

T
546

91370

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS
MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:
INVESTIGACIÓN FITOFARMACOLÓGICA

Estudio Fitoquímico y Farmacológico de *Bidens odorata* Cav, *Heliotropium curassavicum* L y *Chrysactinia mexicana* Gray.

COMUNICACIÓN IDÓNEA DE RESULTADOS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS
PRESENTA

Q.F.B. DANIEL ZAVALA MENDOZA
MATRÍCULA : 203181611

COMITÉ TUTORIAL

TUTOR: Dr. Miguel Ángel Zavala Sánchez.
ASESOR: Dra. Ma. Salud Pérez Gutiérrez.
ASESOR: Dr. Héctor Antonio Ponce Monter

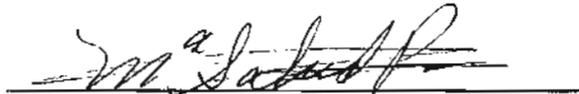
MÉXICO D. F.

MARZO 2006

VISTO BUENO DE COMITÉ TUTORIAL



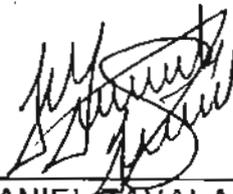
Dr. MIGUEL ÁNGEL ZAVALA SÁNCHEZ
TUTOR



Dra. MA. SALUD PÉREZ GUTIÉRREZ
ASESORA



Dr. HÉCTOR ANTONIO PONCE MONTER
ASESOR

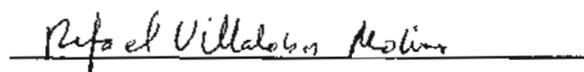


Q. F. B. DANIEL ZAVALA MENDOZA
MATRÍCULA: 203181611
ALUMNO

JURADO DE EXAMEN DE GRADO

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized 'M' and 'Z' followed by 'S', written over a horizontal line.

Dr. MIGUEL ÁNGEL ZAVALA SÁNCHEZ

A handwritten signature in black ink, written in a cursive style, over a horizontal line.

Dr. RAFAEL VILLALOBOS MOLINA

A handwritten signature in black ink, written in a cursive style, over a horizontal line.

Dra. MARIANA MECKES FISCHER

Primeramente agradezco a mi Comité Tutorial, quienes me guiaron y me corrigieron siempre que fue necesario.

Dra. Salud Pérez quien puso todo su empeño, conocimiento y experiencia

Dr. Héctor Ponce quien desde el inicio puso todo su interés.

Dr. Miguel Zavala que poder decir de quien su tiempo, su paciencia y su experiencia fueron solo una parte de los esfuerzos para lograr culminar este trabajo

Tengo que agradecer muy especialmente al Dr. Cuauhtémoc Pérez, que sin ser parte de mi Comité Tutorial, estuvo siempre atento para apoyarme y corregirme en todo cuanto fue necesario

A la maestra Alma Rosa Cortes quien de quien obtuve consejos, aliento y apoyo muy importante para terminar este trabajo

A la Dra. Mariana Meckes y al Dr. Rafael Villalobos quienes aceptaron formar parte del jurado

ANA LUZ

Madre, gracias por motivarme siempre

MÉLANY

Siempre conmigo

MARIA LUISA

Amor, gracias por sufrir conmigo y apoyarme en todo momento

DANIELA

Por sufrir conmigo

RESUMEN

Dentro de la gran variedad de plantas usadas en la medicina tradicional para el tratamiento de la diarrea, se encuentran *Bidens odorata* Cav., *Heliotropium curassavicum* L. y *Chrysactinia mexicana* Gray, de las cuales no se tiene evidencia científica que avale su uso.

En estudios preeliminares realizados en ratones con diarrea inducida con aceite de ricino se encontró que el extracto clorofórmico de *B. odorata*, el extracto acuoso de *C. mexicana*, y el extracto clorofórmico de *H. curassavicum* tienen el mayor efecto antidiarreico.

Con base en estos resultados, se decidió proseguir con el estudio farmacológico de los extractos clorofórmico de *B. odorata* y *H. curassavicum* y del extracto acuoso de *C. mexicana*, sobre ratones con diarrea inducida con aceite de ricino, sulfato de magnesio, ácido araquidónico y prostaglandina E₂. También, se evaluó su efecto sobre la contracción inducida con carbacol en íleon aislado de rata.

Los resultados obtenidos muestran que el extracto clorofórmico de *B. odorata* a las dosis usadas inhibe significativamente la diarrea. El mayor efecto se observó a dosis de 300 mg/Kg.

Cuando se usó sulfato de magnesio como agente catártico, el mayor efecto antidiarreico se observó a dosis de 100 mg/Kg.

En la evaluación del efecto antidiarreico en ratones con diarrea inducida con ácido araquidónico, a dosis 200 mg/Kg se observó una inhibición significativa del cuadro diarreico.

Cuando se usó prostaglandina E₂ como agente catártico, no se observó disminución de la diarrea.

Se determinó el efecto del extracto clorofórmico de *B. odorata* sobre el tránsito intestinal. Los resultados muestran que dicho extracto disminuye significativamente el tránsito intestinal y que el efecto observado es semejante al presentado por la loperamida.

El extracto acuoso de *C. mexicana* inhibe la diarrea inducida con aceite de ricino, sulfato de magnesio y ácido araquidónico. El mayor efecto antidiarreico se

observó a dosis de 100 mg/Kg. Este extracto no tiene efecto sobre la diarrea inducida con prostaglandina E₂.

El extracto acuoso de *C. mexicana* a dosis de 100 mg/Kg, disminuyó significativamente el tránsito intestinal respecto al control negativo a los 30 y 60 minutos después de la administración del extracto, después de 90 minutos no se observó diferencia significativa entre el tránsito intestinal del grupo tratado con extracto y el control negativo.

Se encontró que el extracto clorofórmico de *H. curassavicum* a dosis de 200 mg/Kg presentó el mayor efecto antidiarreico.

Cuando se usó sulfato de magnesio como agente catártico el mayor efecto antidiarreico se tuvo a dosis de 100 mg/Kg.

En la evaluación del extracto cloroformico la planta *H. curassavicum* sobre la inhibición del tránsito intestinal se usó la dosis de 100 mg/Kg; se observó una disminución significativa en el tránsito intestinal del grupo administrado con el extracto cloroformico respecto al control negativo durante el tiempo de observación después de la administración del agente catártico.

En la evaluación de los extractos clorofórmicos de *B. odorata* y *H. curassavicum* sobre ileon precontraído con carbacol se encontró un efecto relajante en todas las concentraciones usadas.

Con los resultados anteriores se pudo concluir que, las plantas motivo de este estudio poseen la actividad antidiarreica que se les confiere en la medicina tradicional mexicana. Los extractos con mayor actividad antidiarreica son el clorofórmico de *Bidens odorata*, el acuoso de *Chrysactinia mexicana* y el clorofórmico de *Heliotropium curassavicum*.

Ninguno de los extractos ejerce efecto sobre las condiciones normales del tracto gastrointestinal ya que no afectan la defecación en animales sanos, ni modifican la actividad espontánea del ileon.

En el estudio fitoquímico de las plantas antes mencionada se encontró que los extractos clorofórmicos de *Bidens odorata* y *H. curassavicum* contienen alcaloides, el extracto acuoso de *Chrysactinia mexicana* contiene taninos, flavonoides y alcaloides.

Con base en lo anterior es posible atribuir el efecto antidiarreico a los alcaloides detectados en las tres plantas, ya que es bien conocido que éstos poseen una amplia variedad de efectos farmacológicos y entre ellos se encuentra la acción antidiarreica y antiespasmódica. Ejemplos de esto lo constituyen el difenoxilato y loperamida que son compuestos opiáceos derivados de la piperidina y que son usados para combatir la diarrea. Sin embargo, en el caso de *C. mexicana* debe considerarse la presencia de taninos, cuyo efecto astringente puede contribuir al efecto antidiarreico de esta planta.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	10
MARCO TEÓRICO.....	12
ANATOMÍA Y FUNCIONES DEL SISTEMA DIGESTIVO.....	14
Músculo liso.....	15
Mucosa intestinal.....	16
DIARREA.....	17
TIPOS DE DIARREA.....	18
Diarrea secretora.....	18
Diarrea osmótica.....	18
FÁRMACOS ANTIDIARREICOS.....	19
AGENTES DE CATÁRTICOS.....	22
PRODUCTOS NATURALES.....	24
<i>Bidens odorata</i> Cav.....	25
<i>Heliotropium curassavicum</i> L.....	26
<i>Chrysactinia mexicana</i> Gray.....	27
HIPÓTESIS.....	28
OBJETIVO GENERAL.....	29
OBJETIVOS PARTICULARES.....	30
MATERIAL Y MÉTODOS.....	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
CONCLUSIONES.....	53
BIBLIOGRAFÍA.....	54

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas son la causa principal de muerte en el mundo (WHO, 2005), entre estas se encuentran las infecciones del aparato digestivo. Uno de los síntomas desencadenados por este tipo de infecciones es la diarrea, el cual es considerado como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad. Los infantes son la población más afectada a nivel mundial, en 2003 se registraron más de 8 millones de muertes. Además, el 30 al 50 % de los pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) padecen diarrea crónica como el mayor problema clínico (WHO, 2005; Bafna y Bodhankar, 2003; Prado, 1998; Graeme y col., 1998; Ryu y col., 2004). Los estragos de la diarrea se perciben en mayor proporción en los países subdesarrollados (Alpers, 1996; Caciro, 1998; Misra, 1998).

La diarrea provoca una gran pérdida de agua y de electrolitos tales como sodio, potasio, magnesio y cloro, debido a esta pérdida, puede bajar la presión arterial, se produce deshidratación, anomalías del ritmo cardíaco, e incluso la muerte (Riverón, 1999; Ganong y col., 1998).

En México, de acuerdo con los datos aportados por la Academia Nacional de Medicina, el impacto de las enfermedades diarreicas ha registrado un decremento considerable en cuanto a mortalidad. No obstante, sigue siendo un padecimiento muy extendido entre la población, principalmente en el sector de bajos recursos que, por falta de servicios sanitarios, no tiene una higiene adecuada.

La diarrea es uno de los trastornos más graves en nuestro país, según el INEGI, 2002 y el Boletín Epidemiológico, 2005 ocupó los primeros lugares de los 15 casos con mayor incidencia.

Entre los medicamentos que son utilizados para combatir el cuadro diarreico se encuentran: loperamida, difenoxilato, difenoxina, subsalicilato de bismuto, octreotido, colestiramina, fenilefrina, y de fármacos recientes como el maleato de zaldarida y alosetrón. Sin embargo, estos medicamentos producen efectos no deseados tales como insomnio, estreñimiento agudo, taquicardias, en algunos casos adicción y en otros la muerte (Scarlet, 2004; Lacy, 2003; Bafna y Bodhankar, 2003; Khan y col., 2004; Greiner y col., 1999; De Luca y Coupar, 1993; Awouters y col., 1993; Sandhu y

col., 1981). Algunos como el difenoxilato se han retirado del mercado en algunos países (WHO, 2001) y el alosetrón ha sido recomendado para ser usado únicamente por mujeres bajo estricta vigilancia en los casos de intestino irritable, ya que se reportaron casos graves de constipación intestinal y algunas muertes relacionadas con el uso de este fármaco (Lacy y col., 2003).

En México gran parte de la población recurre a los productos naturales para aliviar muchas de las afecciones que la aquejan, entre ellas la diarrea (Lacy, 2003; Aguilar y col 1998., Argueta y col., 1994; Forés, 1997; Vibrans, 1995; 1997 y 1998).

Para contrarrestar las molestias fisiológicas que este síndrome provoca, se utilizan una gran variedad de plantas, las cuales en muchos casos no han sido sometidas a estudios científicos, que permitan confirmar el efecto antidiarreico que se les atribuye. Es por eso, que es necesario realizar estudios de aquellos productos naturales a los cuales recurre la población y asentar con bases científicas las propiedades farmacológicas de las plantas que son utilizadas en la medicina tradicional mexicana.

Por lo anterior, en este trabajo se propuso el estudio fitoquímico preliminar y la evaluación farmacológica de *Bidens odorata* Cav; *Heliotropium curassavicum* L. y *Chrysactinia mexicana* Gray, plantas que son utilizadas comúnmente entre la población para combatir la diarrea.

MARCO TEÓRICO

La diarrea puede originarse por la ingestión de alguna sustancia que sea irritante para el sistema digestivo del individuo, la ingestión de alimentos que estén contaminados con algún microorganismo patógeno, o bien por patologías desarrolladas en el tracto gastrointestinal (Scarlett, 2004; Lacy 2003). Dependiendo del agente causal, puede producirse diarrea secretora o diarrea osmótica (Kaila y col., 1997; Riverón, 1999; Hardman y col., 1996)

Absorción de nutrientes, agua y electrolitos.

El sistema digestivo es la vía por la que ingresan sustancias nutritivas, vitaminas, minerales y líquidos al cuerpo (Chitmo y col., 2004; Ganong y col., 1998). Al intestino, cada día llega un promedio de 2000 mL de líquido por la ingesta de agua y alimentos, además de 7000 mL que provienen de secreciones de la mucosa de las vías gastrointestinales y glándulas asociadas. Del volumen total de líquidos no más de 200 mL se desechan en las heces (Cermak y col., 1998; Athman y col., 2002).

En la mucosa se desplazan cantidades reducidas de agua, que en respuesta a gradientes osmóticos se mueve en ambas direcciones a través de la mucosa de los intestinos delgado y grueso.

En el intestino delgado es importante el transporte de Na^+ para la absorción de glucosa y de algunos aminoácidos. Por consiguiente la presencia de glucosa en la luz intestinal facilita la resorción de Na^+ . Esta es la base fisiológica para el tratamiento de la diarrea con el uso de soluciones que contienen NaCl y glucosa (Athman y col., 2002, Scarlett 2004). Otras sustancias que ingresan al cuerpo son las proteínas, grasas y carbohidratos, que son desdoblados en unidades absorbibles o digeribles, proceso que ocurre principalmente en el intestino delgado. Los productos de la digestión, las vitaminas, los minerales y el agua, cruzan la mucosa y penetran a la linfa o a la sangre (absorción). En la digestión ocurren procesos ordenados e incluyen la acción de una gran cantidad de enzimas digestivas. Al entrar el quimo desde el estómago al duodeno, es neutralizado por las secreciones alcalinas del páncreas, que le dan el grado de acidez necesario para que las diferentes enzimas del intestino delgado actúen sobre él. El jugo pancreático, además de una elevada concentración

de bicarbonato, contiene varias enzimas digestivos. El hígado también vierte sus secreciones en el intestino: la bilis almacenada previamente en la vesícula biliar, se expulsa al intestino según se va necesitando. La bilis contiene sales biliares que son potentes detergentes naturales que separan las grasas en pequeñas gotitas para que las enzimas del páncreas puedan actuar sobre ellas. Entre otras funciones, la bilis sirve de vía de excreción de ciertos materiales que no pueden ser expulsados por la orina y deben eliminarse por las heces (Scarlett, 2004; Radanovic y col., 2004; Lacy, 2003; Athman y col., 2002; Ganong y col., 1998; Cermak y col., 1998).

El proceso digestivo termina cuando los alimentos llegan a las enzimas que se encuentran en las células de las membranas luminarias y del intestino delgado. (Riverón, 1999).

Patologías del sistema digestivo que provocan diarrea

Además de las sustancias que modifican la secreción y absorción normal del intestino, en el sistema digestivo se producen las siguientes alteraciones o patologías que también modifican estos procesos (Chitine y col., 2004; Alpers, 1996).

Insuficiencia pancreática. Provocada por fibrosis quística y el Síndrome de Shwachman.

Infecciones gastrointestinales. Son provocadas por enteritis viral, bacteriana o parasitaria, y también por otros microorganismos como *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*.

Alteración anatómica o quirúrgica. Causada por enterocolitis necrotizante, intestino corto congénito, asa ciega, enfermedad de Hirschsprung y por linfanglectasia intestinal.

Intolerancia a carbohidratos. Es provocada por deficiencia de lactasa congénita, intolerancia secundaria a la lactosa, intolerancia racial a la lactosa y por mala absorción de glucosa-galactosa.

Enfermedades inflamatorias. Son provocadas por colitis ulcerosa y por la enfermedad de Crohn.

Atrofia de vellosidades. Es provocada por la enfermedad celiaca, intolerancia a proteínas, intolerancia a soja o a otras proteínas de la dieta alimenticia, atrofia congénita de micro vellosidades y enteropatía auto inmune.

Alteraciones de la motilidad intestinal. Son provocadas por la diarrea crónica inespecífica, el hipertiroidismo y la pseudo obstrucción intestinal idlopática.

Otras causas. Son menos frecuentes las α -betalipoproteinemias, enfermedad de Anderson, déficit de enteroquinasa, acrodermatitis enteropática, inmunodeficiencias y el Síndrome postenteritis (Zhang y col., 2003; Al-Awqati, 2002; McConnico y col., 2002; Lacy, 2003; Riverón, 1999; De Luca y Coupar, 1996).

ANATOMÍA Y FUNCIONES DEL SISTEMA DIGESTIVO

Desde la faringe posterior hasta el ano, la organización de las estructuras que constituyen el tubo digestivo comprende cinco capas del exterior al interior: la serosa que es una extensión del peritoneo; la musculosa formada por dos capas de fibras musculares lisas, una externa longitudinal y otra interna circular; la submucosa formada por tejido conjuntivo denso, la *muscularis mucosae* que esta constituida por una capa delgada de fibras musculares y por último, la mucosa formada por un epitelio de una sola capa que recubre a un tejido conjuntivo denominado lámina propia. En esta última capa es donde se ocurren los principales mecanismos que controlan la absorción de agua y electrolitos (Riverón, 1999; Ganong y col., 1998; Lacy, 2003; Scarlett, 2004).

El intestino delgado tiene forma tubular con una longitud aproximada de entre 5 y 8 m, está formado por 3 partes que son: duodeno, yeyuno e ileon. El intestino grueso mide alrededor de 1.5 m, se compone de ciego y apéndice; colon ascendente, transverso y descendente; sigmoide, recto y canal anal.

El intestino delgado posee una superficie de absorción que maximiza su eficiencia por medio de varios sistemas: las válvulas conniventes, las vellosidades y las microvellosidades. Estos sistemas hacen que el área de la superficie luminal de la mucosa del adulto sea de aproximadamente 200 m².

Otro elemento de gran importancia en el intestino son las criptas cuya función principal es producir continuamente células epiteliales (enterocitos) que cubren las vellosidades. Los enterocitos que cubren las extremidades y parte media de las vellosidades tienen como función principal la absorción, y por su parte, los enterocitos de las criptas de las vellosidades tienen función secretora (Fricker, 1993).

Músculo liso.

En general, el músculo liso se clasifica en visceral y multitudinario. El músculo liso visceral aparece en capas grandes, tiene puentes de baja resistencia entre las células musculares individuales. Los puentes, al igual que los que presenta el músculo cardíaco, son uniones donde las membranas de las células adyacentes se fusionan y forman uniones estrechas.

El músculo liso se encuentra formando parte de los sistemas respiratorio, digestivo, reproductor femenino y masculino, además del genitourinario. Este músculo se caracteriza por la inestabilidad de su potencial de membrana y por el hecho de que presenta contracciones continuas e irregulares, independientes de su estado de inervación; este estado sostenido de contracción parcial se llama tono.

La contracción o relajación en el músculo liso que forma el sistema digestivo ocurre por una serie de mecanismos que se ilustran en la Figura 1 y que se describen a continuación (Hansen y col., 2002, Ganong y col., 1998).

1. Fijación de la acetilcolina a los receptores muscarínicos o despolarización de los canales de calcio. Ambos eventos se inducen en la membrana celular.
2. Aumento del flujo de calcio hacia el interior de la célula.
3. Activación de la cinasa de cadenas ligeras de la miosina dependiente de la calmodulina.
4. Fosforilación de la miosina.
5. Fijación de la miosina a la actina y aumento de la actividad de la ATPasa de miosina.
6. Contracción.
7. Desfosforilación de la miosina por diversas fosfatasas.

luego al exterior de ellas y al interior del líquido intersticial (Lacy, 2003; Scarlett, 2004; OPS, 1987; Ryu y col., 2004; Aniagu y col., 2005).

Los enterocitos tienen una membrana apical hacia el lumen intestinal y una membrana basolateral hacia el espacio intercelular. Están unidos entre sí por espacios intercelulares, el lado correspondiente a la serosa se encuentra cerrado por la membrana basolateral y en los espacios intercelulares por la mucosa.

En la membrana basolateral se encuentran las enzimas del sistema $\text{ATPasa} - \text{Na}^+ - \text{K}^+$, que controlan la bomba de sodio. En la membrana apical del enterocito que esta expuesta al lumen intestinal es donde ocurre la entrada y salida de disolventes y solutos para la porción intracelular de dicho enterocito. Esto ocurre por difusión, transporte activo o facilitado a través del espacio intracelular (Ganong y col., 1998).

DIARREA

La diarrea es consecuencia de la disfunción en el transporte de agua y electrolitos a nivel del intestino. Como resultado de esta alteración se produce aumento de la frecuencia, cantidad y volumen de las heces; además, cambio en la consistencia de las heces debido al incremento de agua y electrolitos. Es un padecimiento que va de trastornos funcionales relativamente leves poco molestos y autolimitativos, hasta procesos graves en los que, cuando se presenta un cuadro de deshidratación y desnutrición, puede haber un importante desequilibrio hidroelectrolítico lo que poniendo en peligro la vida del enfermo.

La alteración que desencadena la diarrea puede ser a nivel de la digestión como ocurre en la fibrosis quística de páncreas, o bien por alterar la superficie de absorción, como ocurre en el intestino corto, la resección intestinal extensa, la atrofia severa de vellosidades intestinales o la atrofia congénita de microvellosidades. También puede producirse cuando la capacidad de absorción intestinal es deficiente y por esta razón se le coloca dentro de los procesos que la producen (McConnico y col., 2002; Riverón, 1999; Ganong y col., 1998; Sabanes y col., 1997).

TIPOS DE DIARREA

Diarrea secretora

Este tipo de diarrea es causado por el movimiento neto de agua y electrolitos desde la mucosa intestinal hasta el lumen y consecuentemente debido al aumento del peristaltismo intestinal. El volumen de la secreción, en este caso, excede a 10 mL/kg al día.

La diarrea secretora es una diarrea abundante que produce deshidratación desestabilizándose el equilibrio hidroelectrolítico y ácido-base. Es producida por *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli* enterotoxigénica, por *Shigella spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas*, y por la ingesta de ácidos grasos de cadena larga tales como el aceite de ricino (Scarlett, 2004; Field, 2003; Lacy, 2003; McConnico y col., 2002; Greiner y col., 1999; Riverón, 1999).

Diarrea osmótica

La diarrea osmótica es aquella que se produce por un incremento de carbohidratos en el lumen intestinal, como consecuencia de lesiones en forma de parches en las vellosidades intestinales o, por la invasión de los enterocitos de la vellosidad lo que provoca aglutinación de las vellosidades afectadas.

En la medida que las lesiones se hacen más extensas tendrá lugar una menor absorción y aumentará la secreción. Este mecanismo de producción de diarrea osmótica es el que provocan los agentes virales, principalmente los rotavirus, (Athman y col., 2002; Riverón, 1999).

Otro factor de producción de diarrea osmótica es el que ocurre por la adhesión de algunos protozoos al "borde en cepillo" de los enterocitos y bloquean la entrada de agua, electrolitos y de micronutrientes con el consecuente incremento de carbohidratos a nivel del lumen intestinal. Los carbohidratos son metabolizados por las bacterias y se produce ácido láctico dando lugar a una diarrea ácida que se traduce clínicamente por un marcado eritema perianal. Los parásitos que con mayor frecuencia desencadenan este tipo de diarrea con acentuada malabsorción a los carbohidratos son: *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Ciclospora cayetanensis* y *Microsporidios*. También puede producirse cuando se ingiere una sustancia

osmóticamente activa de pobre absorción, es decir, cuando se administran purgantes como el sulfato de magnesio. Si esta sal es ingerida con una solución isotónica, el agua y los solutos pasan por el intestino sin absorberse, y esto da lugar a una diarrea de tipo osmótica. Este tipo de diarrea se puede observar en los pacientes con malabsorción a los disacáridos (lactosa) y en lactantes alimentados con la leche materna (exceso de lactosa) o cuando se administran grandes cantidades de leche animal o leches muy concentradas (Radanovic y col., 2004; Field, 2003; Athman y col., 2002; Riverón, 1999).

FÁRMACOS ANTIDIARREICOS

El tratamiento para la diarrea consiste principalmente en la eliminación de la causa; en el caso de diarrea infecciosa, en primer lugar debe administrarse un antibiótico, después de esto y sólo cuando la diarrea sea relacionada con otros agentes, se puede administrar un antidiarreico.

Aunque existe una gran variedad de compuestos con actividad antidiarreica, pocos son los que se pueden usar con confianza en la práctica clínica (Lacy, 2003; WHO: 2001, 2002).

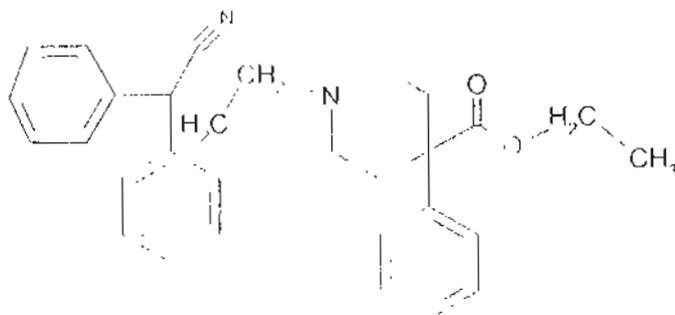
OPIOIDES

Los fármacos que se encuentran dentro de este grupo disminuyen la motilidad del músculo liso y por tanto ejercen una disminución del tránsito intestinal lo provoca reducción de la secreción y en consecuencia se estimula la absorción. Dentro de estos, se encuentran el Difenoxilato y la Loperamida.

Difenoxilato

Es un opioide de la piperidina relacionado desde el punto de vista estructural con la meperidina.

Después de su absorción, es desestorificado a difenoxina que es un metabolito activo y que se elimina rápidamente, a dosis altas puede producir cierto grado de depresión respiratoria y cuando es utilizado por un tiempo prolongado puede producir atonía intestinal.



Difenoxilato

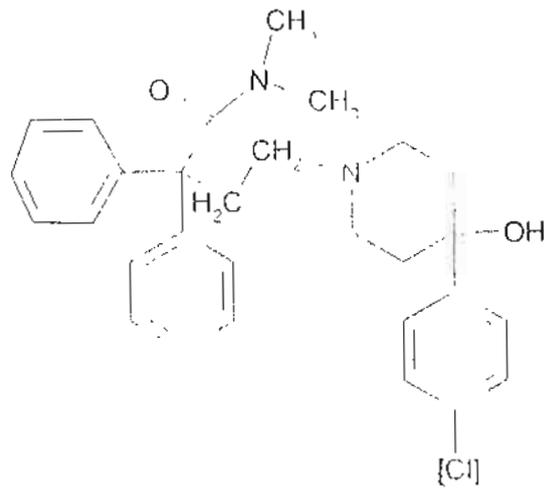
No debe ser usado en pacientes con ictericia obstructiva ni en niños.

Actualmente, en algunos países se ha prohibido el uso de las formas farmacéuticas que contienen dicho fármaco (WHO, 2001; Hardman y col., 1996; De Luca y Coupar., 1993 y 1996).

Loperamida

La loperamida también es un opioide de la piperidina.

Estimula a los receptores opiáceos, al igual que la morfina, actúa exclusivamente al nivel de la mucosa intestinal. Al inhibir la motilidad intestinal, bloquea la salida de agua producida en la ingesta diaria y el metabolismo humano.

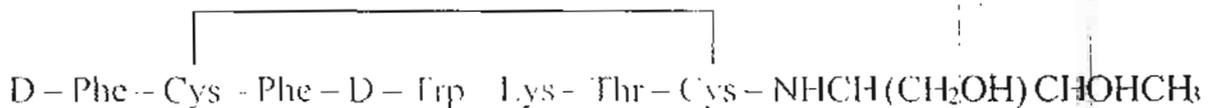


Loperamida

Provoca depresión del Sistema Nervioso Central (SNC) y del centro bulbar de la respiración, su uso crónico provoca adicción y síndrome de privación y constipación intestinal (Hardman y col., 1996; De Luca y Coupar, 1996 y 1993; Awouters y col., 1993).

Octreotido

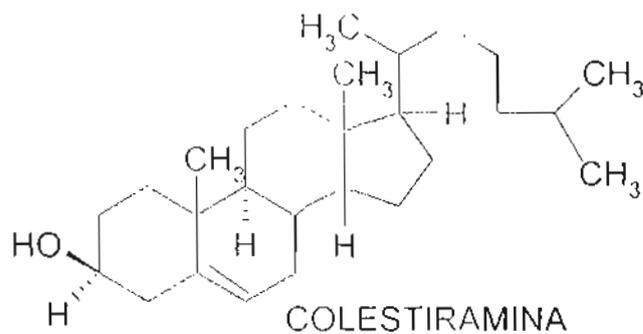
Actúa sobre el sistema endócrino inhibiendo la producción de ácido gástrico y del pepsinógeno y disminuye la contracción del músculo liso (Hardman y col., 1996).



Octreotido

Colestiramina

Actúa como antidiarreico cuando la diarrea es causada por una malabsorción de ácidos biliares, se usa en pacientes con síndrome de colon irritable o aquellos que fueron sometidos a resección ileal (Hardman y col., 1996).



Otro fármaco antidiarreico de reciente aparición en el mercado es el alosetron, es utilizado en la terapéutica para el control de la diarrea cuando está asociada con el Síndrome de Intestino Irritable. Se introdujo al mercado en Noviembre del 2000; sin embargo, en Junio del 2002 debido a severos casos de constipación intestinal e incluso a la muerte de algunos pacientes, la FDA recomendó que se usara solo en pacientes mujeres con Síndrome de Intestino Irritable a dosis menores de 1 mg/día. (Lacy, 2003)

Compuestos antidiarreicos en estudio

En la actualidad hay moléculas con actividad antidiarreica en estudio, tal es el caso del maleato de zaldarida, que actúa inhibiendo la sintasa del óxido nítrico relacionada con la biosíntesis del ácido araquidónico o la producción de superóxidos, inhibe también la actividad del adenilato ciclasa (Aikawa y col., 2000).

Medicamentos a partir de productos naturales

Recientemente se han comenzado a utilizar formas farmacéuticas de extractos de plantas, de las que se desconoce la molécula responsable de la actividad, pero que se estandarizan para crear la patente como marca registrada a partir de la cuantificación de uno o más de los metabolitos plenamente identificados. Tal es el caso de Mebarid[®] cápsulas, que es un producto que contiene extractos de 4 plantas medicinales, con el cual según pruebas que fueron realizadas, tiene efecto inhibitorio sobre la diarrea provocada por aceite de ricino (Bafna y Bodhankar, 2003). Otro producto con marca registrada es Soonkijangquebo[™], que inhibe la diarrea

provocada por aceite de ricino, y también tiene efecto relajante sobre el ileón y al igual que el Verapamilo bloquea los canales de Ca^{2+} (Ryu y col., 2004).

AGENTES DE CATÁRTICOS

Aceite de ricino

El aceite de ricino es un líquido viscoso casi incoloro o ligeramente amarillo, se obtiene de las semillas del árbol *Ricinus communis* (Mckeon y col., 2000; Kishino y col., 2002; Billault y col., 2004). Por sus propiedades químicas se usa como precursor de numerosos productos tales como lubricantes, pinturas, productos para recubrimiento de acabados, plásticos, cosméticos y antifúngicos (Mckeon y col., 2000), ejerce un efecto laxante aproximadamente a los 45 minutos de su ingesta (Mckeon y col., 2000; Tangpu y Yadav, 2004).

Con la ingesta del aceite de ricino, las lipasas como la fosfolipasa pancreática lo hidrolizan a glicerol y a ácido ricinoleico que también es producido por algunos organismos patógenos, el ácido ricinoleico es el precursor de leucotrienos, tromboxanos y prostaglandinas; las prostaglandinas E_2 (PGE_2) contribuyen a que se estimule la motilidad del intestino (Hardman y col., 1996; Billault y col., 2004; Tangpu y Yadav, 2004).

También ejerce su efecto laxante porque produce irritación e inflamación de la mucosa intestinal estimulando así la liberación de colesistocininas (Tangpu y Yadav, 2004), las cuales actúan como secretagogos y aumentan la motilidad intestinal (Euser y Cipolla, 2004; Hardman y col., 1996; Voel y Voet, 1992).

La irritación de la mucosa reduce también la absorción de electrolitos como Na^+ , K^+ y agua (Rouf y col., 2003; Shoba y Mply., 2001).

Laxantes salinos

Dentro de los laxantes salinos se encuentran el sulfato de magnesio y los fosfatos de sodio, entre otros.

El efecto catártico del sulfato de magnesio aparece de 1 a 2 horas después de su ingesta; primeramente provoca una irritación en la mucosa del intestino con lo que

cambia la osmolaridad, disminuyendo su capacidad de absorción. La irritación que provoca en el intestino, también estimula la liberación de colecistocinina (Field, 2003), hormona que estimula la secreción intestinal, además ejerce un efecto sobre la motilidad del mismo (Euser y Cipolla, 2004; Hardman y col., 1996; Voet y Voet, 1992).

PRODUCTOS NATURALES

A finales del siglo XVI y durante el siglo XVII se escribieron algunos documentos basados en el conocimiento de diferentes grupos étnicos sobre las propiedades y usos de las plantas, entre los que se encuentra la obra de Sahagún (Historia General de las Cosas de la Nueva España) escrita entre 1529 y 1563 (Sahagún, 1975), la cual incluye 3500 especies vegetales, sus usos y sus propiedades, pero no mencionan los principios teóricos y las prácticas comunes que la población tenía sobre éstas.

El uso de plantas medicinales data de tiempos prehispánicos, como lo registrado en el Códice Badiano, sin embargo, muchas de las especies utilizadas no han sido sometidas a estudios formales que permitan comprobar y avalar su uso por la comunidad mexicana (Aguilar y col., 1998; Forés, 1997; Argueta y col., 1994; Domínguez, 1979).

Dentro de la gran variedad de plantas medicinales utilizadas para el tratamiento de la diarrea, se encuentran *Bidens odorata* Cav. *Heliotropium curassavicum* L. y *Chrysactinia mexicana* Gray, de las cuales no se tiene evidencia científica que avale el uso de éstas.

Bidens odorata Cav.

Es una planta herbácea de hasta 1 m de altura muy ramificada que pertenece a la familia Asteraceae (Compositae), tiene el tallo cuadrangular con pequeños pelos, sus hojas tienen de 3 a 5 folículos enteros, ovados a ovado-lanceolados. Sus flores son en forma de cabezuelas con ligulas blancas y una venación morada su fruto es pequeño negrusco café (Figura 2). Es usada tradicionalmente en México para tratar diversos desordenes del aparato digestivo, tales como diarrea, vómito, dolor e infección estomacal, para el dolor de huesos, de cabeza y de riñones. Las hojas se utilizan para combatir la ictericia, como tranquilizante y antipirético. Habita a la orilla de caminos y en los campos de cultivo en zonas de clima calido a templado, florece desde el mes de agosto hasta enero, se le conoce principalmente como aceitilla, mozoquelite, té de milpa blanco, amor seco, etc. (Aguilar y col., 1998; Argueta y col., 1994; Boettler, 2004).



Figura 2. *Bidens odorata* Cav.

Heliotropium curassavicum L.

Es una planta de 10 a 60 cm de alto, de la familia Boraginaceae sus hojas tienen la punta ancha y sus dos caras son de color verde. Sus flores son de color blanco y con la forma de cola de alacrán, sus frutos son pequeños y divididos en cuatro partes. Habita en climas semisecos, florece la mayor parte del año (Figura3).

Las ramas de esta planta se usan para controlar las enfermedades venéreas, el asma, la fiebre, la anemia, la inflamación del bazo, trastornos del sistema digestivo y contra el piquete de alacrán. En México, se le conoce con los nombres comunes de chile piquín, chiltepin, cola de alacrán, heliotropo, hoja de sapo (Argueta y col., 1994).



Figura 3. *Heliotropium curassavicum* L.

Chrysactinia mexicana Gray

Es un arbusto muy aromático de hasta de 60 cm de alto; de la familia Asteraceae sus hojas son algo carnosas, lineares, de 5 a 15 mm de largo, verde oscuras, tiene flores liguladas amarillas al igual que sus corolas (Figura 4). En la medicina tradicional se le atribuyen propiedades farmacológicas como: afrodisíaco, antiespasmódico, sudorífico, diurético, tónico y febrífugo; se usa para ayudar en casos de menstruación dolorosa, enfermedades venéreas y leucorrea. En México, se le conoce con los nombres de damiana, falsa damiana y hierba de San Nicolás, (Sánchez, 1978; Martínez, 1996; Rzedowski, Rzedowski, 1979).

Del aceite esencial de esta planta recientemente se aislaron e identificaron varios compuestos tales como el α -felandreno; α -mirceno; α -tujona; acetato de 1-metil-4-(1-metil etenil); ciclohexanol; 2-etil-6-metil bencenammina; 3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol; *trans*-limoneno, 4-metil-1-(1-metil etil)-3-ciclohexen-1-ol; *cis*-limoneno; éster S-(tetrahydro-2H-piran-3-il) etanetiónico; acetato de exo-2-hidroxicineol; exo-2-hidroxicineol; fenol y éster 3-fenil-2-propenil etílico. En concentraciones altas se encontraron el acetato de linalilo, el eucaliptol y la piperitona. A estos compuestos mayoritarios, se les determinó la actividad antifúngica sobre *Aspergillus flavus* Link, se encontró que la piperitona tiene efecto fungicida a una concentración de 0.6 mg/mL (Cárdenas y col. 2005)

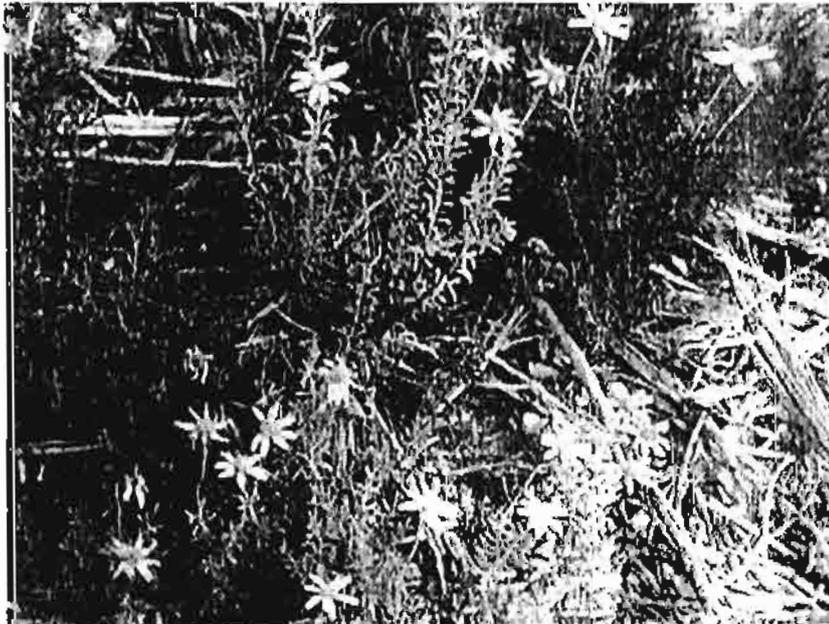


Figura 4. *Chrysactinia mexicana* Gray

HIPÓTESIS

La evaluación farmacológica de los extractos acuoso, metanólico y clorofórmico de *Bidens odorata*, *Heliotropium curassavicum* y *Chrysactinia mexicana*, pondrá de manifiesto si estas plantas poseen o no actividad antidiarreica y los compuestos presentes en los extractos activos podrán ser determinados por medio de un análisis químico.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antidiarreica de diferentes extractos de *Bidens odorata* Cav, *Heliotropium curassavicum* L. y *Chrysactinia mexicana* Gray, y realizar el estudio fitoquimico de los extractos con actividad antidiarreica.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener extractos clorofórmico, metanólico y acuoso de las plantas motivo de este estudio
- Determinar el efecto antidiarreico de los extractos obtenidos
- Determinar el efecto de los extractos activos sobre la diarrea inducida con distintos agentes catárticos
- Determinar el efecto de los extractos con mayor actividad antidiarreica, sobre el tránsito intestinal en ratas
- Determinar el efecto de los extractos activos sobre la contracción inducida con carbacol en íleon aislado de rata
- Realizar el estudio fitoquímico de los extractos con actividad antidiarreica

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Se usaron ratones albinos macho cepa CDI (20 – 25 g), y ratas de la cepa Wistar macho (150 – 250 g) los cuales fueron suministrados por el Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Los animales se mantuvieron en un ambiente de humedad relativa de 50 %, a una temperatura de 21° C, con ciclos de luz oscuridad de 12/12 horas, con acceso a agua y alimento "Purina" para roedores *ad libitum*. El uso, cuidado y manejo de los mismos se apegó a la NOM-062-ZOO, 1999. Se les retiró el alimento de 10 a 16 horas antes de cada experimento.

Material Vegetal

Bidens odorata se colectó en Fortín de las Flores, Veracruz en el mes de noviembre del 2003, *Heliotropium curassavicum* L. en Papantla, Veracruz en el mes de octubre del 2002 y *Chrysactinia mexicana* en San Luis Potosí en el municipio de Guadalucazar en marzo del 2002. Las plantas se secaron a la sombra y se molieron.

Obtención de los extractos (Zavala, 1998; Zavala y col., 2002 y 2003)

En un matraz balón de 2 L provisto de un refrigerante en posición de reflujo se colocaron 125 g de planta seca y 1500 mL del disolvente (cloroformo, metanol o agua). La mezcla se calentó a temperatura de reflujo durante 4 h. Posteriormente los extractos se dejaron enfriar y se filtraron.

El metanol y el cloroformo se eliminaron a presión reducida en un evaporador rotatorio y el residuo de éstos, se secó en una estufa de vacío a temperatura ambiente durante 24 horas. El extracto acuoso se liofilizó.

Análisis fitoquímico

Los extractos activos se sometieron a un análisis fitoquímico de acuerdo a los métodos descritos por Domínguez, 1979 y Harborne, 1998. Se realizaron las pruebas de FeCl_3 -NaCl y HCl para detección de taninos; de NaOH, KOH, NH_4OH y Shinoda

para detectar flavonoides, Dragendorff, Mayer, Scheibler, ácido silicotúngstico y Wagner para detectar alcaloides y las reacciones de Lieberman-Bourchart y Vainillina/H₂SO₄ para detectar saponinas.

Preparación de las muestras para la evaluación farmacológica (Zavala, 1998; Zavala y col., 2002 y 2003)

La cantidad necesaria del extracto clorofórmico se disolvió en cloroformo y se mezcló en una proporción de 1 a 4 (p/p) con polivinilpirrolidona (PVP) previamente disuelta en metanol. Los disolventes se eliminaron en un evaporador rotatorio a presión reducida y el residuo se secó en una estufa de vacío a temperatura ambiente. El residuo se resuspendió en el volumen necesario de una solución acuosa de Tween 80 al 1 % para administrar vía oral la dosis deseada en 0.1 mL de solución. El extracto metanólico se suspendió inicialmente en metanol y se preparó de la misma forma que el extracto clorofórmico. Como vehículo se utilizó una solución de PVP preparada de la misma manera. El extracto acuoso se disolvió en agua y se administró directamente.

Inducción de diarrea con aceite de ricino o sulfato de magnesio (Megens y Niemegeers, 1984; Melo y Mukherjee, 1988)

Se utilizaron tres lotes de cinco ratones cada uno. Como agente catártico se utilizó aceite de ricino a dosis de 3 mL/Kg; en el caso de sulfato de magnesio se utilizó una dosis de 2.5 mg/Kg.

A uno de los grupos de animales se les administró por vía oral el extracto a evaluar, a otro loperamida (2.5 mg/Kg), y al último grupo únicamente el vehículo. 30 minutos después; a todos los grupos se les administró el agente catártico (aceite de ricino o sulfato de magnesio).

Después de la administración del agente catártico, los animales se colocaron en cajas de acrílico transparente, poniendo al fondo papel filtro blanco, cada hora se contabilizó el número de heces las cuales se clasificaron en tres grupos, heces duras, blandas y líquidas. Para calcular el porcentaje de inhibición de la diarrea, sólo se consideró el número de heces líquidas del grupo tratado y se compararon con el

número de heces líquidas en el grupo control negativo, el cálculo del porcentaje de inhibición se realizó de acuerdo a la fórmula siguiente.

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Heces diarreicas del lote de prueba}}{\text{Heces diarreicas del lote de control negativo}} \times 100$$

Inducción de diarrea con ácido araquidónico

Se utilizaron tres lotes de cinco ratones. Como agente catártico se utilizó ácido araquidónico a dosis de 3 mg/Kg.

A uno de los grupos de animales se les administró por vía oral el extracto a evaluar, a otro loperamida a 2.5 mg/Kg, y al último grupo únicamente el vehículo. 30 minutos después a todos los grupos se les administró ácido araquidónico, el cual se preparó de la siguiente manera: 10 mg de ácido araquidónico se disolvieron en 1 mL de etanol, se adicionaron 0.6 mL de una solución de carbonato de sodio preparada a una concentración de 16 mg/mL. La solución se diluyó a 10 mL con solución salina y se administró por vía intraperitoneal (i.p.) el volumen equivalente a la dosis antes mencionada.

Para la evaluación de la actividad se utilizó la misma metodología descrita en el modelo de inducción de diarrea con aceite de ricino.

Inducción de diarrea con prostaglandina E₂

Se utilizaron tres lotes de cinco ratones. Como agente catártico se usó prostaglandina E₂ a dosis de 1 mg/Kg.

A uno de los grupos de animales se les administró por vía oral el extracto a evaluar, a otro loperamida a 2.5 mg/Kg, y al último grupo únicamente se le administró el vehículo 30 minutos después a todos los grupos se les administró prostaglandina E₂, que se preparó de la siguiente manera: 1 mg de prostaglandina se disolvió en 1 mL de etanol y se adicionaron 1.8 mL de una solución de carbonato de sodio preparada en concentración de 0.1% p/v. La solución se diluyó a 6.5 mL con solución salina y se administró el volumen equivalente a la dosis antes mencionada, por vía intraperitoneal (i.p.).

La evaluación de la actividad se realizó según se describió en el modelo de inducción de diarrea con aceite de ricino.

Determinación del efecto sobre la defecación normal (Zavala y col., 2003, 2002 y 1998)

Se utilizaron tres lotes de cinco ratones por cada uno. A uno de los grupos se les administró por vía oral una de las dosis del extracto a evaluar, y al segundo grupo loperamida, disueltos en el volumen necesario para ajustar un volumen total de 0.1 mL, según fue necesario. Al grupo control únicamente se le administró 0.1 mL de vehículo.

Cada hora se evaluó el número de heces y para calcular el porcentaje de modificación sobre la defecación, se consideró el número de heces del grupo administrado sólo con vehículo, y el número de heces en los grupos tratados con extracto, de acuerdo con la fórmula siguiente.

$$\text{Defecación normal} = \frac{\text{Heces de grupos tratados con extracto o loperamida}}{\text{Heces de grupos tratados con vehículo}} \times 100$$

Determinación del tránsito intestinal en ratas. (Zavala y col., 2003, 2002 y 1998, Vischer & Casals-Stenzel, 1983)

Se usaron ratas macho albino cepa Wistar de 200 a 250 g, formando cuatro grupos de 15 ratas cada uno.

A dos grupos, se les administró por vía oral 1 mL de tween 80 al 1%. A un tercer grupo, se le administró el extracto a la dosis en la que se determinó el mayor efecto antidiarreico. Al cuarto grupo se le administró loperamida a dosis de (2.5 mg/Kg). Treinta minutos después, al grupo utilizado como control se le administró por vía oral 1 mL de agua mezclado con 1.5 mL de una suspensión de grafito al 4% en agar – agar al 1.5%. A los otros tres grupos se les administró 1.5 mL de la suspensión de agar conjuntamente con 1 mL de aceite de ricino.

A los 30, 60 y 90 minutos después de la administración del marcador (suspensión de grafito), se sacrificaron por dislocación cervical cinco ratas de cada

grupo, e inmediatamente se extrajo el intestino doblado y se colocó sobre una charola de disección, provista de solución salina al 0.85 %. Se midió la longitud total del intestino, que corresponde al 100 % así como la distancia recorrida por el marcador, y se utilizó la fórmula siguiente para calcular el porcentaje de recorrido intestinal

$$\text{Porcentaje de Recorrido} = \frac{\text{Longitud del recorrido del grafito (cm)} \times 100}{\text{Longitud total del intestino (cm)}}$$

Determinación del efecto relajante sobre ileon de rata (Ponce y col., 2003).

Se utilizaron ratas macho adultas de la cepa Wistar 250 a 300 g de peso. Los animales se sacrificaron por dislocación cervical y por medio de una incisión abdominal se extrajo un segmento de intestino delgado (íleon) proximal al ciego, (10 cm aproximadamente).

El íleon se colocó en una caja petri con solución Salina Fisiológica (SSF) preparada de acuerdo a la siguiente composición (mM): NaCl 120, NaHCO₃ 20, KCl 4.7, NaH₂PO₄ 1.2, MgCl₂ 1.2, CaCl 1.5 y glucosa 11.

Al íleon se le retiró el mesenterio y se cortó en anillos de aproximadamente 1 cm de longitud. Los anillos obtenidos, se colocaron en cámaras de vidrio de 2 mL para tejidos aislados con solución salina fisiológica a la cual se le burbujeó constantemente una mezcla 5 % CO₂ en O₂, la solución se mantuvo a un pH de 7.4, el sistema se mantuvo a temperatura constante de 36 °C.

Para registrar la actividad contráctil, los anillos del ileon se sujetaron por un extremo con un hilo de seda (0000) a la base de la cámara y el otro a un transductor de tensión FT03 (para un registro isométrico) conectado a un poligrafo Grass modelo TBRS2. Los anillos del íleon se estabilizaron en SSF una hora cambiando cada 10 minutos dicha solución, y se mantuvo la tensión de 1g durante todo el experimento.

La reproducibilidad de la respuesta contráctil se comprobó después de obtener dos respuestas contráctiles con amplitud semejante (variación de menos del 10% entre la primera y la segunda), las cuales se indujeron con una solución despolarizante de K⁺ (23 mM). En seguida se lavó el tejido con SSF y se incubó por 10 minutos con los diferentes extractos a concentraciones variables (1, 3, 10, 30,

100, 300, $\mu\text{g} / \text{mL}$), midiendo la amplitud de la respuesta con carbacol $10 \mu\text{M}$ para cada concentración de extracto y así determinar más efectiva de extracto, posteriormente se construyó una curva con las contracciones de ileon preincubado con extracto agregando concentraciones variables de carbacol (0.01, 0.1, 1, 10 y $100 \mu\text{M}$).

El extracto clorofórmico se disolvió en una mezcla de etanol : dimetilsulfóxido en proporción 1:1 (Ponce y col., 2003; Nishikawa y col., 2002).

El resultado de amplitud de la respuesta contráctil inducida por las distintas concentraciones de carbacol se expresó en porcentaje de contracción de manera que la amplitud de la respuesta inducida por el agente contráctil en ausencia de los extractos se tomó como el 100% y la amplitud de la respuesta inducida por las distintas concentraciones del agente contráctil en los tejidos preincubados con extracto se comparó con la respuesta considerada como el 100%.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de la inhibición de diarrea fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA), seguido de comparación múltiple por medio de la prueba de Tukey, mientras que los resultados obtenidos de la inhibición del tránsito intestinal y los del efecto relajante de los extractos se sometieron a un análisis con la prueba de Kruskal-Wallis seguido de una comparación múltiple por medio de la prueba de Dunn.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del proceso de extracción a reflujo con cloroformo o metanol se obtuvieron gomas resinosas de color verde oscuro hasta café. Del extracto acuoso se obtuvo un polvo café amarillento. Los rendimientos obtenidos de los extractos acuoso, metanólico y clorofórmico de *B. odorata*, *C. mexicana* y *H. curassavicum* se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Rendimiento de los extractos obtenidos de *B. odorata*, *C. mexicana* y *H. curassavicum*

Extracto	<i>B. odorata</i>	<i>C. mexicana</i>	<i>H. curassavicum</i>
Acuoso	5.88 %	20.1 %	4.7 %
Metanólico	10.4 %	8.06 %	5.8 %
Clorofórmico	9.04 %	13.16 %	9.95 %

Los resultados obtenidos en la evaluación preliminar del efecto antidiarreico de los extractos clorofórmico, metanólico y acuoso de las tres especies de plantas a dosis de 100 mg/Kg, en ratones con diarrea inducida con aceite de ricino, se presentan en la tabla 4.

Se observa que los tres extractos de *B. odorata* presentaron actividad antidiarreica a esta dosis, sin embargo, el extracto clorofórmico es el que mostró la mayor inhibición (45.6 %), mientras que los extractos metanólico y acuoso inhibieron solamente un 26.1 y 22.4 % respectivamente.

El extracto acuoso de *C. mexicana* a dosis de 100 mg/kg, presentó la mayor actividad (70.18 % de inhibición), en tanto los extractos metanólico y clorofórmico inhibieron aproximadamente en un 35% el cuadro diarreico.

Los extractos clorofórmico y el metanólico de *H. curassavicum* inhibieron el cuadro diarreico en 46 y 34 % respectivamente, en cambio el extracto acuoso no tuvo actividad.

Tabla 4. Actividad antidiarreica de los extractos de *B. odorata*, *C. mexicana* y *H. curassavicum* a dosis de 100 mg/Kg, en diarrea inducida por aceite de ricino en ratones cepa CD 1.

PORCENTAJE DE INHIBICIÓN			
Extracto	<i>B. odorata</i>	<i>C. mexicana</i>	<i>H. curassavicum</i>
Acuoso	22.4 ± 4.7	70.18 ± 2.12	14.29 ± 3.53 ^{NS}
Metanólico	26.1 ± 5.8	35.42 ± 5.51	34.09 ± 3.71*
Clorofórmico	45.6 ± 6.3	37.5 ± 6.25	46.24 ± 5.7*
Loperamida 2.5 mg/Kg	39.77 ± 5.37		

Los resultados son la media de 3 grupos de 5 animales ± el error estandar * p < 0.05, ** p < 0.01
NS = diferencia no significativa; respecto al control negativo.

Con base en estos resultados, se decidió proseguir con los estudios farmacológicos y fitoquímicos de los extractos clorofórmicos de *Bidens odorata* y *Heliotropium curassavicum*; así como del extracto acuoso de *Chrysactinia mexicana*, que fueron los extractos que presentaron mayor actividad.

Bidens odorata Cav.

El extracto clorofórmico de *B. odorata* a dosis de 50 mg/Kg, no inhibió la diarrea inducida con aceite de ricino, mientras que a dosis de 100, 200 y 300 mg/Kg, se observó una inhibición significativa de la diarrea (Tabla 5). El mayor efecto se obtuvo a dosis de 300 mg/Kg (77.1 % de inhibición), resultado semejante al observado a dosis de 200 mg/Kg (72.7%).

Los resultados obtenidos en la evaluación del efecto antidiarreico, cuando se usó sulfato de magnesio como agente catártico, muestran que con las tres dosis del

extracto evaluadas, hay una inhibición significativa de la diarrea respecto al grupo control negativo. Sin embargo, el mayor efecto se observó a dosis de 100 mg/Kg, (84.85 % de inhibición), el cual disminuyó al aumentar la dosis a 200 mg/kg (69.7% de inhibición).

Este extracto a dosis de 50, 100, 200 y 300 mg/Kg, no modificó de manera significativa la defecación normal.

Tabla 5. Resultados de la evaluación del efecto antidiarreico del extracto clorofórmico de *B. odorata* en ratones con diarrea inducida con aceite de ricino y con sulfato de magnesio. Los resultados se presentan en porcentaje de inhibición

Dosis (mg/Kg)	Aceite de ricino	Sulfato de magnesio
50	17.54 ± 4.6 ^{NS}	66.70 ± 6.7 ^{**}
100	45.6 ± 6.3 [*]	84.85 ± 3.03 ^{**}
200	72.72 ± 5.25 [*]	69.7 ± 6.03 ^{**}
300	77.10 ± 1.04 ^{**}	-----
Loperamida 2.5	89.77 ± 5.37	87.50 ± 3.25
0.1 mL Vehículo	0.0	0.0

Los resultados son la media de 3 grupos de 5 animales ± error estándar.
^{*}p<0.05, ^{**}p<0.01, NS = No significativo, respecto a control negativo.

El efecto del extracto clorofórmico de *B. odorata* sobre el tránsito intestinal a dosis de 200 mg/Kg se muestra en la Tabla 6 y en la Figura 5, donde se observa una disminución significativa en el tránsito intestinal en el grupo administrado con el extracto clorofórmico con respecto al grupo control negativo a los 30, 60 y 90 minutos después de la administración del agente catártico; y es semejante al presentado por los animales administrados con loperamida (2.5mg/Kg) y al grupo no tratado con aceite de ricino.

TABLA 6. Actividad del extracto clorofórmico de *B. odorata* a dosis de 200 mg/Kg sobre el tránsito intestinal en rata.

Tratamiento	% Tránsito Intestinal		
	30 min	60 min	90 min
Agar + Grafito + Agua	48.1 ± 1.27	56.2 ± 1.93	74.47 ± 2.33
Loperamida 2.5 mg/Kg	50.28 ± 2.07	59.89 ± 2.11	77.89 ± 2
Agar + Grafito + Ricino	58.92 ± 2.16	99.8 ± 0	100 ± 0
Extracto 200 mg/Kg	51.4 ± 1.77 *	56.97 ± 1.53 **	68.4 ± 1.93 **

Los resultados son la media de 5 animales ± el error estándar
 * p < 0.05 ** p < 0.01 Respecto al control negativo

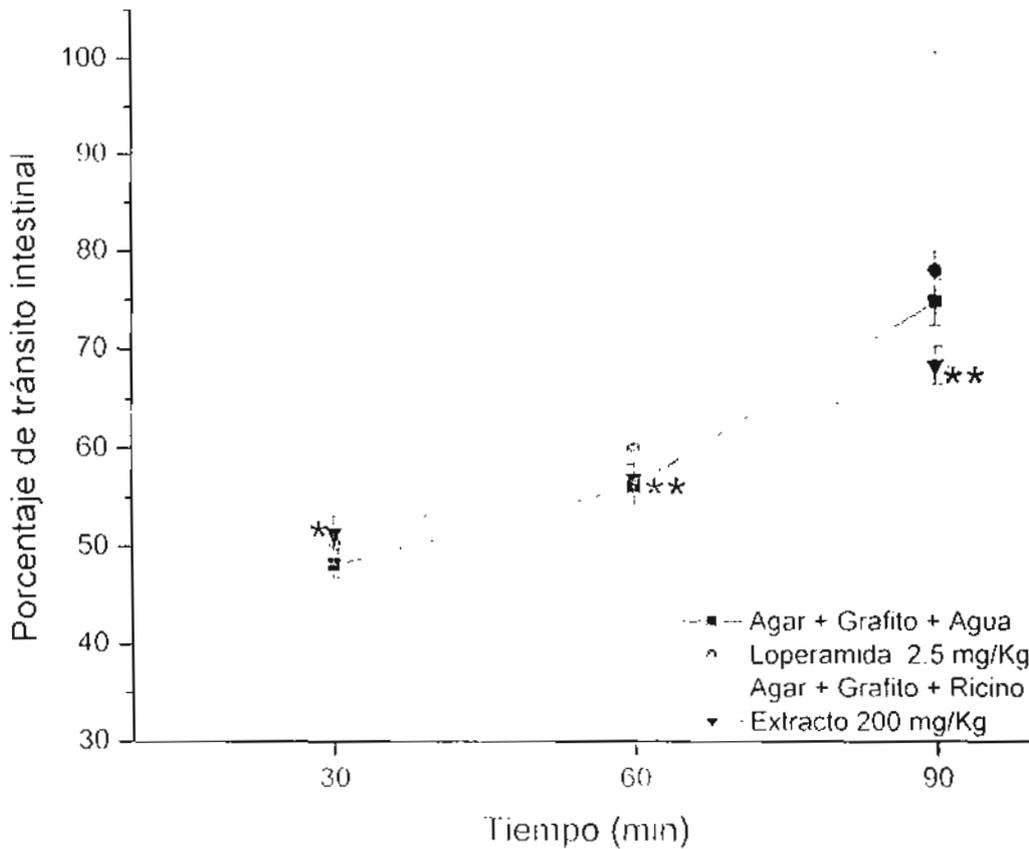


FIGURA 5. Actividad del extracto clorofórmico de *B. odorata* a dosis 200 mg/Kg sobre el tránsito intestinal. * p < 0.05, ** p < 0.01 Respecto a grupo administrado solo con aceite de ricino.

Cuando se evaluó el efecto del extracto clorofórmico de *B. odorata* a concentraciones de 0.3, 1, 3, 10, 30 y 100 µg/mL sobre ileon precontralido con carbacol a concentraciones de 0.01, 0.1, 1, 10 y 100 µM, se encontró que el mayor efecto se obtuvo con la concentración de 100 µg/mL de extracto (Tabla 7 y Figura 6).

Tabla 7. Efecto relajante del extracto clorofórmico de *B. odorata* (100 µg/mL) sobre la contracción inducida con carbacol en ileon.

Tratamiento	PORCENTAJE DE CONTRACCIÓN				
	0.01 µM	0.1 µM	1 µM	10 µM	100 µM
Carbacol					
Vehículo	7.15 ± 2.6	10.71 ± 3.9	55.36 ± 2.57	84.52 ± 3.28	93.45 ± 3.38
100 µg / mL Extracto clorofórmico	0 ^{NS}	0.59 ± 0.59 **	30.06 ± 1.98 **	44.05 ± 4.2 **	38.09 ± 3.28**

Los resultados son la media de 6 tejidos provenientes de 3 animales ± el error estándar.

** p < 0.001, NS = No significativo

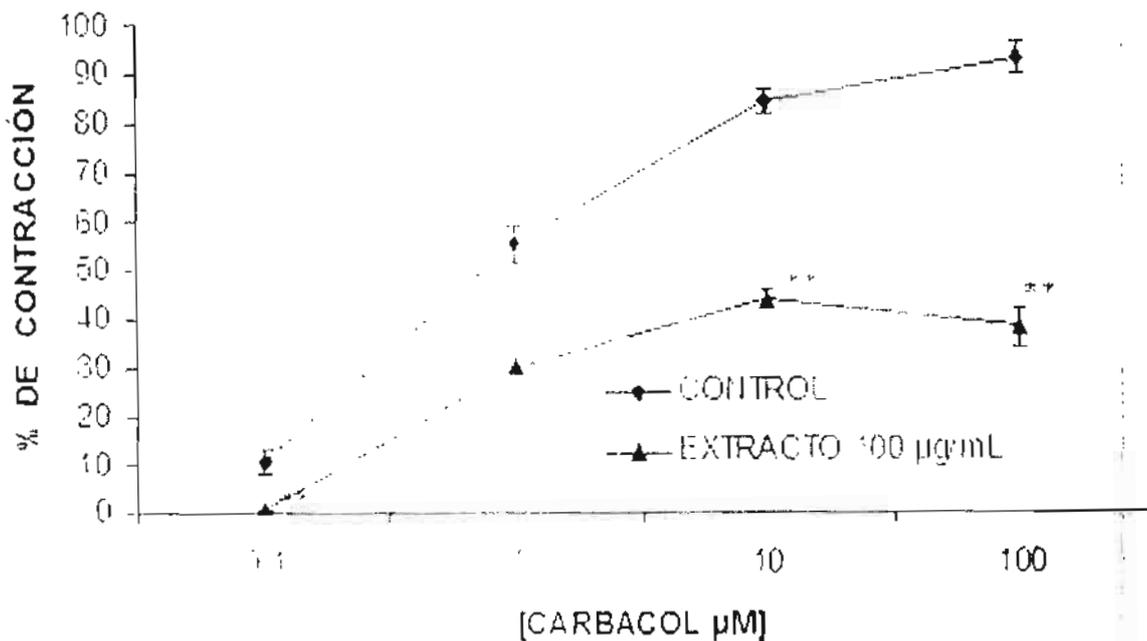


Figura 6.

Efecto relajante del extracto clorofórmico de *B. odorata* (100 µg/mL) sobre la contracción inducida en ileon de rata a diferentes concentraciones de carbacol.

Para el estudio fitoquímico del extracto clorofórmico, se realizaron las pruebas de $\text{FeCl}_3\text{-NaCl}$ y HCl para detección de taninos; de NaOH , KOH , NH_4OH y Shinoda para detectar flavonoides, Dragendorff, Mayer, Scheibler, ácido silicotúngstico y Wagner para detectar alcaloides y las reacciones de Lieberman-Bouchart y Vanillina/ H_2SO_4 para detectar saponinas. Los resultados muestran que este extracto contiene alcaloides (Tabla 8), las pruebas de taninos, flavonoides y saponinas dieron negativos.

Tabla 8. Estudio fitoquímico preliminar del extracto clorofórmico de *B. odorata*.

PRUEBA	REACTIVO	<i>Bidens odorata</i> Extracto clorofórmico
Alcaloides	Dragendorff	+
	Mayer	+
	Scheibler	+
	Ácido silicotúngstico	+
	Wagner	+

Chrysactinia mexicana Gray

El extracto acuoso de *C. mexicana* a dosis de 50, 100, 200 y 300 mg/Kg, inhibe la diarrea inducida con aceite de ricino con diferencia significativa respecto al control negativo (Tabla 9), aunque con la última dosis se observó una disminución del efecto antidiarreico. El mayor efecto se observó con las dosis de 200 y 300 mg/kg (70 y 74% de inhibición, respectivamente).

Cuando se usó sulfato de magnesio como agente catártico, a dosis de 50, 100 y 200 mg/Kg de extracto, se observó una inhibición del 55.46, 65.50 y 69.53% respectivamente.

El extracto acuoso de *C. mexicana* a las dosis de 50, 100, 200 y 300 mg/Kg, no modifica la defecación normal.

Tabla 9. Resultados de la evaluación del efecto antidiarreico de diferentes dosis del extracto acuoso de *C. mexicana* en ratones con diarrea inducida con aceite de ricino o con sulfato de magnesio. Los resultados se presentan en porcentaje de inhibición.

Dosis (mg/Kg)	Aceite de ricino	Sulfato de magnesio
50	38.50 ± 6.50 *	55.46 ± 5.27 **
100	70.18 ± 2.12 **	65.50 ± 2.89 **
200	73.91 ± 5.02 **	69.53 ± 3.39 **
300	47.62 ± 2.38 *	-----
0.1 mL Vehículo	0.0	0.0
Loperamida 2.5	89.77 ± 5.37	91.30 ± 1.26

Los resultados son la media de 3 grupos de 5 animales ± el error estándar.
 * p < 0.05, ** p < 0.01, NS = No significativo Respecto a control negativo.

El extracto de *C. mexicana* a dosis de 100 mg/Kg, (Tabla 10 y Figura 7) disminuyó significativamente el tránsito intestinal de ratas Wistar, respecto al control negativo, a los 30 minutos después de la administración del agente catártico se observó un recorrido intestinal del 47.93% y a los 60 minutos del 78.98%, mientras que en el control negativo, a estos mismo tiempos, el recorrido fue de 60.73 y 97.35% respectivamente. A los 90 minutos no se observó diferencia entre el recorrido intestinal del control negativo y el grupo tratado con el extracto.

Tabla 10. Actividad del extracto acuoso de *C mexicana* sobre el tránsito intestinal en ratas Wistar.

Tratamiento	% Tránsito Intestinal		
	30 min	60 min	90 min
Agar + Grafito + Agua	43.36 ± 1.15	57.56 ± 1.06	68.14 ± 1.99
Loperamida 2.5 mg/Kg	50.28 ± 2.07	59.89 ± 2.11	77.89 ± 2.06
Agar + Grafito + Ricino	60.73 ± 2.30	97.35 ± 0.63	99.65 ± 0.35
Extracto 100 mg/Kg	47.93 ± 0.81*	78.98 ± 1.81*	97.32 ± 0.79 ^{NS}

* p < 0.05, NS = No significativo Respecto al control negativo.

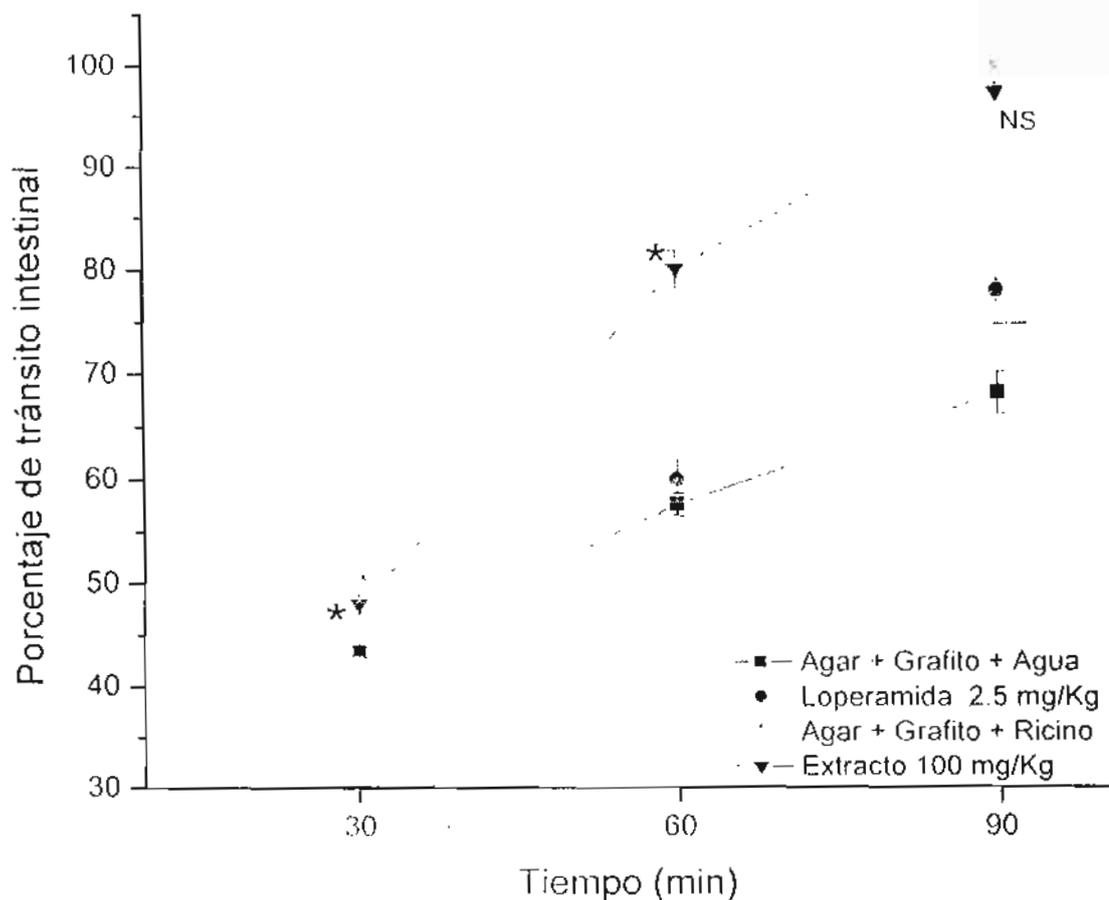


Figura 7. Resultados de la evaluación del extracto acuoso de *Chrysactinia mexicana* Gray sobre el tránsito intestinal de ratas Wistar acelerado con aceite de ricino. * p < 0.05, ** p < 0.01 Respecto a grupo administrado solo con aceite de ricino.

En la evaluación del efecto relajante del extracto acuoso sobre ileon precontraído con carbacol; a concentraciones de 0.3, 1, 3, 10, 30 y 100 µg/mL, *C. mexicana* no presentó efecto relajante sobre la actividad espontánea del ileon a ninguna de las concentraciones utilizadas del extracto.

En el estudio fitoquímico de este extracto, se realizaron las pruebas de FeCl₃ - NaCl y HCl para detección de taninos, de NaOH, KOH, NH₄OH y shinoda para detectar flavonoides, Dragendorff, Mayer, Scheibler, ácido silicotungstínico y Wagner para detectar alcaloides y las reacciones de Lieberman-Bouchart y Vainillina H₂SO₄ para detectar saponinas; se encontró que el extracto acuoso contiene taninos, flavonoides y alcaloides (Tabla 11)

Tabla 11. Estudio fitoquímico preliminar de extracto acuoso de *C mexicana*

PRUEBA	REACTIVO	<i>Chrysactinia mexicana</i> Gray Extracto Acuoso
Taninos	FeCl ₃ - NaCl	+
	HCl	+
Flavonoides	NaOH	+
	KOH	+
	NH ₄ OH	+
	SH	+
	SH	+
Alcaloides	Dragendorff	+
	Mayer	+
	Scheibler	+
	Ácido silicotungstínico	+
	Wagner	+

***Heliotropium curassavicum* L.**

En la Tabla 12, se presentan los resultados obtenidos en la evaluación del extracto clorofórmico de *H. curassavicum* en ratones con diarrea inducida con aceite de ricino o sulfato de magnesio. Se observa que el extracto a dosis de 300 mg/Kg, no presentó efecto inhibitorio significativo en la diarrea inducida con aceite de ricino,

mientras que a dosis de 50, 100 y 200 mg/Kg se observó una significativa inhibición del cuadro diarreico, el efecto entre las dosis de 100 y 200 mg/Kg es semejante y no se encontró diferencia significativa en la respuesta a estas dosis (46.2 y 47.5% de inhibición respectivamente).

Cuando se usó sulfato de magnesio como agente catártico con las tres dosis evaluadas (50, 100 y 200 mg/Kg), se observó una inhibición del número de heces diarreicas respecto al grupo utilizado como control negativo. Tampoco se encontró diferencia significativa entre la respuesta farmacológica de las dosis de 100 y 200 mg/Kg (52.4 ± 2.4 y 47.5 ± 2.8 % de inhibición respectivamente).

Tabla 12. Resultados de la evaluación del extracto clorofórmico, de *H. curassavicum* en ratones con diarrea inducida con aceite de ricino o sulfato de magnesio.

Dosis mg/kg	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN	
	Aceite de ricino	Sulfato de magnesio
50	$28.4 \pm 6.88^*$	$35 \pm 5^*$
100	$46.2 \pm 5.7^*$	$52.4 \pm 2.4^{**}$
200	$47.5 \pm 2.5^*$	$57.5 \pm 2.5^{**}$
300	14.29 ± 9.53^{NS}	-----
Loperamida 2.5	89.77 ± 5.37	87.5 ± 3.25
0.1 mL Vehículo	0.0	0.0

Los resultados son la media de 3 grupo de 5 animales \pm el error estándar.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ Respecto a control negativo.

A dosis de 50, 100, 200 y 300 mg/Kg, el extracto clorofórmico de *H. curassavicum*, no modificó de manera significativa la defecación normal.

Para la evaluación del extracto clorofórmico de *H. curassavicum* sobre el tránsito intestinal, se utilizó la dosis de 100 mg/Kg. En la Tabla 13 y Figura 8 se puede observar que hubo una disminución significativa en el tránsito intestinal del grupo administrado con el extracto clorofórmico respecto al control negativo a los 30, 60 y

90 minutos después de la administración del agente catártico. Sin embargo a los 90 minutos después de la administración del agente catártico, el efecto fue menor ya que de este grupo el recorrido intestinal fue de 90.25 %, valor cercano al del control negativo, grupo en el que se observa un 100 % de recorrido del tránsito intestinal.

Tabla 13. Actividad de extracto clorofórmico de *H. curassavicum* a dosis de 100 mg/Kg sobre tránsito intestinal de ratas de la cepa Wistar acelerado con aceite de ricino.

Tratamiento	% Tránsito Intestinal		
	30 min	60 min	90 min
Agar + Grafito + Agua	55.65 ± 3.74	71.2 ± 3.89	81.7 ± 2.92
Loperamida 2.5 mg/Kg	58.44 ± 2.57	72.36 ± 5.4	75.85 ± 1.76
Agar + Grafito + Ricino	70.51 ± 3.12	95.35 ± 1.47	100
Extracto 100 mg/Kg	58.87 ± 3.5 *	81.6 ± 2.41 **	90.25 ± 1.73 *

* p < 0.05 ** p < 0.01 Respecto al control negativo.

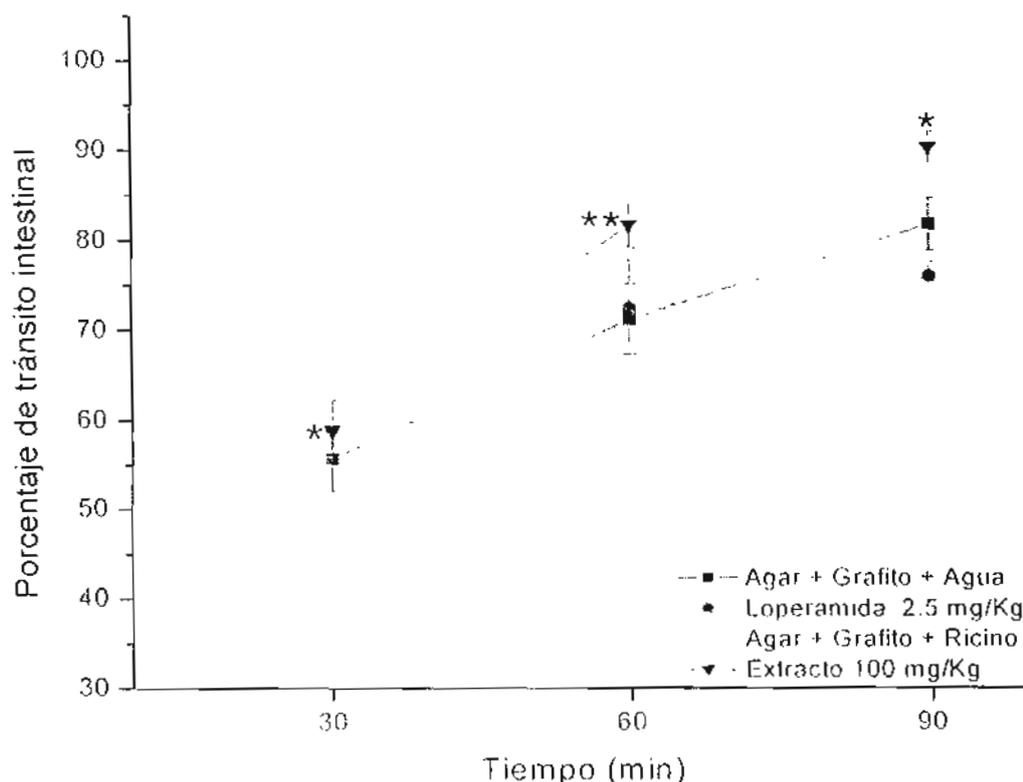


Figura 8. Actividad del extracto clorofórmico de *Helitropium curassavicum* a dosis de 100 mg/Kg sobre el tránsito intestinal de ratas Wistar acelerado con aceite de ricino. * p < 0.05, ** p < 0.01 Respecto a grupo administrado solo con aceite de ricino.

En la evaluación del efecto del extracto clorofórmico de *H. curassavicum* sobre íleon precontraído con carbacol se probaron las concentraciones 0.3, 1, 3, 10, 30 y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de extracto, y diferentes concentraciones de carbacol (0.01, 0.1, 1, 10 y 100 μM), se encontró que el mayor efecto relajante se presentó a la última concentración de extracto (tabla 14 y figura 9).

Tabla 14. Efecto relajante de extracto clorofórmico de *H. curassavicum* sobre la contracción inducida por carbacol.

Tratamiento	PORCENTAJE DE CONTRACCIÓN				
	0.01 μM	0.1 μM	1 μM	10 μM	100 μM
Carbacol					
Vehículo	9.22 \pm 2.4	15.36 \pm 3.9	53.44 \pm 5.43	74.9 \pm 2.42	93.44 \pm 2.65
100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Extracto clorofórmico	0 *	0.26 \pm 0.16 *	16.92 \pm 3.87 **	33.75 \pm 4.97 **	42 \pm 2.51 **

Los resultados son la media de 6 tejido provenientes de 3 animales \pm el error estándar.

** $p < 0.001$, NS = No significativo

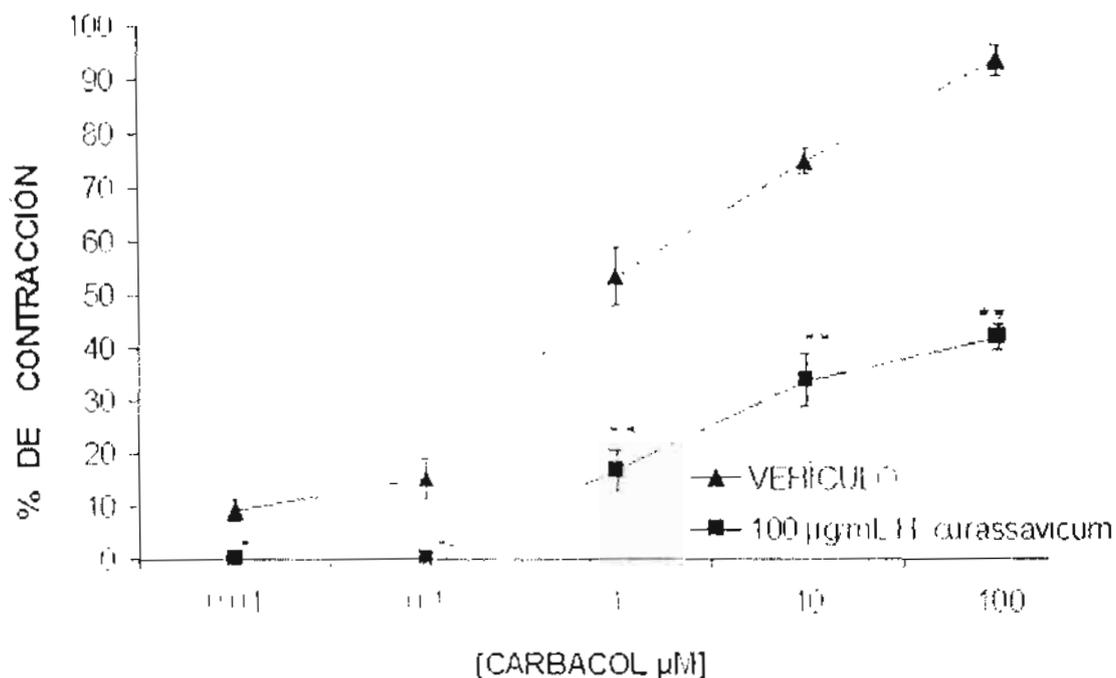


Figura 9. Respuesta del íleon preincubado con 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de extracto clorofórmico de *H. curassavicum* a diferentes concentraciones de carbacol.

El estudio fitoquímico de este extracto se realizó de acuerdo a lo descrito anteriormente, se encontraron solamente alcaloides (Tabla 15).

Tabla 15. Estudio fitoquímico del extracto clorofórmico de *H. curassavicum* L.

PRUEBA	REACTIVO	<i>H. curassavicum</i> Extracto clorofórmico
Alcaloides	Dragendorff	+
	Mayer	+
	Scheibler	+
	Ácido silicotúngstico	+
	Wagner	+

El aceite de ricino, incrementa la motilidad intestinal mediada por la liberación de prostaglandinas a causa de la irritación de la mucosa intestinal (Hardman y col., 1996; Billault y col., 2004; Tangpu y Yadav, 2004). Al irritar la mucosa intestinal aumenta la permeabilidad de agua y electrolitos (Rouf y col., 2003; Shoba y Mply, 2001), además estimula a los receptores que participan en la liberación de calcio intracelular, el cual actúa como mensajero en el aumento de la motilidad en el intestino delgado (Hansen y col., 2002, Phillippe, 1995; Chitme y col., 2004); al formarse el complejo calcio – calmodulina se estimula la fosfolipasa A, con lo que se libera el ácido araquidónico (Aikawa y col., 2000; Kroetz y Xu, 2005; Kumar y col., 2000; Dans y col., 2002), que es el producto de partida en la biosíntesis de prostaglandinas (Kroetz y Xu, 2005; Field, 2003). Las prostaglandinas (PG), particularmente la PGE₁ y la PGE₂, son considerados los principales efectores de diarrea cuando se utiliza como inductor al ácido araquidónico (Doherty, 1981).

Con el objetivo de plantear un posible mecanismo de acción de los extractos con actividad antidiarreica, se decidió evaluar el efecto de los extractos clorofórmico

de *Bidens odorata* y acuoso de *Chrysactinia mexicana*, sobre la diarrea inducida con ácido araquidónico y prostaglandina E₂.

En el caso *B. odorata*, se decidió evaluar el extracto clorofórmico únicamente a dosis de 100 y 200 mg/Kg, sobre la diarrea inducida con ácido araquidónico. Se encontró que a dosis de 100 mg/Kg la inhibición del cuadro diarreico fue del $45.83 \pm 4.81\%$ y a 200 mg/Kg, la inhibición se incrementó a $62.5 \pm 4.77\%$, este último, semejante a la respuesta presentada por el control positivo $75 \pm 0.28\%$.

Cuando se utilizó prostaglandina E₂ como agente catártico, el extracto no presentó efecto antidiarreico a las dosis usadas (100 y 200 mg/Kg).

En la evaluación del efecto antidiarreico del extracto acuoso de *C. mexicana*, con ácido araquidónico como agente catártico, el extracto a dosis de 100 mg/Kg del presentó una inhibición de $70.83 \pm 4.81\%$ efecto similar al presentado por la loperamida (75 ± 0.28), mientras que a dosis 200 mg/Kg la actividad disminuyó a $41.66 \pm 5.55\%$.

Cuando se usó Prostaglandina E₂ como agente catártico, el extracto no mostró actividad antidiarreica con las dosis usadas (100 y 200 mg/Kg).

Los resultados obtenidos con los modelos estudiados en este trabajo, confirman que el extracto acuoso de *C. mexicana* así como los clorofórmicos de *B. odorata* y *H. curassavicum* poseen actividad antidiarreica y también disminuyen la motilidad intestinal.

Ninguno de los extractos ejerce efecto sobre las condiciones normales del tracto gastrointestinal ya que no afectan la defecación en los animales sanos, ni modifican la actividad espontánea del ileon.

El efecto de los extractos sobre el tránsito intestinal, muestran que el extracto clorofórmico de *B. odorata* y *H. curassavicum* inhiben la motilidad intestinal a los 30, 60 y 90 minutos después de la administración del tránsito intestinal, mientras que el extracto acuoso de *C. mexicana* mantuvo la inhibición del tránsito intestinal solamente a los 30 y 60 minutos después de la administración de este extracto, lo que permite asegurar que los tres extractos normalizan la motilidad intestinal.

El sulfato de magnesio, afecta las propiedades osmóticas de absorción de iones y agua, con lo que se aumenta el volumen del contenido intestinal (Euser y

Cipolla, 2004; Hardman y col., 1996), el aceite de ricino y el sulfato de magnesio, aumentan la secreción intestinal y la actividad motora en el duodeno porque inducen la liberación de colecistocininas (Euser y Cipolla, 2004; Hardman y col., 1996). Los resultados obtenidos de los extractos clorofórmico de *H. curassavicum* y *B. odorata* y acuoso de *C. mexicana*, muestran que estos también inhiben la diarrea osmótica.

Por otra parte en la evaluación de los extractos clorofórmicos de *B. odorata* y *H. curassavicum* sobre la contracción inducida con carbacol, se encontró un efecto relajante en todas las concentraciones usadas, lo que se manifiesta en una disminución de la amplitud inducida por dicho agente contractor. Lo anterior permite afirmar, que estos extractos presentan un antagonismo no competitivo con el carbacol, el cual promueve el aumento de la concentración de Ca^{+2} intracelular, originando un aumento en la actividad contráctil del músculo, efecto que disminuye en presencia de los extractos usados.

Los resultados obtenidos cuando la diarrea se indujo con ácido araquidónico o prostaglandina E_2 , permiten suponer que el mecanismo de acción de *B. odorata* y *C. mexicana* es principalmente sobre la inhibición de la biosíntesis de prostaglandinas, ya que se observó inhibición del cuadro diarreico cuando se utilizó ácido araquidónico (precursor de prostaglandinas) como agente catártico y cuando la diarrea se indujo con la prostaglandina E_2 no se observó efecto antidiarreico. Sin embargo, también debe considerarse el efecto sobre la actividad motora del intestino.

Por lo anterior, se puede concluir que el mecanismo de acción de los extractos usados es inespecífico ya que se observó una respuesta significativa en los diferentes modelos usados.

En el estudio fitoquímico de las plantas antes mencionada se encontró que el extracto clorofórmico de *Bidens odorata*, contiene alcaloides, el extracto acuoso de *Chrysactinia mexicana* contiene taninos, flavonoides y alcaloides y en el extracto clorofórmico de *H. curassavicum* se encontraron alcaloides.

Considerando estos resultados, es posible atribuir el efecto antidiarreico a los alcaloides detectados en las tres plantas, ya que es bien conocido que éstos poseen una amplia variedad de efectos farmacológicos y entre ellos se encuentra la acción antidiarreica y antiespasmódica. Ejemplos de esto lo constituyen el difenoxilato y

loperamida que son compuestos opiáceos derivados de la piperidina y que son usados para combatir la diarrea. En el caso de *C. mexicana* debe considerarse también la presencia de taninos, cuyo efecto astringente puede contribuir a la acción antidiarreica de esta planta.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar A., Camacho J., Chino S., Jácques P. (1998), Plantas Medicinales del Herbario del IMSS, 500 Especies. su Distribución por Enfermedades. 1ª Ed., México, IMSS – Grupo Roche.
- Aikawa N., Kobayashi H., Ohmori K. (2000); Gender Differences in the Antidiarrheal Effect of Zaldaride Maleato in Rats; Biol. Pharm. Bull., 23: 33 – 36.
- Alpers D., Gastroenterology. (1996), 2ª edición, Ed. Tadataka Yamada, Boston, pp 45,120,150.
- Al-Awqati Qais. (2002); Alternative Treatment for Secretory Diarrhea Revealed in a New Class of CFTR Inhibitors; J of Clin Invest; 110 (11): 1599 – 1601.
- Aniagu S. Binda L., Nwinyi F., Orisadipe A., Amos S., Wambebe C., Gamaníel K. (2005), Anti-Diarrhoeal and Ulcer – Protective Effects of the Aqueous Root Extract of *Guiera Senegalensis* in rodents, J of Ethnopharmacol, 97: 549 – 554.
- Argueta A., Cano L, Rodarte M. (1994), México. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana I, México, Instituto Nacional Indigenista.
- Athman R., Tsocas A., Pressel O., Robine S., Róze C., Ferrari E. (2002); In Vivo Absorption of Water and Electrolites in Mouse Intestine. Application to Villin -/- Mice; Am J of Physiology Liver Physiology; 282: G634 – G639.
- Awouters F., Megens A., Verlinden M., Schuurkes J., Niemegeers C., Janssen A. (1993), Loperamide Survey of Studies on Mechanism of its Antidiarrheal Activity, Dig Dis and Sci, 38: 997 – 995.
- Bafna P., Bodhankar S. (2003); Gastrointestinal effects of Mebarid[®], an Ayurvedic Formulation, in Experimental Animals, J of Ethnopharmacol 86:173 – 176.
- Billault I., Mantle P., Robins R. (2004); Deuterium NMR Used to Indicate A Common Mecchanism for the Biosynthesis of Ricinoleic Acid by *Ricinus communis* and *Claviceps purpurea*; J of Am Chem Soc, 126: 3250 – 3256
- Boettler R. B. (2004); Plantas Popularmente Utilizadas para Afecciones del Aparato Digestivo, Diarrea y Parásitos en México. <http://ag.arizona.edu/OALS/ICBG/mexico/afecciones.html>
- Boletín epidemiológico. (2005): semana 6; Secretaria de Salud
- Caeiro J. (1998); Management of Travelers Diarrhoea.; Drugs 56 : 73-81.
- Cárdenas N., Zavala M., Aguirre R., Pérez S., Pérez C. (2005); Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oil of *Chrysactinia mexicana* Gray; J of Agriculth and Food Chem; 53: 4347 - 4349
- Cermak R., Föllmer U., Wolffram S. (1998); Dietary Flavonol Quercetin Induces Cloride Secretion in Rat Colon; Am J of Physiol 275 (Liver Physiology 38: G1166 – G1172

- Chitme H., Chandra R., Kaushik S. (2004). Studies of Anti-diarrheal Activity of *Calotropis gigantean* R. BR. In Experimental Animals, Journal of Pharmaceutical Sciences, 7: 70 -75
- Dans H., Stoyanova S., Thomet O., Simon H., Dannhardt G., Ulbrich H., Hamburger M. (2002); *Planta Medica*; 68: 875 – 880
- De Luca A., Coupar I. M. (1993); Difenoxin and Loperamide: Studies on Possible Mechanism of Intestinal Antisecretory Action; *Archives of Pharmacology*; 347: 231-237.
- De Luca A., Coupar I. (1996); Insights Into Opioid in the Intestinal Tract; *Pharmacology Ther.*, 69 : 103 – 115.
- Doherty N.S. (1981); Inhibition of Arachidonic Acid Release as the Mechanism by which Glucocorticoids Inhibit Endotoxin – Induced Diarrhea. *British J of Pharmacol*: 73 : 549-554
- Dominguez X. A. (1979); *Métodos de Investigación Fitoquímica*; México; Limusa; pp 13-15.
- Euser A., Cipolla M. (2004); Resistance Artery Vasodilation to Magnesium Sulfate During Pregnancy; *Am J of Physiol Heart Circ Physiol* (Versión Final Aceptada)
- Field M. (2003); Intestinal Ion Transport and the Pathophysiology of Diarrhea; *Journal of Clinical Investigation*; 111 . 931 – 943
- Forés R. (1997); *Atlas de las Plantas Medicinales y Curativas*; 1ª ed.. España; Cultural S. A., pp 8 – 14.
- Fricker, J. (1993); Intestinal Absorption of Water and Electrolytes: Putting an end to Diarrhoeal Diseases; *Children in the Tropics*; 204 : 6 – 12.
- Ganong W., Gramlich D., Fernández G. (1998); *Fisiología Médica*; 16ª ed, México; Manual Moderno; pp 80 – 95, 533 – 537, 565 – 568
- Graeme L. Barnes, Eric Uren, Kerrie B. Stevens, Ruth F.; (1998); Etiology of Acute Gastroenteritis in Hospitalized Children in Melbourne, Australia, from April 1980 to March 1993; *J of Clin Microbiol*; 36 : 1 pp. 133-138.
- Greiner B., Eichelbaum M., Fritz P., Kreichgauer H., Riehler O., Zundler J., Kroemer H.; (1999); The role of Intestinal P – Glycoprotein in the Interaction of Digoxin and Rifampin, *J of Clin Invest*; 104 (2): 147 – 153.
- Hansen J., Koepfen B.; 2002; *Netter's Atlas of Human Physiology*; First Edition; New Jersey; Icon Learning Systems; pp 61, 62.
- Hardman J. G., Molinoff P. B, Goodman & Gilman's; 1996; *The pharmacological Basis of Therapeutics*; Tenth Edition, London; McGraw-Hill; p. 1040.
- Harborne J.B. (1998); *Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plant analysis*. Third edition, Chapman & Hall. p. 302.
- INEGI: 2002. <http://www.inegi.gob.mx>

- Kaila M; Onnela T; Isolauri E. (1997); Treatment of Acute Diarrhoea in Practice; *Acta Paediatric*; 86 (12): 1340 – 1344.
- Khan M., Khan N., Qasim I., Ahmad G., Zafar S. (2004); Protective effect of *Arque-Ajeeb* on Acute Experimental Diarrhea in Rats; *BMC Complementary and Alternative Medicine* 4(8): 1-5
- Kishino S., Ogawa J., Ando A., Amura Y., Shimizu S. (2002); Ricinoleic Acid and Castor Oil as Substrates for Conjugated Linoleic Acid Production by Washed Cells of *Lactobacillus plantarum*; *Biosc Biotech of Biochem*; 66(10): 2283 – 2286.
- Kroetz D., Xu F. (2005), Regulation and Inhibition of Arachidonic Acid ω – Hydroxylases and 20 – HETE Formation; *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*; 45: 413 – 438
- Kumar S., Zierys K., Wiegrebe W., Müller K (2000); Medicinal Plants From Nepal: Evaluation as Inhibitors of Leukotriene Biosynthesis; *J of Ethnopharmacol*; 70: 191 – 195
- Lacy B. (2003); Irritable Bowel Syndrome: A Primer on Management; *Reviews of Gastroenterological Disorders*; 3 : S32 – S40.
- Martínez M.; (1996); *Las Plantas Medicinales de México*, 6^a ed.; México; Ediciones Botas; pp 136, 137.
- McConnico R., Argenzio R., Roberts M. (2002); Prostaglandin E₂ and Reactive Oxygen Metabolite Damage in the Caecum in a Pony Model of Acute Colitis; *Canadian J of Veterinary Res*; 66: 50 – 54.
- Mckeon T., Chen G., Lin J. (2000); Biochemical Aspects of Castor Oil Biosynthesis; *Biochem Soc Transac*; 28: 972 – 974.
- Megens A., Niemegeer C. (1984); Antagonism of Antidiarrhoeal Effect of Clonidine and Letaf Effect of Noradrenaline in Rats: a Reliable Procedure to Evaluate the In – vivo α 1 – and α 2 – Blocking Activity of Drugs?; *J. Pharm Pharmacol* 36: 516 – 520.
- Melo M., Mukherjee R. (1998); Antidiarrhoeal Activity of Bisnordihydrotoxiferine isolated from the root bark of *Strychnos trinervis* (Vell.) Mart (Loganiaceae). *J. Pharm Pharmacol*; 40: 79 – 82.
- Misra S; Diaz PS; Rowley A. (1998); Characteristics of Typhoid Fever in Children and Adolescents in a Major Metropolitan Area in the United States; *Clinical Infection Disease.*, 24 (5): 998 – 1000.
- Nishikawa H., Kawai K., Nishimura S., Araki H., Bahjat A., Hallenberg M., Kuroda R., Kawabata A.: (2002); Supresion by Protease – Activated Receptor – 2 Activation of Gastric Acid Secretion in Rats; *Eur J of Pharmacol*; 447: 87 – 90.
- Norma Oficial Mexicana Nom – 062 – Zoo – 1999; Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio; 22 de Agosto 2001; *Diario Oficial de la Federación: Segunda Sección*; pp 1 – 57

- OPS: Organización Panamericana de la Salud; (1987); Fisiología de la Absorción Intestinal de Agua, Electrólitos y Macronutrientes; Manual de Tratamiento de la Diarrea. Washington DC; Serie Paltex; (13): 4 – 20.
- Phillippe M. and Chien M and Chien EK. (1995); Potassium Chloride Effects on the Hormonal Signal Transduction Mechanisms Underlying Phasic Myometrial Contractions; Journal of Endocrinology; 146, 485-493.
- Ponce H., Pérez S., Pérez C., Zavala M. (2003); Efecto Relajante del Extracto Metanólico de *Alternanthera repens* Sobre el Íleon de Rata Precontraído por KCl y Carbacol; Revista Mexicana De Ciencias Farmacéuticas; 34 (3): 32 – 35
- Prado D. (1998); Diarrea Relacionada con Antimicrobianos; Revista Mexicana de Puericultura y Pediatría; 1 (3): 95 - 98.
- Radanovic T., Wagner C., Murer H., Biber J. (2004); Regulation of Intestinal Phosphate Transport; Am J of Physiol Liver Physiol; 288: G496 – G500
- Rzedowski J., Rzedowski G. (1979); Flora Fanerogámica del Valle de México, 3ª ed; México; Editorial CECSA; p 210
- Riverón R.; 1999; Actualización de Temas Fisiopatología de la Diarrea Aguda, Revista Cubana de Pediatría; 71: 86 – 115.
- Rouf S. S. A., Islam S. M., Rahman T. M. (2003); Evaluation of Antidiarrhoeal Activity *Rumex maritimus* Root; Journal of Ethnopharmacology; 84: 307 – 310.
- Ryu S., Park C., Baek H., Baek S., Hwang S., Chung W. (2004), Anti-diarrheal and Spasmolytic Activities and Acute Toxicity Study of Soonkijangquebo, a Herbal Anti-diarrheal Formula, Journal of Ethnopharmacology, 91: 75 – 80.
- Sabanes M., Rabella N, Pericas R., Sánchez F., Margall N., Navarro F., Coll P. (1997), Enfermedades Infecciosas. Microbiología Clínica, 15: 349-56.
- Sahagún B. F. (1975); Historia General de las Cosas de la Nueva España; 3ª ed.; Editorial Porrúa; S. A.; México
- Sandhu B., Tripa J., Candy C., Harnes J. (1981); Loperamide: Studies on its Mechanism of Action; Gut; 22: 658 – 662.
- Sánchez O. (1978); La flora del valle de México; 4ª ed.; México; Editorial Herrera; p 460.
- Scarlett Y. (2004); Medical Management of Fecal Incontinence; Gastroenterol; 126: S55 – S63
- Shoba G., Mplly T. (2001); Study of Antidiarrhoeal Activity of Four Medicinal Plants in Castor Oil Induced Diarrhea J of Ethnopharmacol; 76: 73 -76.
- Tangpu V., Yadav K. A. (2004); Antidiarrhoeal Activity of *Rhus javanica* Ripen Fruit in Albino Mice; Fitoterapia; 75: 39 – 44.
- WHO (2005): http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/diseasefact/es/
- WHO (2001); Especialidades Farmacéuticas: Restricciones en Uso y Disponibilidad.

- Vibrans H. (1995); *Bidens pilosa* L. y *Bidens odorata* Cav (Asteracea: Heliantheae) en la Vegetación Urbana de la Ciudad de México; Acta Botánica Mexicana; 32: 85 – 89.
- Vibrans H. (1997); Lista Florística Comentada de Plantas Vasculares Silvestres en San Juan Quetzalcoapan, Tlaxcala; México; Acta Botánica Mexicana; 38: 21 - 67
- Vibrans H. (1998); Urban Weeds of Mexico City: Floristic Composition and Important Familias; Anales Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México; 69(1): 37 – 69.
- Vischer P., Casals – Stenzel J. (1983); Influence of Prostacyclin and indomethacin on castor oil – Induced Gastrointestinal Effects in Rats; J. Pharm Pharmacol 35: 152 – 156.
- Voet D., Voet J. (1992); Bioquímica, Ediciones Omega, Barcelona, pp 509, 783, 1217 – 1225.
- Zavala M., Pérez S., Pérez C. (2003); Study of the Gastrointestinal Properties of *Acalypha aff. Mollis*; Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants; 10 : 63-71
- Zavala M., Pérez S., Pérez C., Sánchez D., Arias L. (2002); Antidiarrhoeal Activity of Nonanal, an Aldehyde Isolated from *Artemisa ludoviciana*. Pharmaceutical Biology; 40 : 263-268
- Zavala S. (1998); Estudio Químico – Farmacológico de Plantas con Actividad Antidiarreica; Tesis doctoral UAM-X.
- Zhang S., Kingsley R., Santos R., Polymenis H., Raffatellu M., Figueiredo J., Nunes J., Tsohis R. (2003); Molecular Pathogenesis of *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium – Induced Diarrhea; Infection and Immunity; 71 : 1 – 12.