostrado recientemente el efecto antiespasmódico del xantomicrol (**11**) y del AAHDD (**10**) sobre útero de rata. (Meckes *et al.*, 2002, Ponce-Monter *et al.*, 2006)



(10) AAHDD



(11) Xantomicrol

Cuadro 4. Compuestos presentes en *B. paniculata*

IV. 4. Antecedentes acerca de *Chiranthodendron pentadactylon* Larreat

Ch. pentadactylon es una planta perteneciente a la familia Sterculiaceae, en la medicina tradicional mexicana la planta es conocida con los nombres de “árbol de las manitas” y “flor de manita” (Figura 2). La flor de manita se le encuentra distribuida en los estados de Oaxaca, Chiapas, Michoacán, Guerrero y el Estado de México.

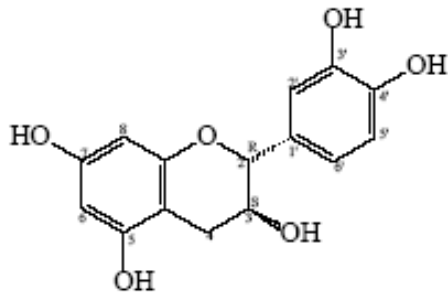


Figura 2. *Ch. pentadactylon* Larreat

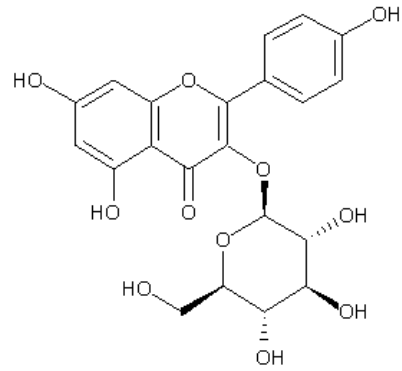
En la herbolaria mexicana las flores de la planta tienen diversos usos en los que destacan aquellas contra las afecciones del corazón y para controlar la diarrea y la disentería. Menos frecuentes son sus usos contra la epilepsia y dolor de cabeza, como tranquilizante, tratamiento de hemorroides, úlceras crónicas y la inflamación de los ojos (Velázquez, 2006; Martínez, 1992; Lara *et al.*, 1999).

Desde el punto de vista fitoquímico la flor ha sido objeto de seis investigaciones, las cuatro primeras condujeron al aislamiento de hidrocarburos, azúcares, fenoles simples y flavonoides. Las dos investigaciones restantes fueron conducidas de manera biodirigida sobre un extracto metanólico de las flores y demostraron las propiedades antibacterianas y antisecretoras de la especie (Velázquez, 2006; Ávila, 2006). Estas investigaciones permitieron el aislamiento de cinco flavonoides: dos compuestos del tipo flavan-3-ol y tres flavonoles. De los cinco flavonoides aislados, la (-)-epicatequina (**12**), la astragalina (**13**) y el tilirósido (**14**) fueron los responsables del efecto antisecretor. En el caso de la actividad antibacteriana el tilirósido fue el compuesto que presentó mayor actividad, con inhibiciones del crecimiento bacteriano en el intervalo de 58.3 % a 77.4 % para los nueve enteropatógenos evaluados.

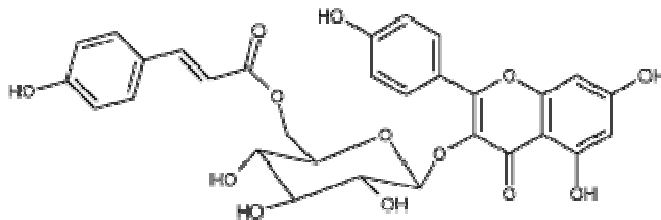
La flor de manita ha demostrado sus propiedades como anticolinérgico, vasoactivo (Perusquia *et al.*, 1995), antiespasmódico (Arellano, 2004), antibacteriano (Alanis *et al.*, 2005), antiprotozoario (Calzada *et al.*, 2006; 2007) y antisecretor (Velázquez *et al.*, 2006). Además induce la pérdida de la tonicidad muscular, causa piloerección y aumento del diámetro pupilar (Argueta *et al.*, 1994).



(12) (-)-Epicatequina



(13) Astragalina



(14) Tilirósido

Cuadro 5. Compuestos presentes en *Ch. pentadactylon*

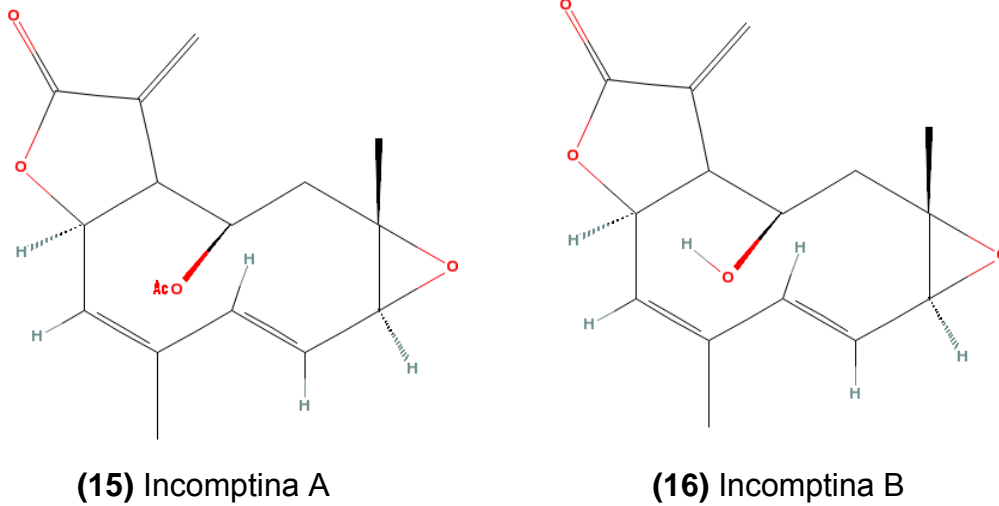
IV.5 Antecedentes acerca de *Decachaeta incompta* R.M. King y H. Rob.

D. incompta es una planta herbácea perteneciente a la familia Asteraceae, se le encuentra distribuida en el Estado de México, Jalisco, Michoacán, Oaxaca Puebla y Veracruz.



Figura 3. *D. incompta* R.M. King y H Rob.

Acerca de la fitoquímica de la planta, fue objeto de una investigación, en la cual se aislaron dos lactonas sesquiterpénicas, las incompntinas A **(14)** y B **(15)** (Guerrero *et al.*, 1995).



Cuadro 6. Estructura de las Incomptinas A y B.

En relación a su actividad biológica se ha demostrado que la incomptina B **(16)** tiene actividad antiprotozoaria contra *E. histolytica*, *Leishmania mexicana* y *Tripanosoma cruzi*; no posee actividad antibacteriana contra *E. coli* y *S. aureus* y tiene efecto espermatizida a una concentración de 5 µg/ mL (Guerrero *et al.*, 1994).

IV. 6. Antecedentes acerca de *Geranium mexicanum* H.B.K.

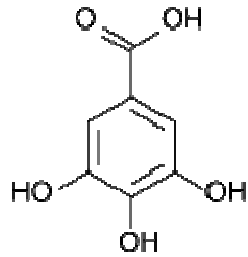
G. mexicanum es una planta endémica de México que se puede encontrar en el Estado de México, Morelos y en otras zonas cálidas, se le conoce con el nombre común de “Pata de León”.

G. mexicanum es usada en la medicina tradicional como purgante, para aliviar la gripe, tratar la amigdalitis, la urticaria, como antiséptico, el tratamiento del sarpullido, la disentería y la diarrea.

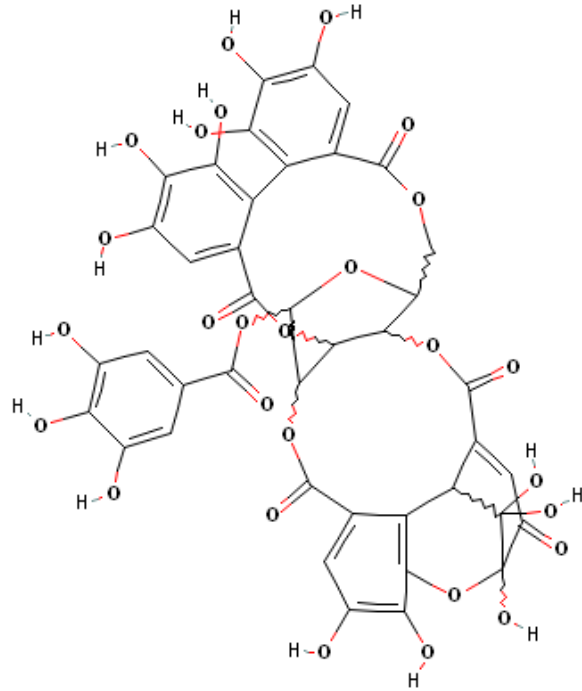


Figura 4. *G. mexicanum* H.B.K.

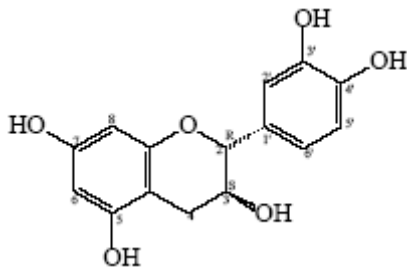
La planta ha sido objeto de dos estudios fitoquímicos previos, en el primero se identificaron taninos derivados de los ácidos tánico y gálico **(17)**, se aisló el polifenol geranina **(18)** que tiene actividad como antiviral y vasodilatador (Martínez, 1992). El segundo estudio se realizó de manera biodirigida y permitió el aislamiento de los compuestos (-)-epicatequina **(12)**, catequina **(19)**, tiramina **(20)** y β -sitoesterol **(21)**. Entre los compuestos aislados la (-)-epicatequina **(12)** fue la responsable de la actividad antiprotozoaria contra *E. histolytica* y *G. lamblia* (Calzada *et al.*, 2005). Cabe mencionar que este flavan-3-ol fue objeto de estudios *in vivo* resultando muy activo contra *G. lamblia* incluso mejor que el metronidazol **(7)** y la emetina **(8)**, fármacos utilizados como controles positivos (Barbosa *et al.*, 2007).



(17) Ácido gálico

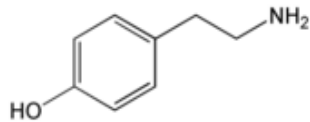


(18) Geranina

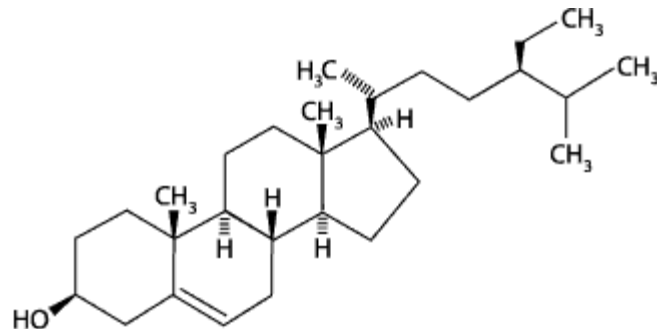


(

19) Catequina



(20) Tiramina



(21) β -sitosterol

Cuadro 7. Compuestos presentes en *G. mexicanum*

Los extractos de *G. mexicanum*, obtenidos de las partes aéreas y raíces, poseen un fuerte efecto antibacteriano contra enterobacterias, dos especies de *Escherichia coli* (*E. coli*), dos de *Salmonella sp.* y cuatro de *Shigella sp.* (Alanis *et al.*, 2005). El extracto

de la raíz de *G. mexicanum* tiene actividad antisecretora (Velazquez *et al*, 2006) y antiprotozoaria, contra *E. histolytica*, *G. lamblia* y *Tricomonas vaginalis* (Calzada *et al.*, 2006; 2007).

IV.7. Antecedentes acerca de *Helianthemum glomeratum* Lag

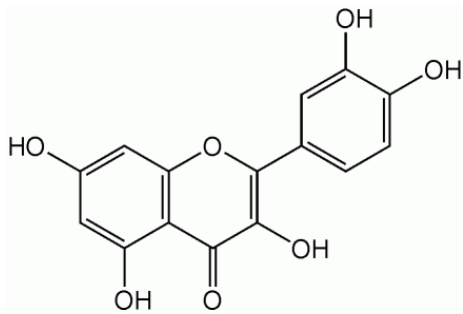
H. glomeratum es una planta que pertenece a la familia Cistaceae, a los miembros de esta familia también se les conoce como “rosas de piedra”. La planta crece en Centroamérica: Guatemala, Honduras y Costa Rica; en México sobre todo en la zona del occidente Jalisco, Michoacán, Colima donde se le conoce como “Nanajuana” o “Cenicilla”, también se reporta su crecimiento al sur de Texas. La cenicilla es un arbusto con hojas simples y flores muy vistosas con numerosos estambres. Crece preferentemente en climas templados húmedos en los bosques de pino y encino y en la selva mediana (Hamel *et al.*, 1995).

En los Altos de Chiapas se utilizan las hojas y las raíces para el tratamiento de la diarrea con sangre y contra el dolor abdominal.

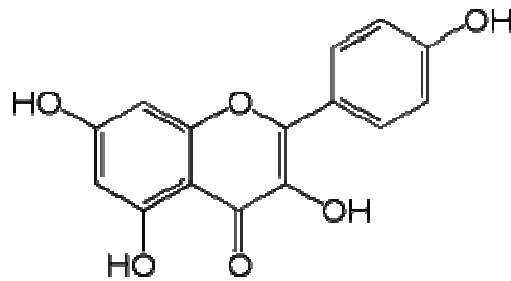


Figura 5. *H. glomeratum* Lag.

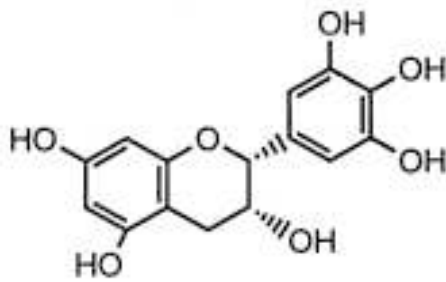
En cuanto a la fitoquímica de la planta, de las partes aéreas se han aislado: un esteroide (β -sitosterol **(21)**), cinco flavonoles (astragalina **(13)**), quercetina **(22)**, isoquercetina, camperol **(23)** y tilirósido **(13)**) y dos flavan-3-oles ((-)-epigallocatequina **(24)**) y (-)-3-galoilepigallocatequina **(25)**).



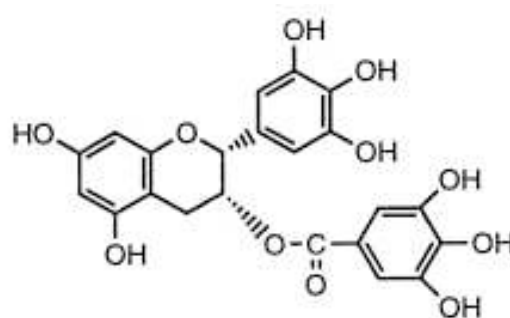
(22) Quercetina



(23) Camperol



(24) (-)-Epigallocatequina



(25) (-)-3-Galoilepigallocatequina

Cuadro 8. Compuestos presentes en *H. glomeratum*

La evaluación de los extractos de las partes aéreas y de las raíces de la planta demostraron propiedades antibacterianas contra varias cepas de enterobacterias: seis cepas de *Shigella*, dos de *Vibrio*, cuatro de *E. coli* y ocho de *Salmonella* (Meckes *et al.*, 1997). La actividad antiprotozoaria *in vivo* de un extracto integro de *H. glomeratum*

resultó con mayor actividad que los fármacos metronidazol **(7)** y emetina **(8)** (Barbosa *et al.*, 2006).

En relación a la actividad antiprotozoaria contra *E. histolytica* y *G. lamblia*, se evaluaron varios de los productos obtenidos de *H. glomeratum*; los compuestos con mayor efecto son los flavan-3-oles, (-)-epigallocatequina **(24)** y (-)-3-galoil-epigallocatequina **(25)**, así como los flavonoles camperol **(23)** y tilirósido **(14)** (Meckes *et al.*, 1999; Calzada y Alanis, 2007; Barbosa *et al.*, 2007).

IV. 8. Antecedentes acerca de *Punica granatum* L.

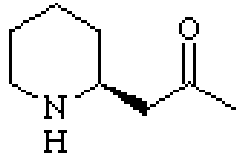
P. granatum es un árbol frutal de la familia Punicacea, se le conoce con el nombre común de “granado”, llega a medir cinco metros de altura, sus hojas son lanceoladas, ovaladas, algo rojizas, sus flores son carnosas y de color rojo, tienen 5 pétalos; sus frutos (granadas) son bayas gruesas y globosas. El origen de esta planta es africano pero ha sido diseminada por todo el mundo (Martínez, 1992).



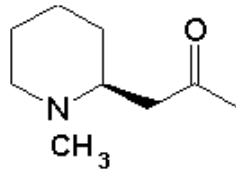
Figura 6. *P. granatum* L.

En las prácticas tradicionales del mundo se usan diferentes partes de la planta para aliviar algunos padecimientos; para la diarrea aguda se utiliza la planta completa; la corteza se usa para el tratamiento de la disentería, bronquitis, afecciones biliares, úlcera gástrica y como antihelmíntico. En pacientes pediátricos la flor se usa para tratar la diarrea crónica y la disentería. El mejor efecto antidiarréico se obtiene cuando se utiliza la cáscara del fruto. El jugo combinado con las semillas y la corteza se utiliza cuando se tienen problemas para embarazarse (Das *et al.*, 1999). *P. granatum* es una especie a la cuál se le han descrito una gran variedad de actividades biológicas que cito a continuación: abortivo, antiséptico, estimulante, lipogénico, afrodisíaco, antituberculoso, estimulante del SNC, molusquicida, amebicida, antiviral, fungicida, nematocida, analgésico, astringente, hemolítico, taenicida, antibacterial, cardiotónico, hemostático, útero tónico, antioxidante, colérico, hipocolesterolemizante, vermífugo, antiparasitario, citotóxico, hipoglucémico, antipirético, diurético e inhibidor de α -amilasa (Duke, 2002).

En relación con la fitoquímica de *P. granatum*, la planta ha sido muy estudiada, así se sabe que en la corteza de la raíz se encuentran alcaloides (pelleterina **(26)**, metilpelleterina **(27)**, isopelleterina y pseudopelleterina **(28)**), en las hojas flavonoides (apigenina, camperol **(23)**, catequina **(19)**, cianidina **(29)**, (-)-epicatequina **(12)**, luteolina **(30)** y quercetina **(22)**), taninos derivados de los ácidos elágico **(31)** y gálico **(17)**. Por último en las semillas se ha aislado un esteroide (β -sitosterol **(21)**) entre otros muchos compuestos (Lansky *et al.*, 2006; Martínez, 1992).



(26) Pelletierina



(27) Metil pelletierina

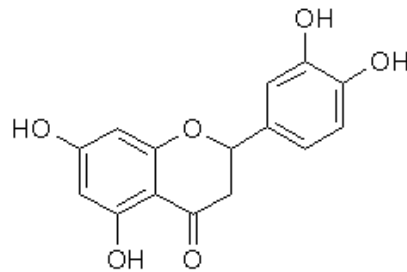


(28) Pseudo-pelletierina

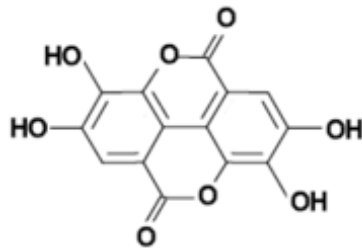
crscientific.com



(29) Cianidina



(30) Luteolina



(31) Ácido elágico

Cuadro 9. Compuestos presentes en *P. granatum* L.

Se han efectuado diversos estudios biodirigidos acerca de esta planta tan solicitada por la medicina alternativa. Asís y colaboradores realizaron un estudio farmacológico de extractos de *P. granatum* y descubrieron sus efectos sobre la motilidad intestinal, el vaciamiento gástrico y secreción gástrica, concluyendo que el efecto protector de la granada se debía a la inhibición de la motilidad intestinal y a la inducción de PEG₂ (Asís *et al.*, 1999). Otros estudios han sido dirigidos a demostrar su actividad antibacteriana contra enterobacterias tales como *Shigella* sp., *Salmonella* sp. y *EC*, incluso contra algunas cepas que han demostrado tener gran recurrencia como es el caso de la cepa de *EC* O157:H7, estos patógenos están presentes en muchos episodios de diarrea y disentería.

Estudios de algunos compuestos que están contenidos en el fruto: pelargonidina, cianidina, ácido gálico, quercetina y micertina, han permitido demostrar su actividad antibacteriana contra *Corynebacteria* sp., *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Bacillus subtilis*, *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Vibrio cholera* y *EC*, entre los compuestos evaluados el ácido gálico resultó el compuesto más activo (Naz *et al.*, 2007; Mathabe *et al.*, 2006; Voravuthikuncha *et al.*, 2004; Alanis *et al.*, 2005). Recientemente se evaluó la actividad de *P. granatum* como antiprotozoario, siendo muy efectiva contra trofozoitos de *G. lamblia* (Calzada *et al.*, 2006).

Compuestos aislados de la planta como el ácido púnic, las antocianidinas, los ácidos gálico y elágico, inhiben la biosíntesis de prostaglandinas, bloqueando la expresión de las COX y las lipoxigenasas (LOX) que son responsables de la proliferación de factores inflamatorios (Lansky *et al.*, 2006).

IV.9. Antecedentes acerca de *Rubus coriifolius* Focke

R. coriifolius es una enredadera que pertenece a la familia Rosaceae, se le conoce con los nombres triviales de “mora o zarza”, los tzetzales la conocen con el nombre “makvm, tzajal makum, pili sat makum y makum”. Es endémica de Guatemala y México; en México se le puede encontrar en los estados de Michoacán, Veracruz, Morelos y Chiapas.

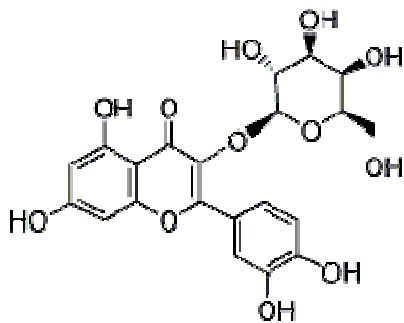


Figura 7. *R. coriifolius* Focke.

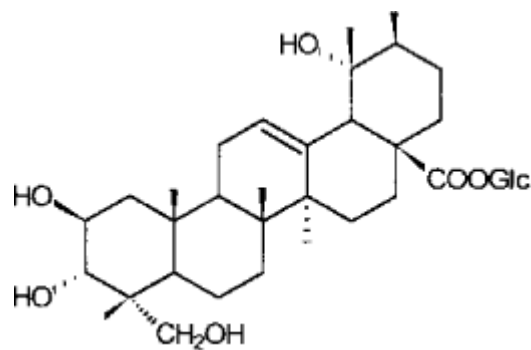
La planta es utilizada en la medicina alternativa para tratar diversas afecciones: la raíz se usa para el tratamiento de la disentería, la planta completa contra la diarrea aguda y

las hojas contra la tos. También ayuda en menor grado al alivio del vómito, debilidad, infecciones dentales y de la garganta (Alanis, 2000).

En cuanto a la fitoquímica de *R. coriifolius* el estudio biodirigido de un extracto diclorometano-metanol condujo al aislamiento de siete compuestos: (-)-epicatequina **(12)**, (+)-catequina **(19)**, hiperina **(32)**, nigaichigósido F1 **(33)**, ácido gálico **(17)**, ácido elágico **(31)** y β -sitoesterol **(21)** (Alanis, 2003).



(32) Hiperina



(33) Nigaichigósido F1

Cuadro 10. Compuestos presentes en *R. coriifolius* Focke.

En cuanto a su actividad biológica se han efectuado varios estudios, los primeros dos demostraron las propiedades antimicrobianas contra *S. aureus* y *Candida albicans* (Berlin y Berlin, 1995; Meckes *et al.*, 1995), recientemente se comprobó su actividad antiinflamatoria moderada en el modelo del edema provocado por carragenina, en ratones (Meckes *et al.*, 2004) y finalmente se evaluó la actividad antiprotozoaria determinándose en modelos tanto *in vitro* como *in vivo*. Cabe destacar que en el caso de la evaluación *in vivo*, el extracto metanólico obtenido de las partes aéreas y el principio activo (-)-epicatequina **(12)** resultaron con buena actividad, siendo los efectos

comparables a los obtenidos con los compuestos control metronidazol (7) y emetina (8) (Alanis *et al.*, 2003; Barbosa *et. al.*, 2006; Barbosa *et. al.*, 2007; Calzada *et al.*, 1998).

IV.10. Antecedentes acerca de *Teloxys graveolens* Willd.

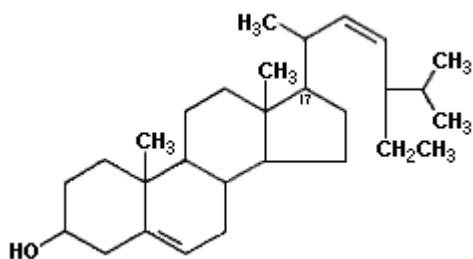
T. graveolens es una planta que pertenece a la familia Chenopodiaceae, su nombre común es “Epazote de Zorrillo”, en México lo podemos encontrar en prácticamente todo el país.

La planta es usada en la medicina veterinaria y humana, en la terapéutica humana, se utiliza como antihelmíntico y como calmante de dolores estomacales (Mondragón, 2005), Su uso más común es para el tratamiento de parásitos intestinales, contra la diarrea aguda y la disentería (Calzada *et al.*, 2003).

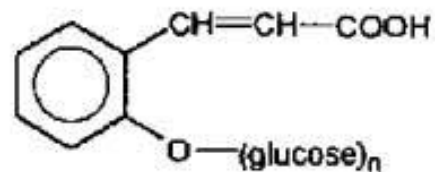


Figura 8. *T. graveolens* Willd

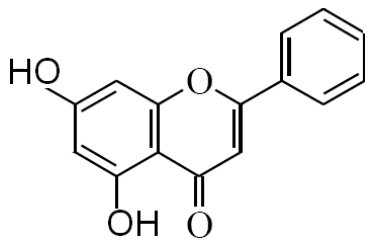
De las partes aéreas de la planta se han realizado varios estudios fitoquímicos de los cuales se han aislado los siguientes compuestos: dos esteroides (estigmaesterol **(34)** y β -glucositosterol), un fenol (melilotósido **(35)**), cinco flavonoides (crisina **(36)**, narcisina **(37)**, pinocembrina **(38)**, pinostrobrina **(39)** y rutina **(40)**) y cuatro terpenoides (criptomeridiol, acetoxi-criptomeridiol, 8 α -hidroxielemol y acetato de geranilo **(41)**) (Lara *et al.*, 1999).



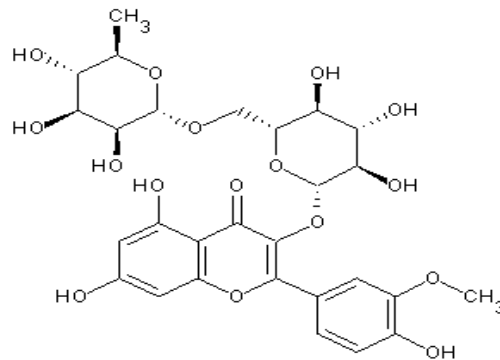
(34) Estigmaesterol



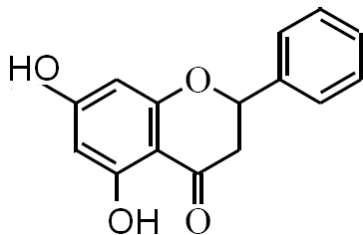
(35) Melilotósido



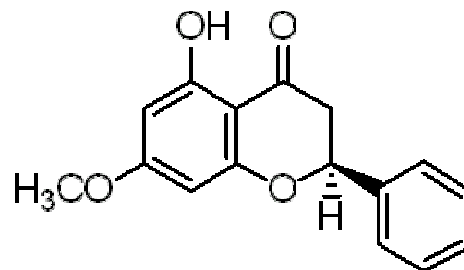
(36) Crisina



(37) Narcisina

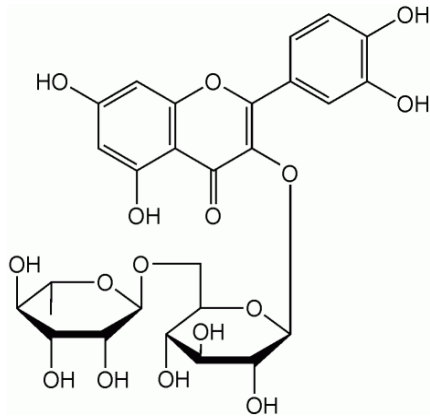


(38) Pinocembrina

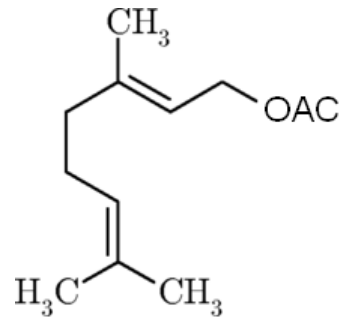


(39) Pinostrobrina

Cuadro 11. Compuestos presentes en *T. graveolens* Willd.



(40) Rutina



(41) Acetato de geranilo

Cuadro 11 (continuación). Compuestos presentes en *T. graveolens* Willd.

En relación a las actividades biológicas de *T. graveolens*, un extracto de la planta demostró tener actividad antimicrobiana contra *Candida albicans* y algunas especies selectas de bacterias Gram (+) y Gram (-) (Rojas *et al.*, 1992); otras actividades que se han demostrado son su potencial como antifúngico y antiespasmódico (Meckes *et al.*, 1998; Hernandez *et al.*, 2000); en cuanto a los compuestos que se han aislado de la planta, se evaluó a la pinocembrina **(38)**, resultando ser fasciolicida, ovicida y larvicida (Camacho *et al.*, 1991); más recientemente se demostró la actividad de algunos compuestos presentes en la planta como agentes antiprotozoarios, el estudio se realizó contra *E. histolytica* y *G. lamblia*, siendo el melilotósido **(35)** el compuesto que tuvo mejor resultado contra los dos protozoarios, la narcisina **(37)** demostró buen efecto contra *E. histolytica*, los demás flavonoides contenidos en la planta resultaron débilmente activos (Calzada *et al.*, 2003).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

V.1 Material vegetal

V.1.1 Obtención de los vegetales

Las plantas utilizadas para la preparación de los extractos objeto de esta investigación están enlistadas en la tabla 1. La recolección de los vegetales se hizo en diferentes partes de la República Mexicana. En todos los casos la parte vegetal recolectada corresponde a la utilizada en las prácticas médicas populares. Los ejemplares de referencia fueron depositados en el herbario IMSSM del Instituto Mexicano del Seguro Social.

V.1.2 Preparación de extractos

Los diferentes extractos de las plantas en estudio fueron obtenidos por maceración a temperatura ambiente en la UIM en Farmacología y Productos Naturales, CORCE, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Los mencionados extractos son muestras de respaldo obtenidos en estudios previos y que se encuentran en viales sellados y en refrigeración a -10 °C. Los investigadores que obtuvieron los extractos se citan en la tabla 1.

V.1.3 Compuestos puros

Los 13 compuestos objeto de la evaluación del potencial antidiarreico fueron obtenidos previamente en varios estudios fitoquímicos biodirigidos de las ocho plantas seleccionadas (Tabla 1), son compuestos que resultaron ser responsables de los diferentes efectos farmacológicos evaluados. Los compuestos se encuentran en frascos

sellados y en refrigeración a -10 °C. Su pureza se determinó por cromatografía de capa fina y resonancia magnética nuclear.

Tabla 1. Especies selectas de la flora medicinal, fuente de los extractos a los que se les determinó el potencial como antidiarreicos.

Nombre	Nombre común	Investigador	Año
<i>Brickellia paniculata</i>	Prodigiosa	Meckes M.	2002
<i>Chiranthodendron pentadactylon</i>	Árbol de manita	Velásquez, C.	2006
<i>Decachaeta incompta</i>	-----	Ortega, A.	2007
<i>Geranium mexicanum</i>	Pata de león	Calzada, F.	2005
<i>Helianthemum glomeratum</i>	Rosa de piedra	Barbosa, E.	2006
<i>Punica granatum</i>	Granada	Alanis, A.	2005
<i>Rubus coriifolius</i>	Mora	Barbosa, E.	2006
<i>Teloxys graveolens</i>	Epazote de zorrillo	Calzada, F.	2003

V.2. Ensayo Biológico

V.2.1 Animales de laboratorio.

Para la evaluación de la actividad antipropulsiva de los extractos y los compuestos puros de las plantas, se utilizaron ratas hembras y machos de la cepa Sprague-Dawley con un peso corporal entre 200-250 g. Los animales se mantuvieron en ayuno previo de 18 horas con libre acceso de agua. Todos los experimentos se llevaron a cabo usando un mínimo de seis animales por grupo.

V.2.2 Dosificación de extractos, compuestos puros y fármacos control.

Para la determinación del porcentaje de inhibición del tránsito intestinal, las muestras problema [extractos (100 mg/ Kg) y compuestos puros (10 mg/ Kg)] obtenidos de las

ocho plantas selectas se suspendieron en 1 mL de una solución de DMSO al 10 % en agua (vehículo). La loperamida y la atropina (Sigma) se emplearon como fármacos inhibitorios control a una dosis de 10 mg/ Kg y disueltas en 1 mL de DMSO al 10 % en agua. El grupo testigo y el modelo diarreico recibieron 1 mL de vehiculo DMSO al 10%. Como inductor de la hipermotilidad se usó una suspensión de goma acacia-carbón activado en agua (4 % de goma acacia y 2 % de carbón activado) que fue administrada a los lotes problema y controles positivos. Al grupo testigo se le administró solamente 1 mL de una suspensión de carbón activado al 2% en agua. La vía de administración empleada fue intragástrica. En el caso de la determinación de la DI_{50} se administraron diferentes concentraciones, tomando en cuenta los resultados obtenidos en el experimento de porciento de inhibición.

V.2.3 Determinación del por ciento de inhibición del tránsito intestinal y Dosis inhibitoria 50 (DI_{50}).

El aumento del tránsito intestinal se indujo de acuerdo a la metodología empleada por Lugo (Lugo, 2005). Las muestras problema (extractos y compuestos puros) y los fármacos control se administraron a diferentes lotes de animales (6 por lote), una vez transcurridos 30 minutos se administró 1 mL de la suspensión promotora del tránsito intestinal. Veinte minutos después de la administración del promotor de la hipermotilidad, se sacrificaron los animales por dislocación cervical. Posteriormente se realizó la disección del intestino delgado desde la sección del píloro hasta el íleon. Finalmente, se procedió a medir con una regla el avance del carbón activado a lo largo del tubo gástrico. El porcentaje de la actividad antipropulsiva se calculó con base en la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad antipropulsiva (\%)} = \frac{(\text{LRD}-\text{LRX})}{(\text{LRD}-\text{LRT})} \times 100$$

Donde:

LRD = Longitud recorrida promedio del modelo diarréico (cm).

LRT = Longitud recorrida promedio del modelo testigo (cm).

LRX = Longitud recorrida de la muestra problema (cm)

Para calcular la DI_{50} se graficaron las diferentes dosis evaluadas contra el porcentaje del efecto inhibitorio, obteniendo así las curvas dosis respuesta. Los valores de DI_{50} se obtuvieron por extrapolación.

V.3 Análisis estadístico.

Para el análisis estadístico se utilizaron dos tipos de análisis, primero se efectuó un análisis de t pareada para determinar si las medias entre los resultados de inhibición de la motilidad intestinal entre hembras y machos presentan diferencias estadísticamente significativas con un intervalo de confianza de 90 %, $p=0.01$. El segundo tratamiento estadístico que consistió en un análisis de dosis-respuesta usando un modelo no lineal (Tallarida, 2000).

Cuadro 12. Desarrollo del proceso para determinar el % de inhibición del tránsito intestinal y DI_{50} .

Grupo	1ª administración	Volumen	Tiempo	Inducción de diarrea 2ª administración	Volumen	Sacrificio
Testigo	Solución de DMSO al 10 % en agua	1 mL	30 minutos después de la 1ª administración	Suspensión de carbón activado al 2% en agua	1 mL	20 minutos después de la inducción
Modelo diarreico	Solución de DMSO al 10 % en agua	1 mL		Suspensión de carbón activado al 2% en agua + goma acacia al 4 % en agua	1 mL	
Modelo Problema	Solución de DMSO al 10 % en agua + extracto o compuesto puro*	1 mL		Suspensión de carbón activado al 2% en agua + goma acacia al 4 % en agua	1 mL	
Fármaco control	Solución de DMSO al 10 % en agua + fármaco	1 mL		Suspensión de carbón activado al 2% en agua + goma acacia al 4 % en agua	1 mL	

* Dosis empleadas para calcular el por ciento de inhibición= extractos 100 mg/ Kg, compuestos puros 10 mg/ Kg.

DI_{50} = diferentes dosis dependiendo del resultado en el % de inhibición.

VI. RESULTADOS

VI.1. Actividad inhibitoria del tránsito intestinal empleando un bolo de goma acacia-carbón activado.

En las tablas 2 a 4 se muestran los resultados del % de inhibición del tránsito intestinal obtenido para los extractos, compuestos puros y fármacos control respectivamente. Los extractos se evaluaron a una dosis única de 100 mg/ Kg en el caso de los compuestos puros y los fármacos control se evaluaron a una dosis de 10 mg/ Kg.

Tabla 2. Actividad inhibitoria del tránsito intestinal inducido de los extractos de ocho especies selectas de la medicina tradicional mexicana a una dosis de 100 mg/ Kg.

Compuestos	Inhibición del tránsito intestinal (%) +/- DE*
<i>D. incompta</i>	92.5 +/- 4.5
<i>B. paniculata</i>	87.5 +/- 4.2
<i>T. graveolens</i>	51 +/- 10.8
<i>P. granatum</i>	39.5 +/- 14.9
<i>H. glomeratum</i>	28.8 +/- 12.1
<i>G. mexicanum</i>	25.9 +/- 8.6
<i>R. coriifolius</i>	24.1 +/- 17.1
<i>Ch. pentadactylon</i>	Sin efecto

* DE= Desviación estándar calculada usando un mínimo de seis evaluaciones.

Tabla 3. Actividad inhibitoria del tránsito intestinal inducido de los 13 compuestos puros seleccionados. Dosis 10 mg/ Kg.

Compuestos	Inhibición del tránsito intestinal (%) +/- DE*
Quercetina	100.0 +/- 10.0
Camperol	100.0 +/- 14.8
Pinocembrina	85.8 +/- 4.9
Xantomicrol	86.7 +/- 6.5
Incomptina B	10.9 +/- 3.6
Incomptina A	80.0 +/- 8.8
Sulfato de Atropina	75.0 +/- 8.0
Clorhidrato de Loperamida	60.7 +/- 13.5
AAHD	59.3 +/- 12.0
Pinostrobina	48.7 +/- 11.7
Tiramina	45.2 +/- 4.0
Tilirósido	38.8 +/- 8.1
Crisina	28.8 +/- 13.1
Catequina	27.2 +/- 7.1
Epicatequina	17.7 +/- 6.9

* DE= Desviación estándar calculada usando un mínimo de seis evaluaciones.

Las tablas 4 y 5 muestran las DI_{50} de los extractos y compuestos puros, respectivamente.

Tabla 4. DI₅₀ de los ocho extractos de las especies selectas de la herbolaria regional mexicana.

PLANTAS	DI ₅₀ Hembras (mg/ Kg)	DI ₅₀ Machos (mg/ Kg)	DI ₅₀ Mixto (mg/ Kg)
<i>B. paniculata</i>	39.0 (36.3-41.7)	47.9 (43.7-52.5)	42.7 (39.8-44.7)
<i>Ch. pentadactylon</i>	309.0 (302.0-316.0)	302.0 (281.8-323.6)	309.0 (295.1-316.2)
<i>D. incompta</i>	17.4 (15.1-20.0)	17.4 (15.5-19.1)	17.4 (15.9-18.6)
<i>H. glomeratum</i>	218.8 (204.2-239.9)	209.0 (186.2-229.1)	213.8 (199.5-229.1)
<i>G. mexicanum</i>	245.5 (199.5-295.1)	208.9 (173.8-245.5)	223.9 (199.5-251.2)
<i>P. granatum</i>	120.2 (107.2-134.9)	123.0 (109.6-134.9)	120.2 (112.2-131.8)
<i>R. coriifolius</i>	158.5 (151.4-166.0)	186.2 (173.8-195.0)	169.8 (162.2-177.8)
<i>T. graveolens</i>	100.0 (89.1-114.8)	107.2 (97.7-120.2)	104.7 (97.7-112.2)

Tabla 5. DI_{50} de los 13 compuestos puros seleccionados de las especies selectas de la herbolaria mexicana.

COMPUESTOS	DI_{50} HEMBRAS (μ M)	DI_{50} MACHOS (μ M)	DI_{50} MIXTO (μ M)
AAHD	2.5 (2.3-2.6)	2.1 (2.0-2.2)	2.3 (2.2-2.4)
Camperol	0.4 (0.3-0.6)	0.2 (0.2-0.3)	0.29 (0.25-0.34)
Catequina	6.3 (5.8-6.8)	5.3 (4.8-5.6)	5.8 (5.5-6.0)
Clorhidrato de Loperamida	0.2 (0.1-0.3)	0.2 (0.1-0.2)	0.2 (0.1-0.2)
Crisina	4.1 (3.7-4.5)	4.1 (3.7-4.6)	4.1 (3.8-4.4)
Epicatequina	5.4 (5.2-5.5)	5.8 (5.4-6.2)	5.5 (5.4-5.8)
Incomptina A	1.9 (1.5-2.3)	1.4 (1.2-1.6)	1.7 (1.5-1.9)
Incomptina B	1.6 (1.5-1.7)	1.0 (0.91-1.2)	1.3 (1.2-1.4)
Pinocebrina	2.5 (2.4-2.6)	2.5 (2.4-2.6)	2.5 (2.45-2.53)
Pinostrobin	4.0 (3.8-4.3)	4.1 (3.9-4.4)	4.1 (3.9-4.3)
Quercetina	1.2 (1.2-1.3)	1.1 (0.9-1.2)	1.2 (1.1-1.2)
Sulfato de Atropina	1.2 (1.0-1.3)	1.3 (1.2-1.4)	1.2 (1.1-1.3)
Tilirósido	3.2 (2.8-3.6)	3.2 (2.3-4.6)	3.2 (2.8-3.6)
Tiramina	9.8 (8.9-11)	10 (6.2-17.0)	11.2 (8.9-14.1)
Xantomicol	0.7 (0.6-0.7)	0.8 (0.7-0.9)	0.7 (0.7-0.8)

Tabla 6. Relación de potencias entre compuestos puros y fármaco control

Relación potencias			
	DI ₅₀ (μ M)	Comparado contra Atropina*	Comparado contra Loperamida*
AAHD	2.3	1.9	13.5
Camperol	0.3	0.3	1.9
Catequina	5.8	4.8	34.1
Loperamida	0.2	0.1	1.0
Crisina	4.1	3.4	24.1
Epicatequina	5.5	4.6	32.4
Incomptina A	1.7	1.4	10.0
Incomptina B	1.3	1.1	7.6
Pinocembrina	2.5	2.1	14.7
Pinostrobina	4.1	3.4	24.1
Quercetina	1.2	1.0	7.1
Atropina	1.2	1.0	7.1
Tilirosido	3.2	2.7	18.8
Tiramina	11.2	9.3	56.0
Xantomicrol	0.7	0.6	4.2

* Relación del compuesto de prueba/ compuestos control.

VII. Discusión de resultados.

Como parte de un programa de investigación permanente y sistemático sobre las propiedades biológicas de especies vegetales selectas de la medicina tradicional mexicana se determinó el potencial antidiarreico de 21 productos de origen vegetal. Las especies vegetales fuente del material evaluado son empleadas para tratar trastornos gastrointestinales que incluyen a la diarrea y a la disentería. Este programa está dirigido a demostrar las propiedades antiprotozoarias, antibacterianas, antisecretoras y antipropulsivas con el objetivo de aportar evidencias que expliquen el uso de estas especies en la medicina tradicional mexicana.

En estudios previos los extractos de las ocho plantas y los 13 compuestos puros evaluados han mostrado un efecto biológico importante sobre algún agente infeccioso que causa diarrea como bacterias y protozoarios. Los compuestos incluyen a cuatro grupos de metabolitos secundarios: flavonoides (catequina, epicatequina, camperol, xantomicrol, crisina, pinocembrina, pinostrobina, quercetina, y tilirosido), sesquiterpenoides (incomptina A y B), y alcaloides como la tiramina. En los flavonoides se incluyen flavonoles, flavan-3-oles, y flavanonas, que difieren estructuralmente entre sí en el número de hidroxilos en los anillos aromáticos A y B, en la ausencia o presencia de doble enlace y/ o carbonilo en el anillo C.

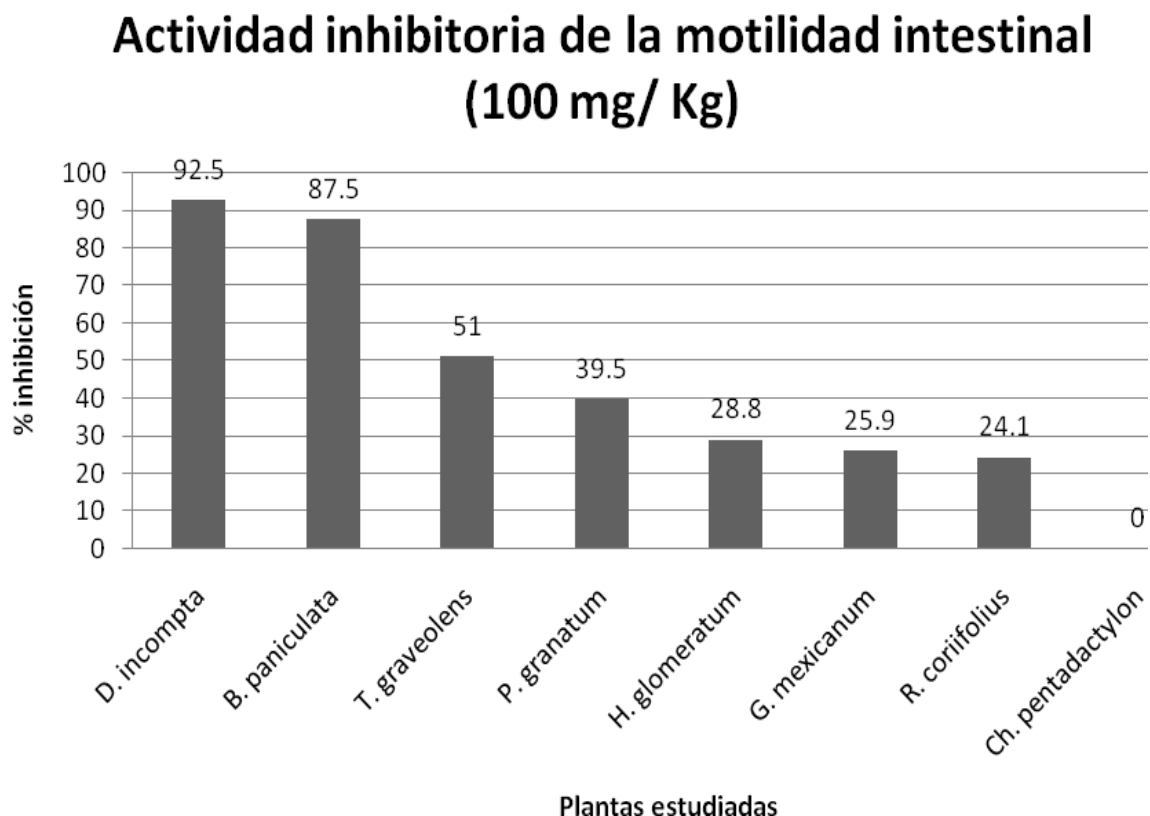
Los terpenoides incluyen a dos lactonas sesquiterpénicas y a un derivado del ácido catívico.

En la primera fase de la investigación se evaluó si el DMSO y el carbón activado inducen diarrea. Encontrándose que a las concentraciones usadas, DMSO al 10 % y el carbón al 4 %, no se ve afectado el tránsito intestinal.

En segundo lugar se determinó que la respuesta de los animales al inductor del aumento del tránsito intestinal no se viera afectada por el sexo de los animales, esto se puede observar en las tablas 5 y 6 donde los datos experimentales fueron sujetos a análisis de t pareada y éste no revela diferencias significativas. Por lo anterior se demuestra que se pueden ocupar indistintamente hembras o machos para el modelo biológico empleado.

En cuanto a los resultados de % de inhibición de los extractos (Gráfico 1) a una dosis administrada vía oral de 100 mg/ Kg. Se encontró que las dos especies más activas son *B. paniculata* y *D. incompta*, con inhibiciones del 87.5 y 92.5 % respectivamente.

Gráfica 1. Gráfica de barras de la actividad inhibitoria del tránsito intestinal inducido de los extractos de ocho especies selectas de la medicina tradicional mexicana.

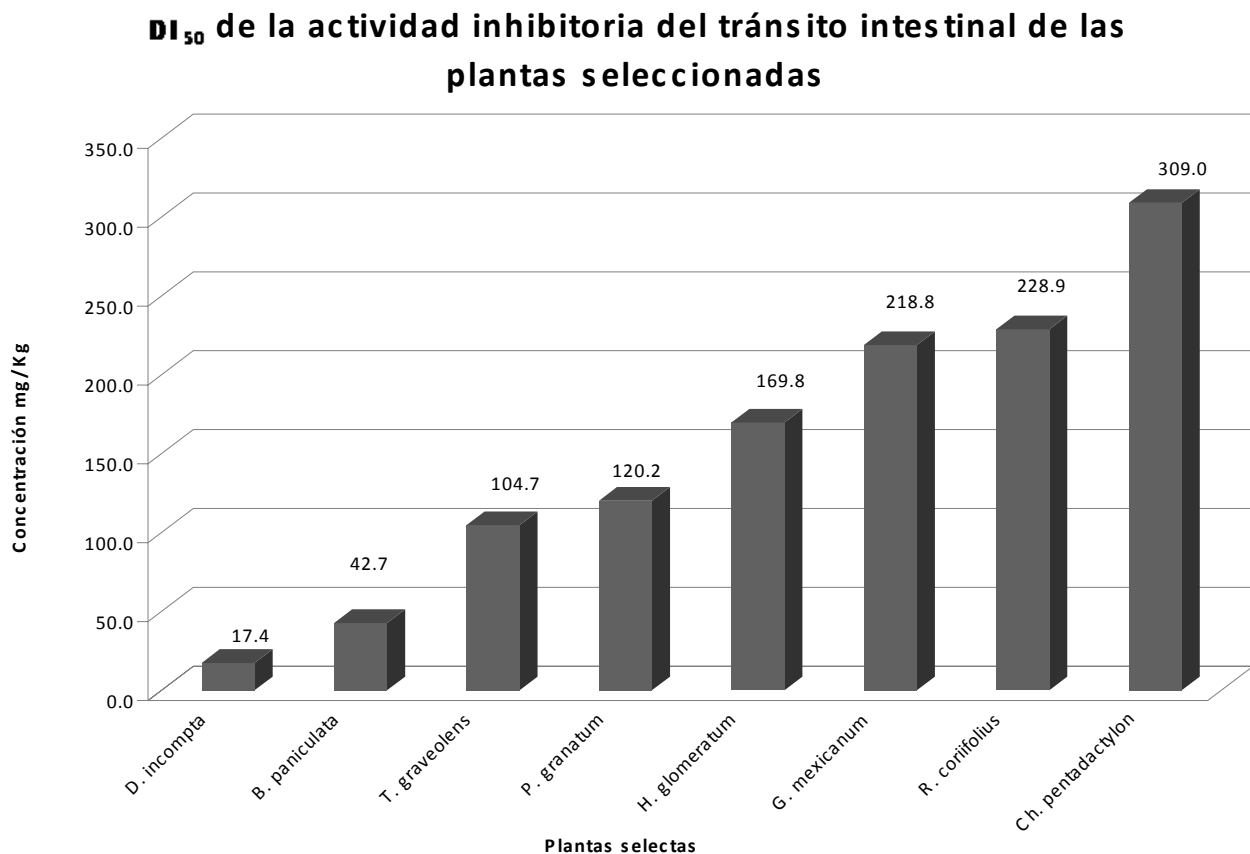


Las especies *G. mexicanum*, *H. glomeratum*, *P. granatum*, *R. coriifolius* y *T. graveolens* mostraron efectos de inhibición entre 51.0 y 24.1 %. La especie *Ch. pentadactylon* fue inactiva a la dosis evaluada.

Tomando en consideración los resultados de % de inhibición a la dosis de 100 mg/Kg se determinó la DI_{50} de las ocho especies.

En relación a los resultados de DI_{50} obtenidas de las ocho especies, se encuentran dentro de un rango muy amplio de concentración inhibitoria de 17.4- 309 mg/Kg. Las más activas deben contener compuestos muy activos ó en altas concentraciones. En contraste, las especies menos activas no deben contener inhibidores de la motilidad intestinal ó estos se encuentran en muy bajas concentraciones.

Gráfica 2. Gráfica de barras de la DI_{50} del tránsito intestinal inducido de de los extractos de ocho especies selectas de la medicina tradicional mexicana.



Como se puede observar en la gráfica 2 las dos especies con mejores DI_{50} fueron *D. incompta* y *B. paniculata*.

Acerca de *D. incompta* no se conoce ninguna propiedad que pueda asociarse con su efecto antidiarreico, por lo que es necesario ahondar en las propiedades antibacterianas y antiprotozoarias de este extracto. Con los resultados obtenidos en este estudio se puede inferir que parte del efecto antidiarreico de la especie es debido a sus propiedades inhibitoras del tránsito intestinal.

En el caso del extracto de *B. paniculata* se conocen sus propiedades antibacterianas contra *Staphylococcus aureus* y su efecto espasmolítico evaluado en intestino de cobayo, esta última investigación es consistente con los resultados obtenidos en este trabajo. Por lo que se puede inferir que parte de la actividad antidiarreica de la especie es debida a sus propiedades inhibitoras de la propulsión intestinal.

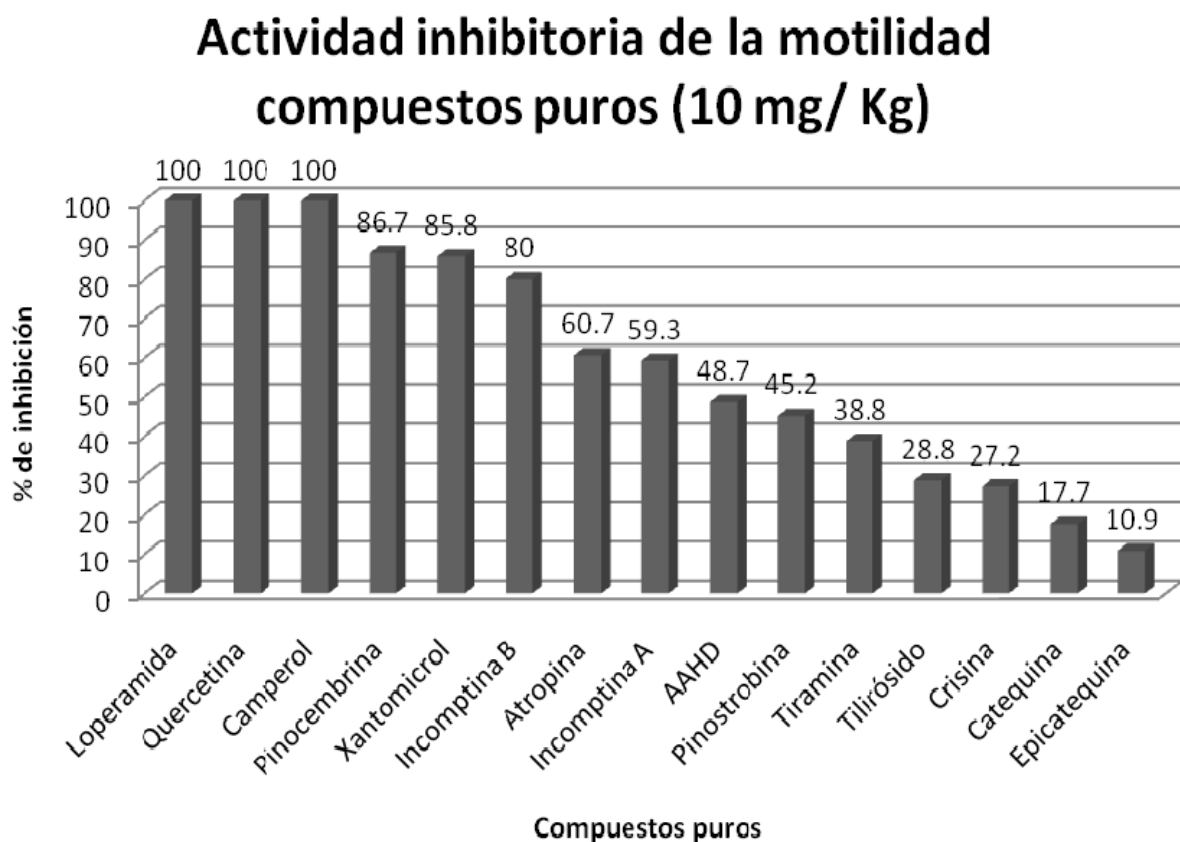
En el caso de las seis especies menos activas, para *P. granatum*, *G. mexicanum* y *Ch. pentadactylon* se hicieron tres estudios donde se establecieron sus actividades antibacterianas resultando muy activas contra bacterias enteropatógenas (Alanis, *et al.*, 2005), antiprotozoarias (Calzada, *et al.*, 2006) y antisecretoras (Velazquez, *et al.*, 2006). Para *H. glomeratum* y *R. coriifolius* se han reportado sus efectos antiprotozoarios resultando muy eficaces contra *G. lamblia* (Barbosa, *et al.*, 2006), en el caso de *Hellianthemum* también se evaluó su actividad antibacteriana resultando efectiva contra bacterias enteropatógenas, finalmente el extracto de *T. graveolens* ha demostrado actividad antimicrobiana contra *Candida albicans* y algunas bacterias Gram (+) y (-) además de actividad antisecretora. El efecto inhibitor de la motilidad intestinal que se demostró en esta investigación en conjunto con las propiedades biológicas -antiprotozoarias ó antibacterianas ó antisecretoras

y/o espasmolíticas- reconocidas, permiten explicar y dar soporte a la utilización de estas plantas como antidiarreicas.

En resumen, con la información ya mencionada y la obtenida en esta investigación, se puede justificar el uso de las ocho especies en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de la diarrea.

Una vez evaluados los extractos, se procedió a evaluar algunos de los compuestos puros obtenidos de las plantas a una dosis de 10 mg/Kg. En la gráfica 3 se muestran los resultados del ensayo de inhibición de la motilidad intestinal.

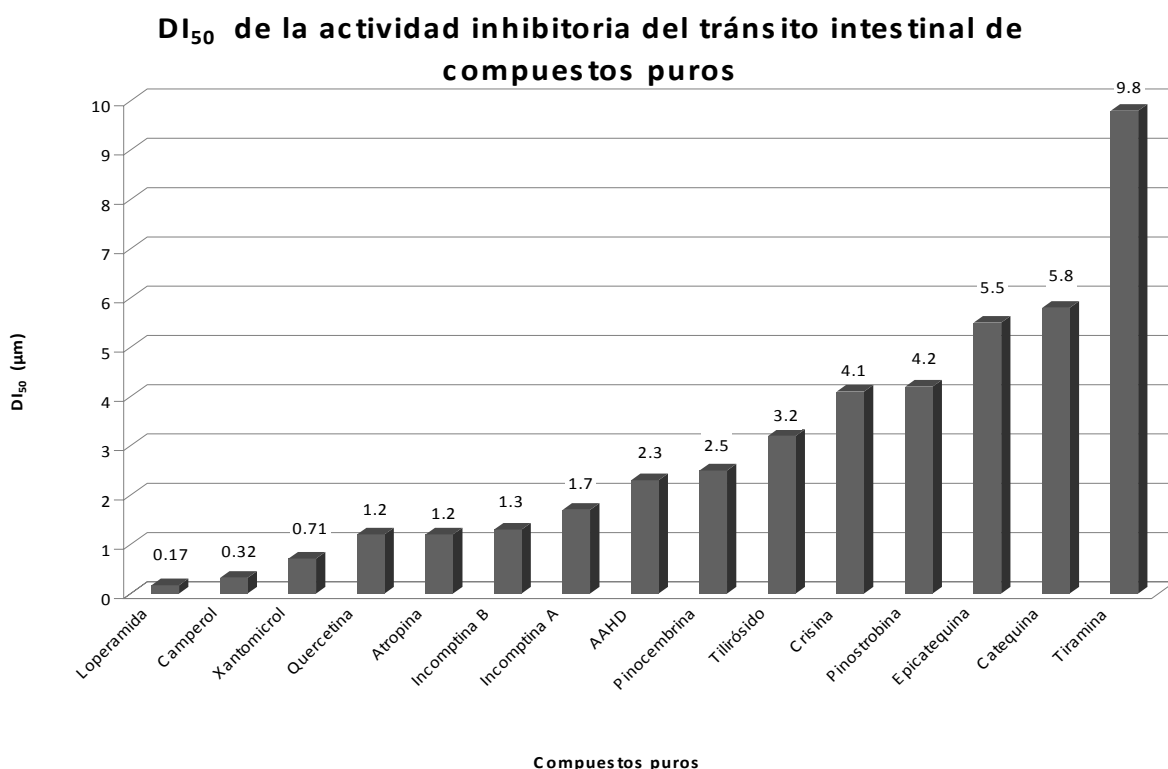
Gráfica 3. Gráfica de barras de la actividad inhibitoria del tránsito intestinal inducido de los compuestos (puros) aislados de las especies selectas de la medicina tradicional mexicana.



De los 13 compuestos puros evaluados los flavonoides camperol y quercetina mostraron efectos del 100 % de inhibición comparables con la loperamida, fármaco de origen sintético utilizado como control positivo. En el caso de los compuestos pinocembrina y xantomicrol e incompitina B tienen efecto menor al de la loperamida pero mejor que el de la atropina, fármaco de origen natural utilizado también como control positivo. Los siete compuestos restantes muestran efecto inhibitor de la motilidad intestinal pero éste no es mejor que el de los fármacos usados como control positivo.

Con la finalidad de poder establecer una relación entre los resultados obtenidos para los extractos y sus compuestos puros se procedió a determinar la DI_{50} de los compuestos. Los resultados se resumen en la gráfica 4.

Gráfica 4. Gráfico de barras de la DI_{50} del tránsito intestinal inducido de los compuestos (puros) aislados de las especies selectas de la medicina tradicional mexicana.



De los 23 compuestos evaluados, camperol y xantomicrol mostraron potencia muy similar a la loperamida. Quercetina y las incomptinas A y B tienen potencia comparable a la atropina. Los ocho compuestos restantes mostraron potencias menores a los fármacos usados como controles positivos. Cuando la potencia es referida a loperamida, la tiramina es 56 veces menos potente, en el caso de atropina es 9 veces menos potente. Si se establece una relación de potencias entre loperamida y atropina esta es de 12 (1.2/ 0.1). Esta relación de potencias entre los productos naturales y la atropina son del orden de (0.3-9.6) y se pueden observar en la tabla 6.

Se puede proponer que los 13 compuestos, considerando sus propiedades inhibitoras del tránsito intestinal, tienen potencial como agentes antidiarreicos.

En cuanto a su presencia en las especies evaluadas, es de llamar la atención que dos de los compuestos más activos, camperol y quercetina han sido aislados de la especie *H. glomeratum* especie cuyos valores de DI_{50} y % de inhibición no fueron de los más eficientes. Esto puede deberse a las siguientes razones: Se encuentran en muy baja concentración en la planta ó existe un fenómeno de antagonismo en el extracto.

En el caso de crisina, pinocembrina y pinostrobina su DI_{50} no es comparable a los fármacos control, sin embargo, el extracto de *Teloxys graveolens* tiene buena potencia de inhibición, podríamos suponer que entre los compuestos activos existen relaciones de sinergismo en la planta.

Encontramos congruencia de los valores de DI_{50} de las incomptinas A y B y del xantomicrol y el AAHD con sus respectivos extractos (*Decachaeta* y *Brickellia*). Las plantas son las más potentes y los compuestos tienen potencias comparables con los controles positivos ó mejores.

VIII. CONCLUSIONES

- El estudio de la actividad inhibitoria de la propulsión intestinal de plantas medicinales utilizadas como antidiarreicas demostró que las ocho plantas y los 13 compuestos son activos, utilizando el modelo de goma acacia- carbón activado.
- De las ocho plantas seleccionadas, los extractos de *D. incompta* y *B. paniculata* son los más activos como antipropulsivos.
- Consistentemente con los extractos más potentes, los compuestos activos derivados de estas plantas (incomptinas A y B, xantomicrol y AAHD respectivamente) presentan DI_{50} comparables con los compuestos control loperamida y atropina. Camperol y quercetina, dos compuestos estructuralmente muy parecidos, son los compuestos puros evaluados con mejor potencia inhibitoria. Estos seis compuestos por su actividad para disminuir la propulsión intestinal son candidatos para ser prototipos estructurales de nuevos agentes antidiarreicos contra la diarrea inespecífica y por lo tanto de nuevos fármacos.
- Los resultados arrojados en esta investigación contribuyen en la validación de estas plantas como agentes fitoterapéuticos y el desarrollo de fitofármacos.
- La actividad antidiarreica demostrada sumada con sus propiedades antimicrobianas y antisecretoras explican el efecto antidiarreico y justifican el uso de estas especies en la herbolaria mexicana.

IX. PERSPECTIVAS

- Las plantas *Decachaeta incompta* y *Brickellia paniculata* resultaron los extractos más potentes, sin embargo se desconocen su actividad antiprotozoaria y su perfil de toxicidad.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Agunu, A., Yusuf, S., Andrew, G.O., Zezi, A.U., Abdurahman, E.M. 2005. Evaluation of five medicinal plants used in diarrhea treatment in Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology* 101: 27-30.
- Ajaikumar, K.B., Asheef, M., Babu, B.H., Padikkala, J. 2005. The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L. methanolic extract. *Journal of Ethnopharmacology* 96: 171-176.
- Akindele, A.J., Adeyemi, O.O., 2006. Evaluation of the antidiarrheal activity of *Byrsocarpus coccineus*. *Journal of Ethnopharmacology* 108: 20-25.
- Alanis, A.D. 2000 (-)Epi-catequina, principio con actividad antiprotozoaria in vitro contra *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia* obtenido de las partes aéreas de *Rubus coriifolius* Focke (Rosaceae). Tesis de Maestría, México.
p. 10-13.
- Alanis, A.D., Calzada, F., Cedillo-Rivera, R., Meckes, M. 2003. Antiprotozoal activity of the constituents of *Rubus coriifolius*. *Phytotherapy Research* 17: 601-602.
- Alanis, A.D., Calzada, F., Cervantes, J.A., Torres, J., Ceballos, G.M. 2005. Antibacterial properties of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 100: 153-157.
- Arellano, J. 2004. Evaluación de la actividad antiespasmódica de algunas plantas medicinales mexicanas en ileon aislado de rata. Estudio de *Zanthoxylum liebmannianum* (Colopantle). Tesis de licenciatura. FES Zaragoza.

- Argueta, A., Cano, L., Rodarte, M. 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Vol I-III. INI. 1ª edición. México. p. 644-645, 672-673, 774 y 1006-1009.
- Ávila, V.O., Estudio antibacteriano y químico de los productos derivados de las flores de *Chiranthodendron pentadactylon* Larreat (Sterculiaceae). 2006 Tesis de licenciatura. Facultad de química. UNAM.
- Barbosa, E., Calzada, F., Campos, R. 2006. Antigiardial activity of methanolic extracts from *Helianthemum glomeratum* Lag. and *Rubus coriifolius* Focke in suckling mice CD-1. *Journal of Ethnopharmacology* 108: 395-397.
- Barbosa, E., Calzada, F., Campos, R. 2007. In vivo antigiardial activity of three flavonoids isolated of some medicinal plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of diarrhea. *Journal of Ethnopharmacology* 109: 552-554.
- Calderón, J.S., Viguera, C. Nuevos diterpenos tipo labdano de *Brickellia paniculata*. XVIII Simposium Internacional de Química de Productos Naturales. Monterrey, México. 1990. Resumen.
- Calzada, F., Alanis, A.D. 2007. Additional antiprotozoal flavonol glycosides of the aerial parts of *Helianthemum glomeratum*. *Phytotherapy Research* 21: 78-80.
- Calzada, F., Cervantes, J., Yépez, L. 2005. *In vitro* antiprotozoal activity from the roots of *Geranium mexicanum* and its constituents on *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia*. *Journal of Ethnopharmacology* 98: 191-193.
- Calzada F., Velázquez, C., Cedillo-Rivera, R., Esquivel, B. 2003. Antiprotozoal Activity of the Constituents of *Teloxys graveolens*. *Phytotherapy Research* 17: 731-732.
- Calzada, F., Yépez, L., Aguilar, A. 2006. In vitro susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to plants used in Mexican traditional medicine for

the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 108: 367-370.

- Calzada, F., Yepez, L, Tapia-Contreras, A. 2007. Effect of Mexican medicinal plant used to treat trichomoniasis on *Trichomonas vaginalis* trophozoites. *Journal of Ethnopharmacology* 113: 248-51.
- Daniel, M. 2006. Medicinal Plants: Chemistry and Properties. India.
- Das, A., Mandal, S., Banerjee, S., Sinha, S., Das, J., Saha, B.P., Pal, M. 1999. Studies on antidiarrhoeal activity of *Punica granatum* seed extract in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 68: 205-208.
- Del Rayo, M., Sanchez, B., Quiroz, H., Contreras, JL., Mata R. 1991. Pinocembrine: a bioactive flavanone from *Teloxys graveolens*. *Journal of Ethnopharmacology*. 31: 383-389.
- Duke, J. 2002. Handbook of Medicinal Herbs. 2nd edition. USA. p. 582-584.
- Flores, J. Farmacología humana. 2004. p. 774-776.
- Gómez, F., Quijano, L., Calderón, J.S., Ríos, T. 1983. 3 α -angeloiloxihidrocatívic acid, a new diterpene from *Brickellia paniculata*. *Phytochemistry* 22: 1292-1293.
- Gotfredsen, E. 2004. Liber Herbarum II: The incomplete reference-guide to Herbal medicine.
- Guerrero, C., Taboada, J., Blaz, J.B., Oliva, A., Ortega, A. 1995. Incoptins A & B, two heliangolides from *Decachaeta incompta* preliminary studies on the biological activity of incoptin B. *Revista Latinoamericana de Química* 23: 142-147.
- Gunakkunru, A., Padmanaban, K., Thirumal, P., Pritila, J., Parimala, G., Vengatesan, N., Gnanasekar, N., Perianayagam, J.B., Sharma, S.K., Pillai, K.K. 2005. Anti-diarroheal activity of *Butea monosperma* in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology* 98: 241-244.

- Hamel, B., Zamora, N., Grayum, M. Manual de Plantas de Costa Rica. 1995.
- Hernandez, NE., Tereschuk, ML, Abdala, R. 2000. Antimicrobial activity of flavonoids in medicinal plants from Tafi del Valle (Tucuman, Argentina). *Journal of Ethnopharmacology* 73: 317-322.
- Lansky, E., Newman, R. 2007. *Punica granatum* (pomegranate) and its potencial for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology* 109: 177-206.
- Lara, F., Márquez, C. 1996. Plantas medicinales de México. Composición usos y actividad biológica. UNAM, México. Tomo 1 p. 73-74 y Tomo 2 p. 57.
- Lozoya, X. 1976. Estado actual del conocimiento en plantas medicinales mexicanas. IMEPLAM. México. p. 11-23, 103-107, 132-137.
- Lugo, C. 2005. Actividad antibacteriana e inhibición de la propulsión intestinal inducida del extracto metanólico de *Thymus vulgaris* Linne (Lamiacea). Facultad de Química, UNAM. Tesis de Licenciatura.
- Martínez, M. 1992. Las plantas medicinales de México. México. p. 145-146,244-245 y 421-422.
- Mathabe, M.C., Nikoloba, R.V., Lall, N., Nyazema, N.Z. 2006. Antibacterial activities of medicinal plants used for the treatment of diarrhea in Limpopo, South Africa. *Journal of Ethnopharmacology* 105: 286-293.
- Meckes, M., Paz, D., Acosta J., Mata, R. 1998. The effects of chrysin and pinostrobin, two flavonoids from *Teloxys graveolens* leaves, on isolated guinea-pig ileum.
- Meckes, M., Calzada, F., Paz, D., Rodríguez, J., Ponce-Monter, H. Inhibitory effect of xanthomicrol and 3 α -angeloyloxy-2 α -hydroxy-13,14Z-dehydrocaticvic acid

from *Brickellia.paniculata* on the contractility of Guinea-pig ileum. 2002. *Planta Medica* 68: 467-469.

- Meckes, M., David-Rivera A., Nava-Aguilar V., Jiménez A. 2004. Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw edema. *Phytomedicine* 11: 446-451.
- Meckes, M., Román-Ramos, R., Pérez, S., Calzada, F., Ponce-Monter, H. 2002. Effects of a labdane diterpene isolated from *Brickellia paniculata* on intracellular Ca²⁺ deposit of guinea-pig ileal longitudinal muscle. *Planta Medica*. 68: 601-604.
- Meckes, M., Torres, J., Calzada, F., Rivera, J., Camorlinga, M., Lemus, H., Rodríguez, G. 1997. Antibacterial properties of *Hellianthemum glomeratum*, a plant used in Maya traditional medicine for treat diarrhoea. *Phytotherapy Research* 11: 128-131.
- Meckes, M., Villareal, M.L., Tortoriello, J., Berlin, B., Berlin, E, 1995. A microbiological evaluation of medicinal plants used by the maya people of southern Mexico. *Phytochemistry* 9: 244-256.
- Méndez, N., Uribe, M. 2006. Gastroenterología. México. p. 93-102.
- Mujumdar, A.M., Misar, A.V., Upadhye, A.S. 2005. Antidiarroheal activity of ethanol extract of the bark of *Dalbergia lanceolaria*. *Journal of Ethnopharmacology* 102: 213-216.
- Naz, S., Siddiqi, R., Ahmad, S., Rasool, S., Sayeed, S. 2007. Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Punica granatum*. *Journal of Food Science* 72: 341-345.
- OMS. 2000. General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine.

- Perusguia, M., Mendoza, S., Bye, R., Linares, E., Mata, R. 1995. Vasoactive effects of aqueous extracts from five Mexican medicinal plants on isolated rat aorta, *Journal of Ethnopharmacology* 46(1): 63-69.
- Ponce-Monter, H., Perez, S., Zavala, M. A., Perez, C., Meckes, M., Macias, A., Campos, M. Relaxant effect of xanthomicrol and 3alpha-angeloyloxy-2alpha-hydroxy-13,14z-dehydrocativic acid from *Brickellia paniculata* on rat uterus, *Biol Pharm Bull.* 2006 Jul; 29 (7): 1501-3.
- Presidencia. Informe de gobierno. 2007.
- Rojas A., Hernández, L., Pereda-Miranda, R., Mata R. 1992. Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology.* 35: 275-283
- Romero, R., Herrera, I. 2002. Síndrome Diarreico Infeccioso. México. p. 1-6, 23-29:38-51.
- Rouf, R., Uddin, S.J., Shilpi, J.A., Alamjir, M. 2007. Assessment of antidiarroheal activity of the methanol extract of *Xilocarpus granatum* bark in mice model. *Journal of Ethnopharmacology* 109: 539-542.
- SEGOB. 2006. Informe Presidencial Vicente Fox.
- SUIVE. 2007. Boletín de Epidemiología. SSA.
- Tallarida, R.J. 2000. Drug synergism and dose-effect data analysis. USA. p. 21-51.
- Tortoriello, J., Meckes, M., Villareal, M.L., Berlin, B., Berlin, E. 1995. Spasmolitic activity of medicinal plants used to treat gastrointestinal and respiratory diseases in the highlands of Chiapas. *Phytomedicine* 2: 57-66.

- Velázquez, C., Calzada, F., Torres, J., Gonzalez, F., Ceballos, G. 2006. Antisecretory activity of plants used to treat gastrointestinal disorders in México. *Journal of Ethnopharmacology* 103: 66-70.
- Vitali, F., Fonte, G., Saija, A., Tita, B. 2006. Inhibition of intestinal motility and secretion by extracts of *Epilobium spp.* In mice. *Journal of Ethnopharmacology* 107: 342-348.
- Voravuthikunchai, S., Lortheeranuwat, A., Jeeju, W., Sririrak, T., Phongpaichit, S., Thanomjit, S. 2004. Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic *E. coli* O157:H7. *Journal of Ethnopharmacology* 94: 49-54.
- Wolfe, M. 2001. Terapéutica de los trastornos digestivos. p. 552-554, 820-823.