



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**  
**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA**  
**LICENCIATURA EN QUÍMICA**

**“Evaluación de la actividad antidiarreica y analgésica del  
extracto etanólico de las partes aéreas de *Lopezia  
racemosa*”**



**T e s i s**

Que para obtener el título de  
Licenciado en Química

**P R E S E N T A:**  
**Cristian Avendaño Morales**

**Director de tesis:**

**Dra. Claudia Velázquez González**

Mineral de la Reforma. Hgo. Noviembre de 2012

ESTE TRABAJO SE DESARROLLÓ EN EL LABORATORIO DE  
INVESTIGACIÓN DEL ÁREA ACADÉMICA DE FARMACIA Y EN EL BIOTERIO  
DEL INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO.



## DEDICATORIAS

Principalmente a Dios, ya que nunca ha alejado su mano de mi ni de mi familia.

A mi papa Mónico Avendaño López, ya que no habría podido llegar hasta donde estoy sin tu apoyo y sin los valores que me has inculcado, le agradezco a Dios por ponerte a mi lado. Las palabras son insuficientes para decirte lo mucho que te amo y que estoy orgulloso de ti. Los problemas no son nada cuando tú estás conmigo. Gracias por creer en mi papa.

A mi mama Francisca Morales Pozo, por el amor tan grande que me tienes y realmente tu sabes lo que nos ha costado llegar hasta aquí, cuando solamente lo veíamos como un sueño lejano, ahora hemos llegado a la meta. Gracias por tu apoyo que aun que estuvieras lejos yo podía sentir tu cariño y las oraciones que hacías por mí, que mas puedo decirte si sabes cuánto te amo, le doy gracias a Dios por mi papa y por ti ya que ustedes se han encargado de sacar adelante a mis hermanos y a mí.

A mis hermanos Janette: por ser un buen ejemplo a seguir y te admiro mucho, y estoy muy agradecido con Dios porque a pesar de las situaciones tan difíciles que hemos pasado el nunca nos ha dejado. A Emmanuel por su apoyo incondicional de hermanos, te quiero mucho y estoy realmente orgulloso de ti, gracias por tu ayuda en el trabajo de la computadora ya que no se en lo absoluto del tema.

A Mónica por venir a llenar de bendiciones a toda la familia, desde que llégate a casa todas las cosas han cambiado, gracias por tu amor hacia mí, yo te amo muchísimo más y siempre estaré contigo.

A Gil por ser parte de la familia, realmente te apareció y admiro mucho.

A Liuva por integrarse como parte de la familia y por hacer feliz a mi hermano.

A la Familia Morales Trejo, a mi tío Alejandro y a mi tía Pilar que ya son personas a las cuales quiero y respeto mucho. A Janai que me enseñó a ver la vida de otra forma y fue una persona extraordinaria el cual tuve el privilegio de crecer junto a él, no solamente como primo si no que él era mi hermano, Janai te extrañamos mucho y te recordamos siempre, pero sé que en el lugar a donde estas es mejor que este. A mis hermanos Sharon y Alex (Kaltex), los quiero mucho, sé que puedo contar con ustedes, Sharon gracias por las pláticas de los

---

domingos por escucharme y aconsejarme, Kaltex gracias por sr mi médico de cabecera y también por los consejos que me das.

A Gaby por a verme acompañado casi 6 años en las buenas y en las malas, hemos aprendido muchas cosas, gracias por tu apoyo incondicional en la carrera ayudándome a estudiar para mis exámenes, tareas, trabajos en fin, te agradezco por toda la alegría que me has regalado este tiempo, gracias por soportarme, por tus consejos. Te quiero mucho y todo este tiempo la he pasado muy bien a tu lado. A tu mama la señora Yolanda por abrirme las puertas de su casa, y por todos esos consejos y por los ánimos que me dio, la estimo mucho.

A mis amigos de la universidad, a Saray muchas gracias amiga por tu amistad, hemos pasado momentos difíciles y divertidos en la carrera pero al fin hemos llegado a la meta, gracias por ayudarme hacer los cálculos teóricos. A Angy gracias por la amistad, espero ye valla de maravilla en tu proyecto, A mi fiel amigo Jovan que desde primer semestre y hasta ahora lo estimo mucho y he aprendido mucho de él, gracias por ayudarme en esas noches largas a estudiar para los exámenes a pesar de que tu no estudiabas tanto tiempo. A Aldo por la amistad y tantas cosas que vivimos juntos, espero que te vaya bien en lo que hagas.

A Maritza (Marixa) por la gran amistad que formamos en Pachuca y la seguimos conservando, gracias por esas pláticas interminables por escucharme te estimo mucho. A Lupita por la gran amistad y porque me dejaste conocerte un poco más, gracias por todas esas ocasiones que estabas conmigo haciendo cualquier cosa, gracias por escucharme y trapeare casi casi jaja... en general gracias a Marixa y a ti por acompañare en todas las locuras que se nos ocurrían jaja.

A Arturo por la buena amistad que hicimos en el laboratorio que terminaste por ser de mis mejores amigos, gracias por tu apoyo cada que tenía algún problema te estimo mucho chavo.

A Vero porque al final de la carrera resultamos ser muy buenos amigos, te estimo mucho y gracias por escucharme en esos momentos no tan buenos y realmente espero que te valla muy bien en todo lo que hagas. A Viri que tiene poco de conocerte pero sin duda te estimo mucho y eres mi amiga, gracias por esos momentos que la hemos pasado muy bien con la Vero.

---

A Diego que hace poco que nos conocemos pero te estimo mucho y te agradezco por la amistad, considero que eres una persona muy capaz y espero ir a tu examen de maestría muy pronto



## **AGRADECIMIENTOS**

Dra. Claudia Velázquez por haberme permitido trabajar en este proyecto, por haberme transmitido parte de su experiencia y conocimiento, por la dedicación que tuvo, la paciencia, y la comprensión; estoy agradecido por que este proyecto me formo como estudiante pero también como persona fortaleciendo los valores y todo esto fue gracias a usted, ya que en muchas ocasiones me escucho y me aconsejo.

Dr. Roberto Villagómez por su apoyo en la realización de las correcciones finales, ya que fueron algo complicadas, muchas gracias por su tiempo y dedicación y por la obtención de los espectros.

Dr. Juan Gayosso por su apoyo en la realización de la parte experimental en el laboratorio; por compartir su conocimiento y por la obtención y elucidación de los espectros.

A los sinodales que aceptaron formar parte del jurado y se tomaron su tiempo para leer el trabajo, de hacer correcciones y mejoras. Dr. Martin Torres por la transmisión de sus conocimientos orgánicos a lo largo de la carrera, la dedicación que mostro en las correcciones del trabajo, a la Dra. Susana ya que me introdujo en la Orgánica en segundo semestre en Química de los Hidrocarburos y por su apoyo en esta. Dra. Minarda por el apoyo en la traducción de los datos estadísticos de los modelos biológicos y finalmente a la Dra. Raquel Cariño por su apoyo en las correcciones de tipo clínico y por aportar algunos artículos para mejorar el trabajo.

Al Dr. Huizard por la asesoría en la parte de los cálculos teóricos, y por compartir el conocimiento en el aula de clases en la materia de Cuántica y Química Computacional.

Al personal del bioterio de la UAEH por las facilidades para la realización de las pruebas biológicas, al químico Cerón y al Dr. Héctor.

A los investigadores y administrativos del área de farmacia, por su buena actitud hacia mí, en especial a la Dra. Gina, a Chio por apoyarnos con el material de laboratorio.

A todos los maestros que contribuyeron con mi formación académica mediante la transmisión de sus conocimientos, pero más que nada la formación como persona.

---

## RESUMEN

En este trabajo de investigación se evaluaron las propiedades antidiarreicas y analgésicas atribuidas tradicionalmente a *Lopezia racemosa* (perilla); mediante la evaluación farmacológica del extracto etanólico de las partes aéreas a dosis de 150, 300 y 600 mg/Kg, empleando como ensayos biológicos: motilidad gastrointestinal, Tail-flick y Writhing.

En el modelo de motilidad gastrointestinal, el extracto etanólico mostró actividad dosis dependiente a 150 mg/Kg (25.28%), 300 mg/Kg (78.57%) y 600 mg/Kg (92.08%), obteniendo una mayor respuesta que el fármaco control, loperamida a 2.5 mg/kg (78.57%). En el modelo de Tail-flick se observó el mismo efecto dosis dependiente y la actividad fue mayor que en el fármaco control, paracetamol a 250 mg/Kg: mientras que en el modelo de Writhing se observó un comportamiento de hormesis, a 150 mg/kg (88.83%), 300 mg/kg (46.32%) y 600 mg/kg (80.65 %), presentando mayor actividad que los fármacos control, ácido acetilsalicílico a 200 mg/kg (40.39%) y diclofenaco a 10 mg/kg (40.39%).

El estudio fitoquímico del extracto etanólico de las partes aéreas condujo al aislamiento de un compuesto de tipo flavonoide denominado apigenina, el cual fue caracterizado mediante RMN <sup>1</sup>H.

Mediante el análisis computacional de apigenina, se logró la determinación teórica de los sitios reactivos más importantes de la molécula, siendo estos el carbono de la posición cuatro y el carbono en la posición ocho, susceptibles a un posible ataque nucleofílico así como el oxígeno de la posición cuatro, susceptible a un posible ataque vía radicales libres.

---

# ÍNDICE

|   | <b>Pág.</b> |
|---|-------------|
| <b>I. INTRODUCCIÓN</b>  | <b>1</b>    |
| <b>II. ANTECEDENTES</b>   | <b>4</b>    |
| <b>2.1. Generalidades del síndrome diarreico.</b>                           | <b>4</b>    |
| <b>2.1.1. Diarrea</b>   | <b>5</b>    |
| <b>2.1.1.1. Diarrea osmótica</b>  | <b>5</b>    |
| <b>2.1.1.2. Diarrea secretora</b>   | <b>6</b>    |
| <b>2.1.1.3. Diarrea exudativa</b>   | <b>6</b>    |
| <b>2.1.1.4. Diarrea motora</b>  | <b>6</b>    |
| <b>2.1.2. Fármacos empleados para el tratamiento del síndrome diarreico</b> | <b>7</b>    |
| <b>2.1.2.1. Inhibidores de la motilidad intestinal</b>                      | <b>7</b>    |
| <b>2.1.2.2. Absorbentes</b>   | <b>8</b>    |
| <b>2.1.2.3. Agentes antisecretores</b>                                      | <b>9</b>    |
| <b>2.1.3. Fitoterapia para la diarrea</b>                                   | <b>10</b>   |
| <b>2.1.3.1. Productos naturales con actividad antidiarreica</b>             | <b>12</b>   |
| <b>2.2. Generalidades del dolor</b>   | <b>13</b>   |
| <b>2.2.1. Clasificación general del dolor</b>                               | <b>13</b>   |
| <b>2.2.1.1. Dolor agudo</b>   | <b>14</b>   |
| <b>2.2.1.2. Dolor crónico</b>   | <b>14</b>   |
| <b>2.2.1.3. Dolor somático</b>  | <b>14</b>   |
| <b>2.2.1.4. Dolor visceral</b>  | <b>15</b>   |
| <b>2.2.1.5. Dolor neuropático</b>   | <b>15</b>   |

---



|          |   |    |
|----------|---|----|
| 2.2.2.   | Fármacos empleados para el tratamiento del dolor      | 16 |
| 2.2.2.1. | Nivel I. AINES (antiinflamatorios no esteroideos)     | 17 |
| 2.2.2.2. | Nivel II. Opioides débiles                            | 18 |
| 2.2.2.3. | Nivel III. Opioides fuertes                           | 18 |
| 2.2.2.4. | Nivel IV. Invasivas-bloqueos peridurales ACP          | 19 |
| 2.2.2.5. | Nivel flotante  | 19 |
| 2.2.3.   | Fitoterapia para el dolor                             | 19 |
| 2.3.     | Generalidades de la familia Onagraceae                | 23 |
| 2.4.     | Generalidades de <i>Lopezia racemosa</i> Cav. Ssp.    | 24 |
| 2.5.     | Flavonoides   | 26 |
| 2.5.1.   | Actividad biológica de flavonoides                    | 28 |
| 2.6.     | Actividad biológica de apigenina (40)                 | 29 |
| 2.7      | Funciones Fukui                                       | 30 |
| III.     | <b>JUSTIFICACIÓN</b>                                  | 33 |
| IV.      | <b>HIPÓTESIS</b>                                      | 34 |
| V.       | <b>OBJETIVOS</b>                                      | 35 |
| 5.1.     | Objetivo general                                      | 35 |
| 5.2.     | Objetivos particulares                                | 35 |
| VI.      | <b>METODOLOGÍA</b>                                    | 36 |
| 6.1.     | Materiales Utilizados                                 | 36 |
| 6.2.     | Obtención e identificación del material vegetal       | 36 |
| 6.3.     | Obtención del extracto etanólico de las partes aéreas | 36 |
| 6.4.     | Modelos Farmacológicos                                | 37 |
| 6.4.1.   | Animales Utilizados                                   | 37 |

---

|              |   |    |
|--------------|---|----|
| 6.4.2.       | Modelo de motilidad gastrointestinal  | 38 |
| 6.4.3.       | Modelo de Tail-flick  | 39 |
| 6.4.4.       | Modelo de Writhing  | 40 |
| 6.5.         | Análisis estadístico  | 41 |
| 6.6.         | Aislamiento y purificación  | 41 |
| 6.6.1.       | Purificación de apigenina   | 41 |
| 6.7.         | Análisis estructural  | 45 |
| 6.7.1.       | Determinación de sitios reactivos de apigenina (40) (Spartan 02 y Gauss View 3.09)                      | 45 |
| <b>VII.</b>  | <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>   | 47 |
| 7.1..        | Modelos farmacológicos  | 47 |
| 7.1.1.       | Modelo de motilidad gastrointestinal  | 47 |
| 7.1.2.       | Modelo de Tail-flick  | 48 |
| 7.1.3.       | Modelo de Writhing  | 49 |
| 7.2.         | Elucidación de la estructura de apigenina (40) mediante RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) en $\text{MeOH-}d_4$ | 52 |
| 7.3.         | Análisis estructural mediante cálculos teóricos   | 56 |
| 7.3.1.       | Determinación de los sitios reactivos (Gauss View 3.09)   | 58 |
| <b>VIII.</b> | <b>CONCLUSIONES</b>   | 61 |
| <b>IX.</b>   | <b>PERSPECTIVAS</b>   | 62 |
| <b>X.</b>    | <b>BIBLIOGRAFÍA</b>   | 63 |

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  | Pág. |
|--|------|
| Figura 1. Ejemplos de compuestos aislados de plantas con actividad farmacológica                                   | 2    |
| Figura 2. Algunos fármacos empleados para el tratamiento de la diarrea   | 10   |
| Figura 3. Escalera analgésica de la OMS (2007)   | 16   |
| Figura 4. Fármacos empleados para el tratamiento del dolor en el Nivel I   | 17   |
| Figura 5. Fármacos empleados para el tratamiento del dolor en el Nivel II  | 18   |
| Figura 6. Fármacos empleados para el tratamiento del dolor en el Nivel III   | 19   |
| Figura 7. Imágenes de <i>Lopezia racemosa</i> (CONABIO, 2011)  | 25   |
| Figura 8. Estructura básica de los flavonoides   | 27   |
| Figura 9. Algunos grupos de flavonoides  | 27   |
| Figura 10. Ejemplos de flavonoides   | 28   |
| Figura 11. Apigenina ( <b>40</b> )   | 30   |
| Figura 12. Obtención del extracto etanólico de las partes aéreas   | 37   |
| Figura 13. Animales utilizados   | 38   |
| Figura 14. Modelo de motilidad gastrointestinal  | 39   |
| Figura 15. Modelo de Tail-flick  | 40   |
| Figura 16. Modelo de Writhing  | 41   |
| Figura 17. Cromatografía en capa fina de apigenina, extracto etanólico, fracciones, fracción clorofórmica y acuosa | 42   |
| Figura 18. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) en $\text{CDCl}_3$ de la fracción clorofórmica                   | 43   |
| Figura 19. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) en $\text{MeOH}-d_4$ de apigenina ( <b>40</b> )                  | 54   |

---

|            |   |    |
|------------|---|----|
| Figura 20. | Expansión del espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) en MeOH- $d_4$ de apigenina (40) | 55 |
| Figura 21. | Confórmero más estable de apigenina (40)  | 56 |
| Figura 22. | Orbitales moleculares HOMO y LUMO para apigenina (40)                                 | 57 |
| Figura 23. | Mapa de densidades HOMO y LUMO para apigenina (40)                                    | 57 |
| Figura 24. | Mapa de potencial electrostático de apigenina (40)                                    | 58 |
| Figura 25. | Posibles sitios reactivos en la molécula de apigenina (40) según cálculos teóricos    | 60 |

## ÍNDICE DE GRÁFICAS Y ESQUEMAS

|            |  | Pág. |
|------------|--|------|
| Gráfica 1. | Causas principales de mortalidad en los niños menores de 5 años (OMS, 2011).                           | 4    |
| Gráfica 2. | Número de especies medicinales utilizadas según el padecimiento (Pérez et al., 2003).                  | 11   |
| Gráfica 3. | Uso de plantas medicinales en Hidalgo para afecciones del sistema digestivo (Pérez et al., 2003).      | 12   |
| Gráfica 4. | Especies vegetales del Estado de Hidalgo empleadas para el tratamiento del dolor (Pérez et al., 2003). | 20   |
| Grafica 5. | Porciento de inhibición del tránsito intestinal de <i>Lopezia Racemosa</i>                             | 47   |
| Gráfica 6. | Actividad analgésica de <i>Lopezia racemosa</i> para el modelo de Tail-flick                           | 49   |
| Gráfica 7. | Actividad analgésica de <i>Lopezia racemosa</i> para el modelo de Writhing                             | 50   |
| Grafica 8. | Porcentaje de inhibición de contracciones musculares en el modelo Writhing                             | 50   |

**ÍNDICE DE TABLAS**

|   | <b>Pág.</b> |
|---|-------------|
| Tabla 1. Clasificación general del dolor  | 13          |
| Tabla 2. Plantas medicinales del Estado de Hidalgo para el tratamiento del dolor de estomago y la diarrea (Pérez et al., 2003). | 21          |
| Tabla 3. Especies de Onagraceae en el Estado de Hidalgo   | 24          |
| Tabla 4. Fraccionamiento secundario de F <sub>4</sub>   | 45          |
| Tabla 5. Desplazamientos de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz) en MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> de apigenina (40)                       | 53          |
| Tabla 6. Bases analizadas con sus energías respectivas  | 59          |
| Tabla 7. Valores de las funciones Fukui   | 59          |

---

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

|                 |   |
|-----------------|---|
| <b>Ac</b>       | grupo acetilo   |
| <b>ACP</b>      | anestesia controlada por el paciente                              |
| <b>ADN</b>      | ácido desoxirribonucleico   |
| <b>AINES</b>    | antiinflamatorios no esteroideos                                  |
| <b>ASA</b>      | ácido acetilsalicílico  |
| <b>a.u.</b>     | unidad de energía interna   |
| <b>°C</b>       | grados Celsius  |
| <b>cm</b>       | centímetros   |
| <b>CONABIO</b>  | Comisión Nacional para el Conocimiento y Usos de la Biodiversidad |
| <b>COX</b>      | ciclooxigenasa  |
| <b>DCF</b>      | diclofenaco   |
| <b>Et</b>       | grupo etilo   |
| <b>g</b>        | gramo   |
| <b>h</b>        | hora  |
| <b>HOMO</b>     | Highest Occupied Molecular Orbital                                |
| <b>IASP</b>     | Asociación Internacional para el Estudio del Dolor                |
| <b>IMSS-M</b>   | Instituto Mexicano del Seguro Social México                       |
| <b>ip</b>       | intraperitoneal   |
| <b><i>J</i></b> | constante de acoplamiento   |
| <b>Kg</b>       | kilogramo   |
| <b>LUMO</b>     | Lowest Unoccupied Molecular Orbital                               |
| <b>MDA</b>      | malondialdehído   |
| <b>MHz</b>      | megahertz   |

---

|                          |   |
|--------------------------|---|
| <b>Me</b>                | grupo metílico  |
| <b>mg</b>                | miligramos  |
| <b>min</b>               | minutos   |
| <b>mL</b>                | mililitros  |
| <b>mm</b>                | milímetros  |
| <b>MMFF</b>              | Merck Molecular Force Field   |
| <b>MPO</b>               | mieloperoxidasa   |
| <b>OMS</b>               | Organización Mundial de la Salud  |
| <b>ppm</b>               | partes por millón   |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b> | Resonancia Magnética Nuclear de protón  |
| <b>ROS</b>               | Radicales Libres de Oxígeno   |
| <b>SAGARPA</b>           | Secretarías de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación |
| <b>TMS</b>               | tetrametilsilano  |
| <b>µm</b>                | micrometro  |
| <b>UV</b>                | Ultravioleta  |

## I. INTRODUCCIÓN

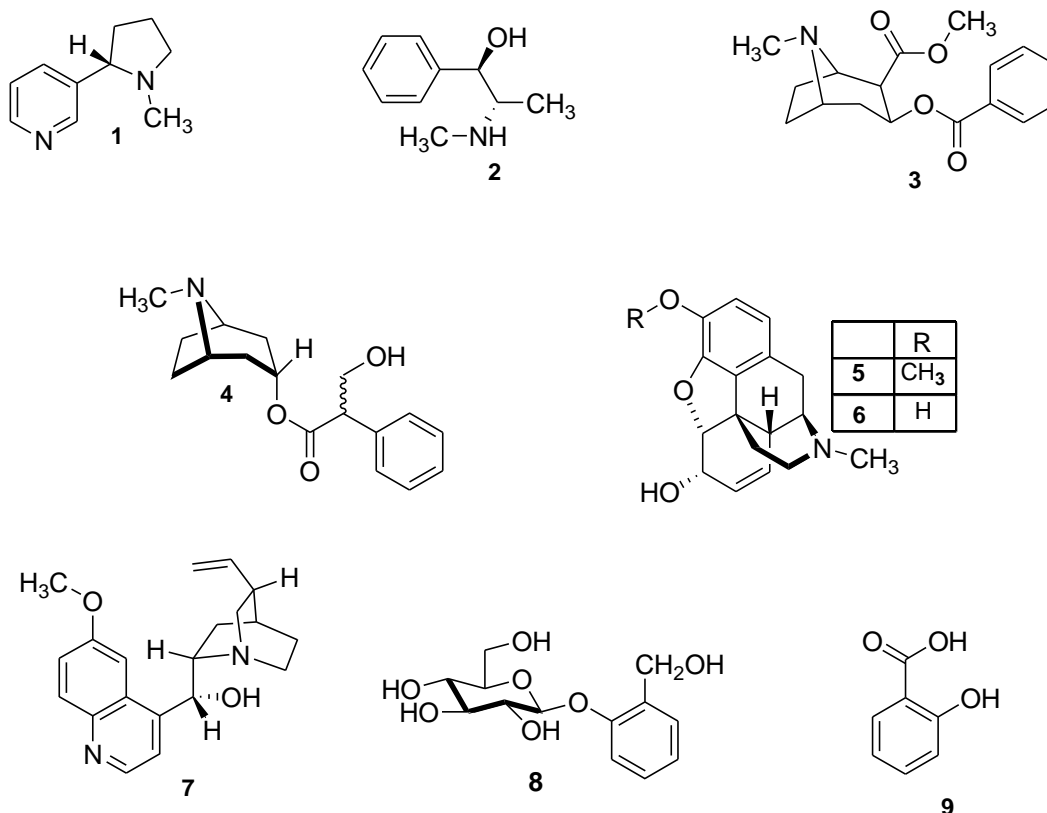
El hombre ha tenido que valerse por sí mismo aprendiendo a utilizar elementos de la naturaleza como fuente de alimento, vestido, material de construcción, energía o medicina, y es de esta manera como surge la medicina tradicional, manteniéndose hasta la actualidad como resultado de la transmisión oral de generación en generación (Romo de Vivar-Romo, 2006). La Organización Mundial de la Salud (OMS), define a la medicina tradicional como la suma completa de conocimientos, técnicas y prácticas fundamentadas en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas, que son utilizadas para mantener la salud y prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar trastornos físicos o mentales (OMS, 2008; Castillo-García et al., 2007; Ponz et al; 2005).

El conocimiento de las propiedades curativas de las plantas medicinales durante la historia, ha permitido identificar y aislar compuestos químicos con actividad biológica o propiedades farmacológicas, llamados principios activos, poniéndolos en el mercado en forma de medicamentos (Ponz et al; 2005).

Existe una gran cantidad de medicamentos derivados de plantas medicinales, se hace referencia a la existencia de alrededor de 121 sustancias químicas de origen vegetal que son catalogadas como fármacos importantes, con uso en más de un país y con gran variedad de usos terapéuticos, (Ponz et al; 2005); se han aislado y empleado por la humanidad desde colorantes como el índigo, saborizantes, fragancias obtenidas de aceites esenciales como lavanda y fragancia de rosas, estimulantes como la nicotina (1) y efedrina (2), alucinógenos como la cocaína (3), agentes anticolinérgicos como la atropina (4), analgésicos tales como la



codeína (5), la morfina (6), quinina (7), salicina (8) y el ácido salicílico (9) (Romo de Vivar-Romo, 2006; Van Wyk y Wink, 2004).



**Figura 1. Ejemplos de compuestos aislados de plantas con actividad farmacológica**

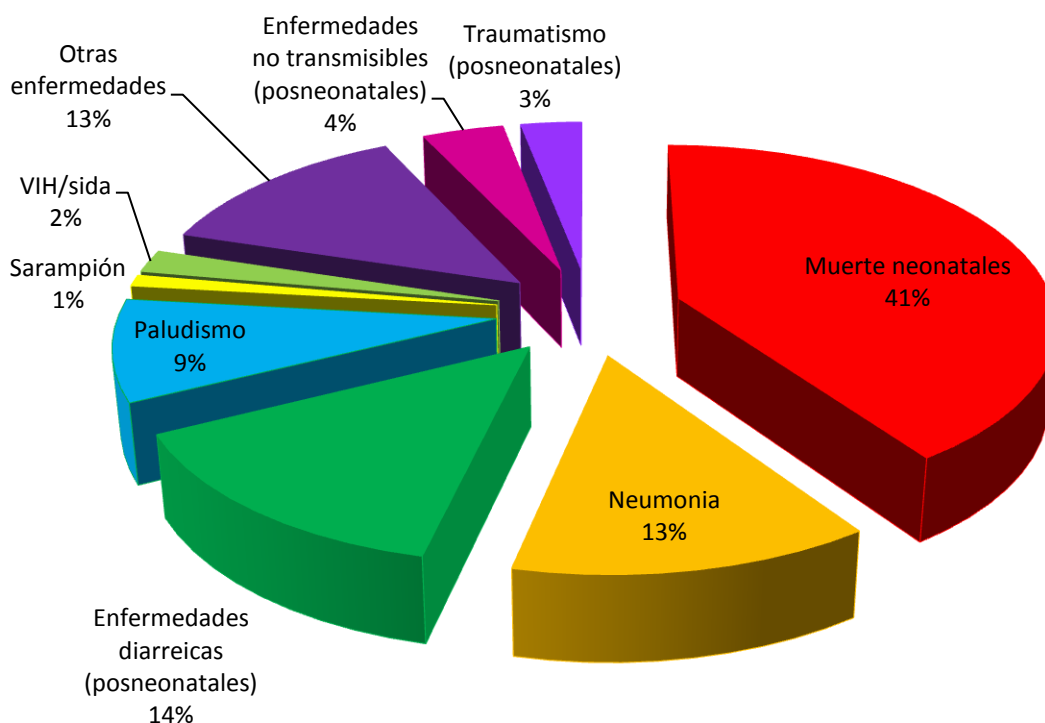
En México, las plantas medicinales han sido utilizadas tradicionalmente y en la actualidad constituyen una de las manifestaciones del acervo cultural que nos legaron nuestros antepasados, siendo así uno de los principales recursos terapéuticos tanto en el medio rural como suburbano (Mendieta y Del Amo; 1981) y representan una alternativa importante para más de 40 millones de mexicanos que no tienen acceso a los Servicios de Salud (Osuna et al, 2005).

El trabajo de investigación que a continuación se presenta comprende la evaluación farmacológica de la actividad antidiarreica y analgésica de *Lopezia racemosa*, así como la separación cromatográfica del extracto etanólico de las hojas y tallo que condujo a la obtención de la apigenina, de la cual se realizó la determinación de los posibles sitios reactivos con la ayuda de cálculos teóricos (Spartan 02 y Gauss View 3.09), por lo cual, en los siguientes capítulos se revisarán las generalidades del síndrome diarreico y del dolor, su clasificación y los fármacos empleados para su tratamiento; se mencionará la familia a la cual pertenece la planta, las especies existentes en el estado de Hidalgo y sus generalidades. Finalmente, se hablará de los flavonoides, su actividad biológica y algunos ejemplos de éstos.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1. Generalidades del síndrome diarreico

La diarrea se encuentra entre los padecimientos más importantes a nivel mundial. Es la causa de muerte de 1.5 millones de niños, siendo los menores de dos años los más afectados. En el 2011 la diarrea represento el 14 % de mortalidad en niños menores de cinco años (grafica 1). En los países en desarrollo, los niños sufren en promedio tres episodios de diarrea al año, alrededor del mundo se producen dos mil millones de casos de diarrea por año en niños, los niños también mueren ya que suele ser derivado al especialista tardamente (OMS, 2011; OMS, 2009).



**Grafica 1. Causas principales de mortalidad en los niños menores de 5 años (OMS, 2011).**

### **2.1.1. Diarrea**

Se define como tres o más deposiciones blandas o acuosas en un lapso de 24 horas; el número de deposiciones normales de una persona durante un día varía según la alimentación y edad; las deposiciones de una persona con diarrea, contienen más agua que de costumbre y son denominadas deposiciones blandas o acuosas. El síndrome diarreico dura varios días y priva al organismo de agua y sales necesarias para su supervivencia, causando una grave deshidratación y pérdida de líquidos; sus causas son múltiples y de manera general se dividen en: a) aguda, aquella que ocurre de manera repentina, dura pocos días y va acompañada de retortijones y b) crónica, la cual aparece de repente, dura semanas o incluso meses (OMS, 2008; Falconer y Patterson, 1981). A continuación se describen los mecanismos fisiopatológicos responsables de la diarrea.

#### **2.1.1.1. Diarrea osmótica**

Se produce por retención de solutos no absorbidos o mal absorbidos, los cuales ejercen un efecto osmótico que atrae agua a la luz intestinal incrementando las secreciones intestinales; puede estar causada por la ingesta de sustancias osmóticamente activas como algunos edulcorantes que acompañan alimentos o medicamentos, golosinas, laxantes o disacáridos como la lactosa en caso de insuficiencia de disacaridasas (Gil-Hernández et al., 2010; Segarra, 2006).

### **2.1.1.2. Diarrea secretora**

Es resultado de la presencia de toxinas que incrementan la secreción de cloruros y agua en el tubo digestivo, observando un transporte anormal de iones en las células epiteliales intestinales, como consecuencia se reduce la absorción y se incrementa la secreción. Las heces son abundantes y contienen alta concentración de electrolitos, un ejemplo de este tipo de diarrea, es el provocado por la toxina causante de cólera, *Vibrio cholerae* (Gil-Hernández et al., 2010; Porter et al., 2010).

### **2.1.1.3. Diarrea exudativa**

Existe lesión de la mucosa intestinal que libera sangre, moco y proteínas; puede deberse a agentes infecciosos, isquemia, procesos inflamatorios o tumores de la pared intestinal. Es típica de las infecciones intestinales llamadas disenterías producidas por bacterias como *Shigella dysenteriae* o parásitos como *Entamoeba histolytica* (Gil-Hernández et al., 2010; Segarra, E., 2006).

### **2.1.1.4. Diarrea motora**

La diarrea motora es debida a una alteración de la motilidad del intestino delgado o grueso. El defecto en la motilidad causa reducción del tiempo de contacto entre el contenido intestinal y las células epiteliales (Gil-Hernández et al., 2010).

Los mecanismos se describen a continuación:

Hipermotilidad, disminuye el tiempo de contacto del contenido intestinal con la mucosa, dificultando la absorción de agua y electrolitos; el tránsito rápido impide la

absorción de los nutrientes, con lo cual aumenta la osmolalidad en la luz intestinal, pudiendo generar una diarrea osmótica (Gil-Hernández et al., 2010).

Hipomotilidad, la disminución en la motilidad del intestino delgado ocasiona un aumento en la proliferación bacteriana. Además, los productos de la actividad bacteriana resultantes de la fermentación de los carbohidratos inhiben la absorción del agua y electrolitos al aumentar la osmolalidad. Ambos factores son causantes de una diarrea que no suele ser muy abundante pero que se repite en el tiempo. La diabetes, y la pseudoobstrucción intestinal pueden ser causa de diarrea por este mecanismo.

Cualesquiera que sean los mecanismos que hayan iniciado la diarrea, el aumento de líquido en el tubo intestinal distiende las paredes de éste, provocando un aumento en la motilidad (Gil-Hernández et al., 2010).

### **2.1.2. Fármacos empleados para el tratamiento del síndrome diarreico**

Existen diferentes tipos de compuestos empleados en el tratamiento del síndrome diarreico, en la figura 2 se presentan las estructuras de algunos de ellos.

#### **2.1.2.1 Inhibidores de la motilidad intestinal**

##### **\* Opiáceos**

Su acción gastrointestinal se ejerce sobre receptores MOR y DOR de la pared del tubo digestivo alterando la motilidad y la secreción. La disminución de los movimientos intestinales mejora los síntomas ocasionados por cólicos y aumenta el tiempo de contacto con la mucosa intestinal mejorando la absorción. Entre los opiáceos más utilizados se encuentran: loperamida (**10**), codeína (**5**) y difenoxilato

(11); de estos, la loperamida (10) es el fármaco que más se emplea ya que reduce las deposiciones en un 80% y además no tiene efectos sobre el sistema nervioso central, posee una importante acción paralizante del músculo liso intestinal; además reduce la secreción acuosa gastrointestinal, lo cual contribuye a su acción astringente (Gil-Hernández et al., 2010; Lorenzo et al., 2008).

Las reacciones adversas a todos los opiáceos incluyen la disminución en la motilidad gastrointestinal con estreñimiento y náuseas, picazón, sedación y depresión respiratoria, que a mayor dosis puede llevar al paro respiratorio (Shaw et al., 2006)

### \* **Fármacos anticolinérgicos**

Estos fármacos disminuyen las secreciones intestinales y la motilidad intestinal, un ejemplo de estos es la atropina (4); sin embargo, no son eficaces en diarreas causadas por toxinas y mediadores celulares, más bien su eficacia es para el tratamiento de cólicos que acompañan a la diarrea, los fármacos anticolinérgicos pueden producir visión borrosa, boca seca, taquicardia, estreñimiento y retención urinaria (Rodríguez-Suárez et al., 2005).

### **2.1.2.2. Absorbentes**

Son sustancias que absorben nutrientes, enzimas digestivas, toxinas, bacterias y varios materiales nocivos en el tracto intestinal impidiendo que actúen sobre la mucosa (Peretta, 2005).

### \* **Subsalicilato de bismuto**

El Subsalicilato de bismuto (**12**) reduce la secreción intestinal estimulada por toxinas bacterianas, esto debido a su capacidad para inhibir la síntesis de prostaglandinas, disminuye la intensidad de la diarrea y cólicos; tiene un potente efecto antiemético y es útil para la diarrea de origen vírico, las reacciones adversas de los absorbentes incluyen debilidad, puede causar salpullidos en la piel, dolor en las articulaciones y también irritación del estomago si se toma en altas dosis (Gil-Hernández et al.,2010; Lorenzo et al., 2008; Cabello-Romero et al., 2002).

### \* **Hidróxido de aluminio y de magnesio**

Actúan ligando a los ácidos biliares, por lo cual mejoran la diarrea ocasionada por la mala absorción de éstos (Gil-Hernández et al.,2010).

### \* **Otros**

Algunas sustancias útiles que absorben agua y toxinas son caolín, pectina y carbón activado.

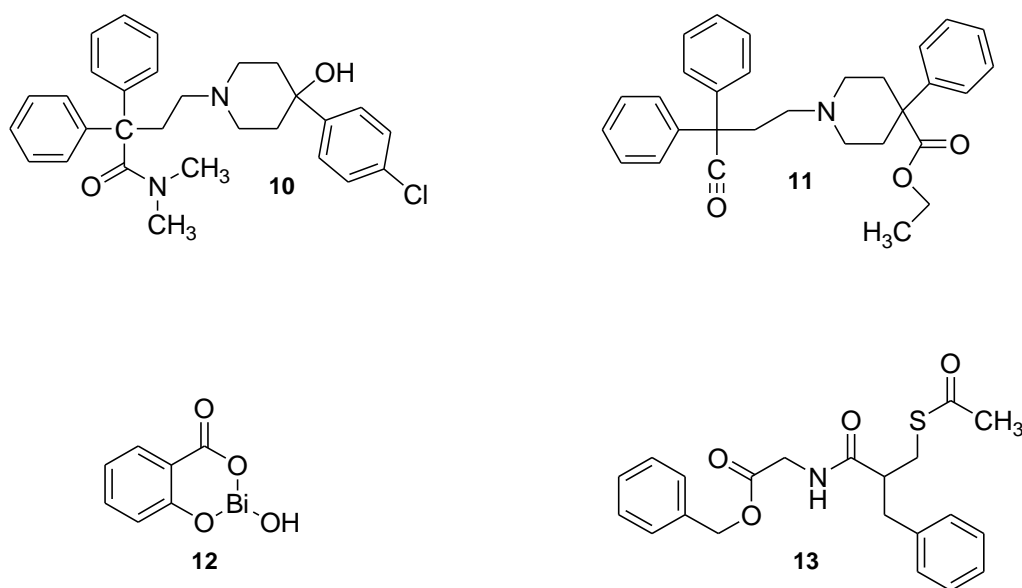
### **2.1.2.3. Agentes antisecretores**

#### \* **Racecadotril**

El racecadotril (**13**) es un fármaco antisecretor, que actúa reduciendo la salida de agua y electrolitos a la luz intestinal; su actividad es únicamente periférica, ha demostrado una eficacia similar a la loperamida (**10**) pero con mejor tolerancia, aunque carece de efectos sobre la motilidad intestinal, el racecadotril puede tener



efectos adversos, aun que no todas las personas lo sufran como por ejemplo vomito, fiebre trastornos respiratorios dolor de cabeza y estreñimiento (Gil-Hernández et al.,2010; Lorenzo et al., 2008; Gonzales-Gero et al., 2003).



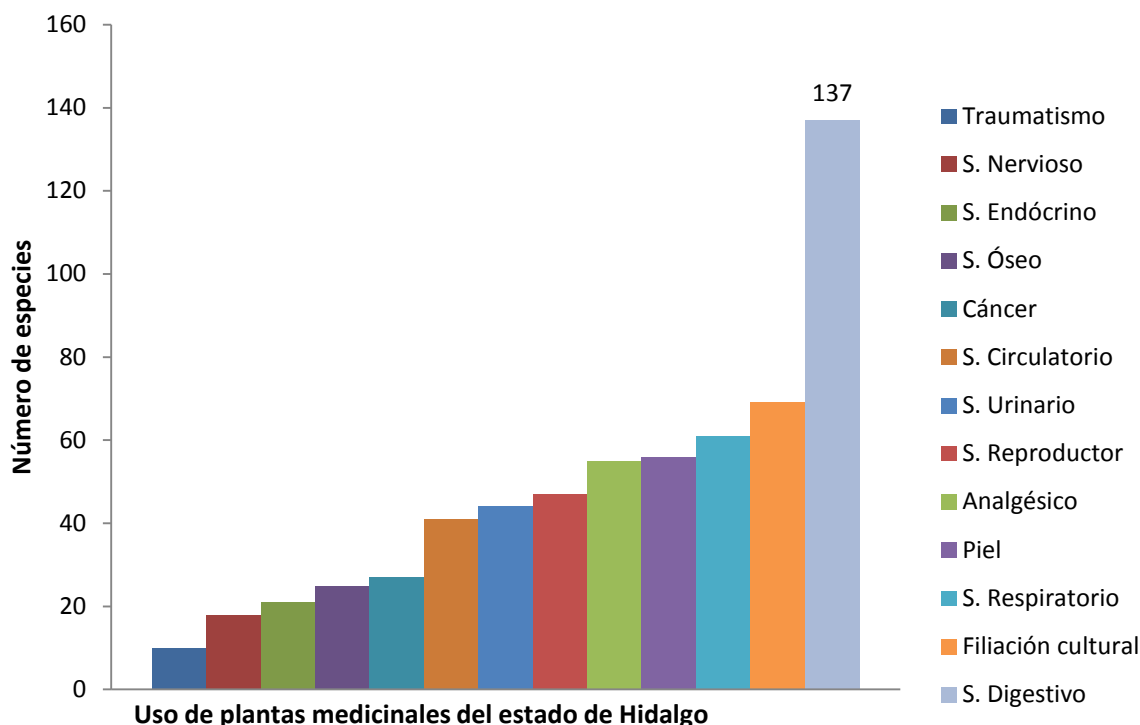
**Figura 2. Algunos de fármacos empleados para el tratamiento de la diarrea**

### 2.1.3. Fitoterapia para la diarrea

Desde la antigüedad, se han empleado plantas medicinales para el tratamiento de alteraciones del aparato digestivo, por lo que su eficacia terapéutica y su seguridad pueden considerarse respaldada por su amplia utilización (Castillo-García et al., 2007).

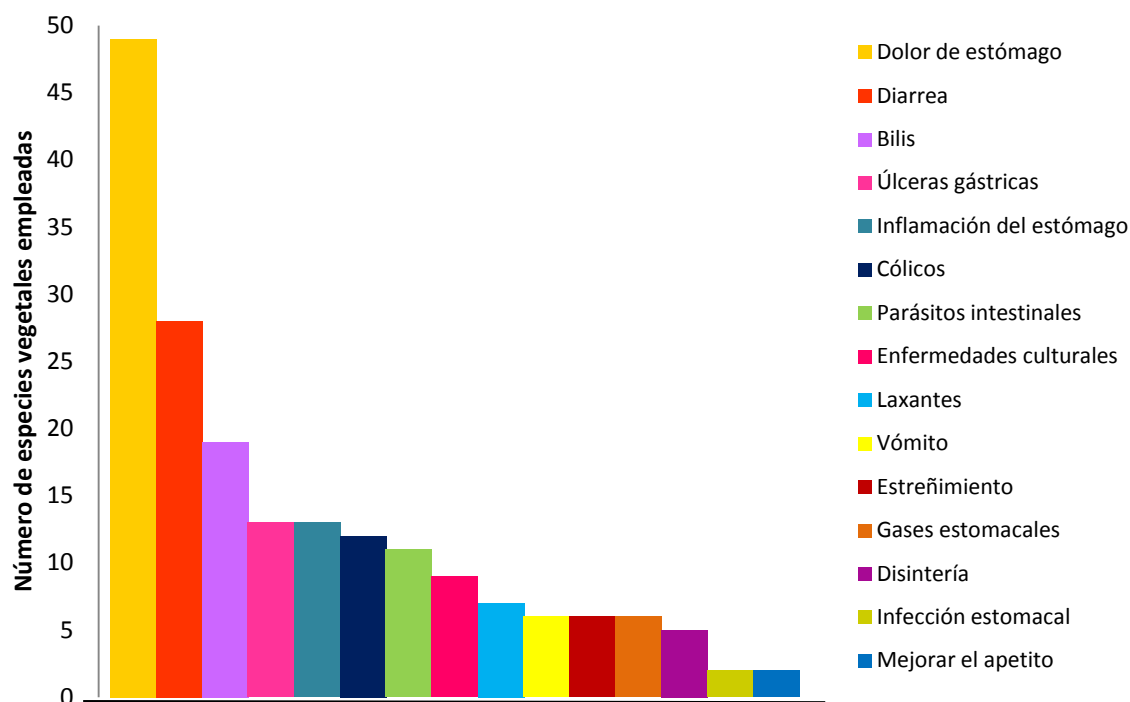
En el Estado de Hidalgo, El estudio más antiguo reportado en el Estado de Hidalgo sobre el empleo de plantas medicinales data del siglo XVI, en el cual se describe la utilización de 250 especies de plantas de Tepeapulco; hasta el día de hoy se han reportado 611 especies de plantas utilizadas por los habitantes del

Estado, de las cuales 461 corresponden a plantas con uso medicinal y de estas últimas, 137 se utilizan en el tratamiento de afecciones del sistema digestivo ocupando el primer lugar en uso (Gráfica 2) (Pérez et al., 2003).



**Gráfica 2. Número de especies medicinales utilizadas según el padecimiento en el estado de Hidalgo (Pérez et al., 2003).**

Las dos principales afecciones del sistema digestivo para las cuales se emplean plantas medicinales son el dolor de estómago y la diarrea con 49 y 28 especies respectivamente. En la gráfica 3, se muestran el número de especies utilizadas para afecciones del sistema digestivo y el padecimiento para el que se usan (Pérez et al., 2003).



**Gráfica 3. Uso de plantas medicinales en Hidalgo para afecciones del sistema digestivo (Pérez et al., 2003).**

## 2.1.3.1. Productos naturales con actividad antidiarreica

La mayoría de las plantas medicinales utilizadas como antidiarreicos presentan un contenido suficiente de taninos con actividad astringente, por ejemplo, el algarrobo o el arándano. Otras se comportan como antidiarreico por su capacidad destoxificante y captadora de agua, lo que ocurre con algunos fármacos que contienen mucílagos, como la ispágula o la zaragatona, agentes hidrofílicos que son capaces de aumentar la consistencia de las heces debido a su capacidad de absorber agua; pueden emplearse también pectinas o carbón activado (Castillo-García et al., 2007).

## 2.2. Generalidades del dolor

El dolor es una sensación difícil de definir por su especificidad y variabilidad. Cada persona podría definirlo de una manera diferente (Coghill y MacHaffier, 2003), ya que la percepción del dolor varía según la naturaleza del trauma, la recuperación y las circunstancias en que se produce el origen de la sensación (Klein et al., 2004; Sandkuhler, 2000); la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), lo define como una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a una lesión tisular presente o potencial (Castillo-García et al., 2007). El dolor es un mecanismo protector del cuerpo, por lo cual debemos entenderlo como una respuesta fisiológica, defensiva y positiva cuya misión es alertar sobre la existencia de algún daño (Guyton et al., 1998, Muñoz et al., 1998).

### 2.2.1. Clasificación general del dolor

Existen diversos criterios para la clasificación del dolor, esto debido a que es un síntoma subjetivo y puede estar condicionado por diversos factores. Existen dos clasificaciones generales basadas en la evolución y en los mecanismos; (tabla 1).

**Tabla 1. Clasificación general del dolor.**

|                             |             |
|-----------------------------|-------------|
| <b>Evolución del dolor</b>  | Agudo       |
|                             | Crónico     |
| <b>Mecanismos del dolor</b> | Somático    |
|                             | Visceral    |
|                             | Neuropático |

### **2.2.1.1. Dolor agudo**

Es causado por estímulos nocivos, como un gran calor que produzca una quemadura, un sonido de gran intensidad o una lesión por compresión de músculos y piel (Marhuenda-Requena et al., 2005; Muñoz et al., 1998).

### **2.2.1.2. Dolor crónico**

La persistencia del estímulo, de la enfermedad o de ciertas condiciones fisiopatológicas, conduce al establecimiento de un dolor crónico en algunos casos de curación imposible. El dolor se prolonga en el tiempo, dura más de seis meses y comprende un amplio abanico de sensaciones; este tipo de dolor pierde su función de alarma y queda solo como una molestia.

Se puede decir que el dolor crónico constituye una enfermedad y su alivio puede no conseguirse en el 100% de los casos (Muriel-Villoria, 2007; Muñoz et al., 1998).

### **2.2.1.3. Dolor somático**

Es producido por la activación de los nociceptores cutáneos o de tejidos profundos; si la estimulación se da en los receptores de la piel, es llamado dolor somático superficial, pero si se da la estimulación de los receptores de los músculos esqueléticos, articulaciones y tendones, se refiere a dolor somático profundo (Marhuenda-Requena et al., 2005; Fritz, S., 2001).

Es un dolor bien localizado, sordo y punzante, que se limita al área afectada o se extiende poco a poco a partir de ella. Algunos ejemplos de dolor somático son: dolores causados por una herida quirúrgica, el dolor óseo ya sea causado por

microfracturas, la presencia de un tumor, una contracción muscular o compresión de estructuras nerviosas, entre otros (Fritz, 2001; Torres-Morera, 2001).

### **2.2.1.4. Dolor visceral**

Se trata de un dolor profundo y opresivo, mal localizado, aunque en ocasiones produce dolores referidos a la superficie cutánea; suele percibirse en una zona mucho mayor que la del estímulo; puede ser continuo y monótono o manifestarse en forma breve y repentina; se acompaña de intensos reflejos motores y autonómicos, así como de náuseas, vómitos y sudoración profusa (Gómez-Sancho, 2006; Torres-Morera, 2001).

### **2.2.1.5. Dolor neuropático**

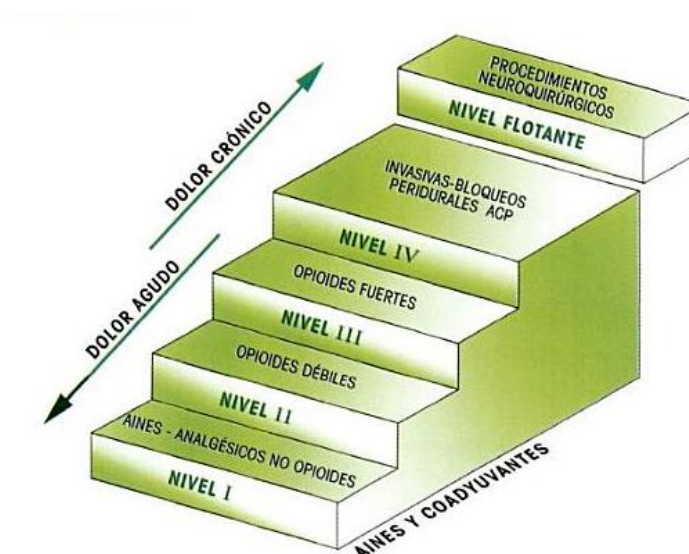
Es resultado de una o más de las siguientes causas: compresión o infiltración tumoral, lesión química del nervio periférico o de la médula espinal, o tras cirugía, radioterapia o quimioterapia, alteraciones o lesiones crónicas en vías nerviosas periféricas o centrales. El síntoma se presenta como una sensación basal dolorosa o quemante, puede haber presencia de ardor, hormigueo constante como de una descarga eléctrica; llega a persistir más que el estímulo o desencadenarse por algún estímulo mínimo como el roce de la ropa. El dolor neuropático representa el 15-20% de los problemas dolorosos intensos de la población con cáncer y es de los que más dificultades tienen para su alivio y control. (Barragán-Iglesias et al., 2011; Gómez-Sancho et al., 2006; Bravo-Díaz et al., 2005).

Desde el punto de vista clínico el dolor neuropático puede tener dos manifestaciones específicas:

- \* Dolor disestésico: Sensación de quemazón constante, superficial, duele con el simple roce de la ropa.
- \* Dolor neurálgico: Provoca paroxismos de dolor lacerante, el paciente lo refiere como punzadas o latigazos (Gómez-Sancho et al., 2006).

### 2.2.2. Fármacos empleados para el tratamiento del dolor

El tratamiento del dolor, sigue el esquema de la Organización Mundial de la Salud (OMS) conocido como escalera analgésica (Figura 3).

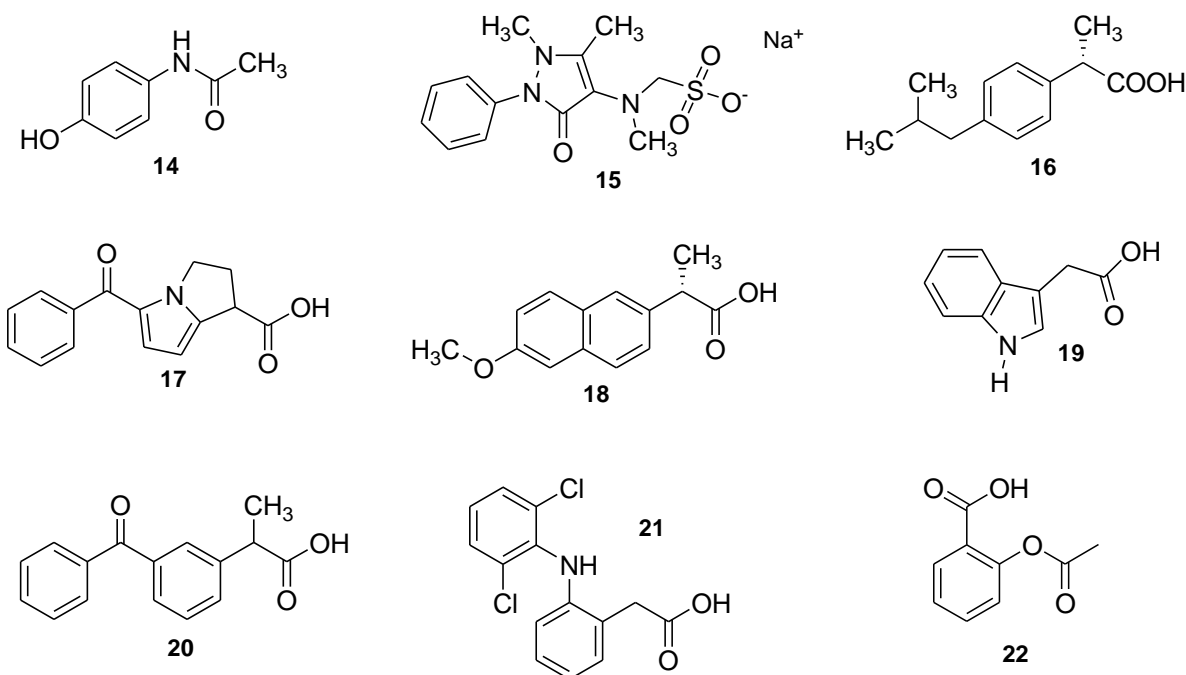


**Figura 3. Escalera analgésica de la OMS (2007).**

El protocolo de la OMS consiste en un tratamiento escalonado que comienza con la utilización de fármacos de potencia analgésica baja y termina con la administración de opioides potentes tras un ascenso progresivo y preestablecido hasta conseguir el alivio del dolor (González et al., 2007).

## 2.2.2.1. Nivel 1: AINES

Dentro de este nivel, se incluyen los medicamentos no opioides. Este tipo de fármacos, son útiles para dolor agudo y crónico; están indicados para el dolor que presenta inflamación y se considera que son de acción preferentemente periférica. Todos los AINES (antiinflamatorios no esteroideos) son antipiréticos, analgésicos y antiinflamatorios, a diferencia del paracetamol (**14**) que carece de actividad antiinflamatoria. Una de las principales ventajas frente a los opioides, es que no producen dependencia ni somnolencia aunque, por otro lado, tienen una dosis tope y al sobrepasarla pueden llegar a ser tóxicos. Ejemplo de este tipo de fármacos son el paracetamol (**14**), metamizol (**15**), ibuprofeno (**16**), ketorolaco (**17**), naproxeno (**18**), ácidos indolacéticos (**19**), ketoprofeno (**20**), diclofenaco (**21**) y la aspirina (**22**) (González-Barón et al., 2007; Munir et al., 2007).

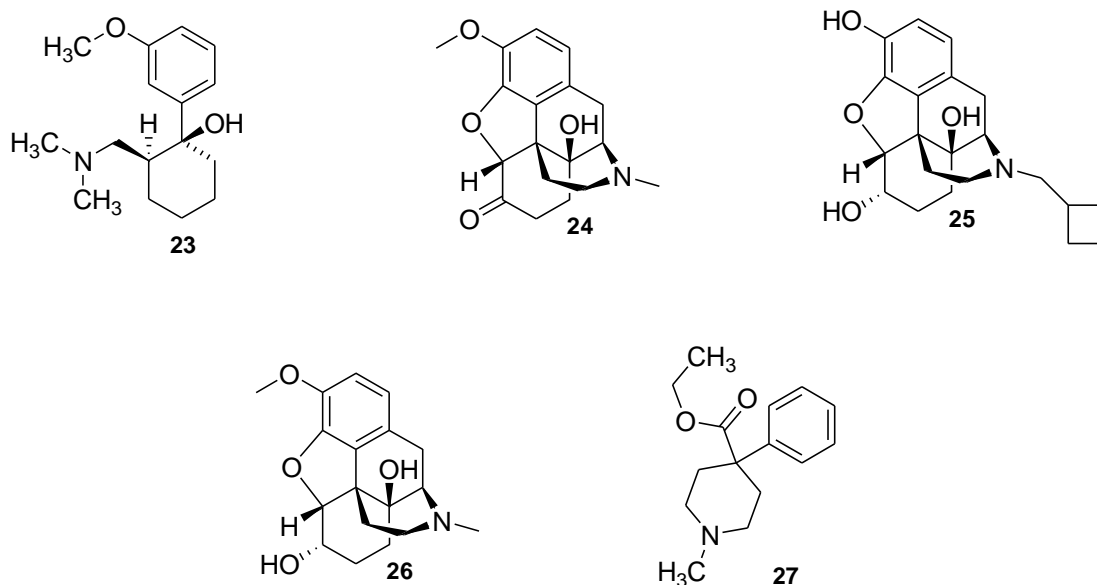


**Figura 4. Fármacos empleados para el tratamiento del dolor en el Nivel I**



## 2.2.2.2. Nivel II. Opioides débiles

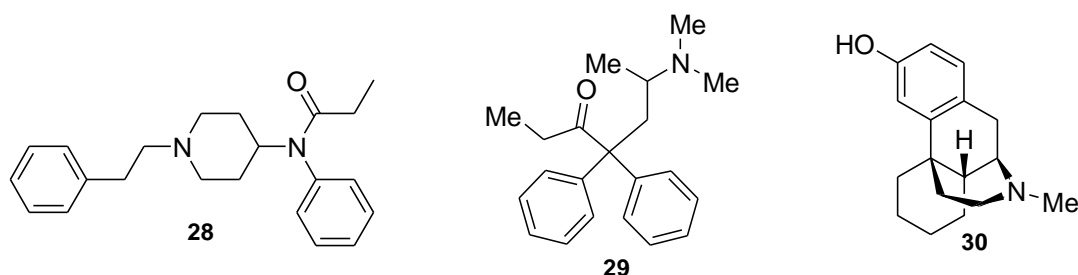
En el segundo peldaño de la escalera analgésica de la OMS se encuentran los opioides débiles; están indicados en problemas de dolor moderado a grave. Los más utilizados son codeína (**5**), tramadol (**23**), oxycodona (**24**), nalbufina (**25**), dihidrocodeína (**26**), meperidina (**27**) (Plancarte-Sánchez et al., 2002; Silva et al., 1995).



**Figura 5. Fármacos empleados para el tratamiento del dolor en el Nivel II**

## 2.2.2.3. Nivel III. Opioides Fuertes

Son empleados principalmente para el tratamiento del dolor por cáncer y son morfinanos. Inhiben la transmisión central de los mensajes nociceptivos modificando la respuesta del organismo al dolor, algunos son: morfina (**6**), fentanilo (**28**), metadona (**29**) y levorfanol (**30**) (Plancarte-Sánchez et al., 2002).



**Figura 6. Fármacos empleados para el tratamiento del dolor en el Nivel III**

## 2.2.2.4. Nivel IV. Invasivas-Bloqueos Peridurales (ACP)

Este nivel está representado los fármacos de tipo opioides que son administrados por otras vías; vía subcutánea, vía endovenosa, vía peridural, colocación de catéteres en plexos nerviosos o anestesia controlada por el paciente (ACP).

Estas técnicas invasivas se emplean cada vez con menos frecuencia ya que el alivio del dolor es muy variable e impredecible. Los bloqueos se utilizan cuando el dolor no responde farmacológicamente (Silva et al., 1995).

## 2.2.2.5. Nivel Flotante

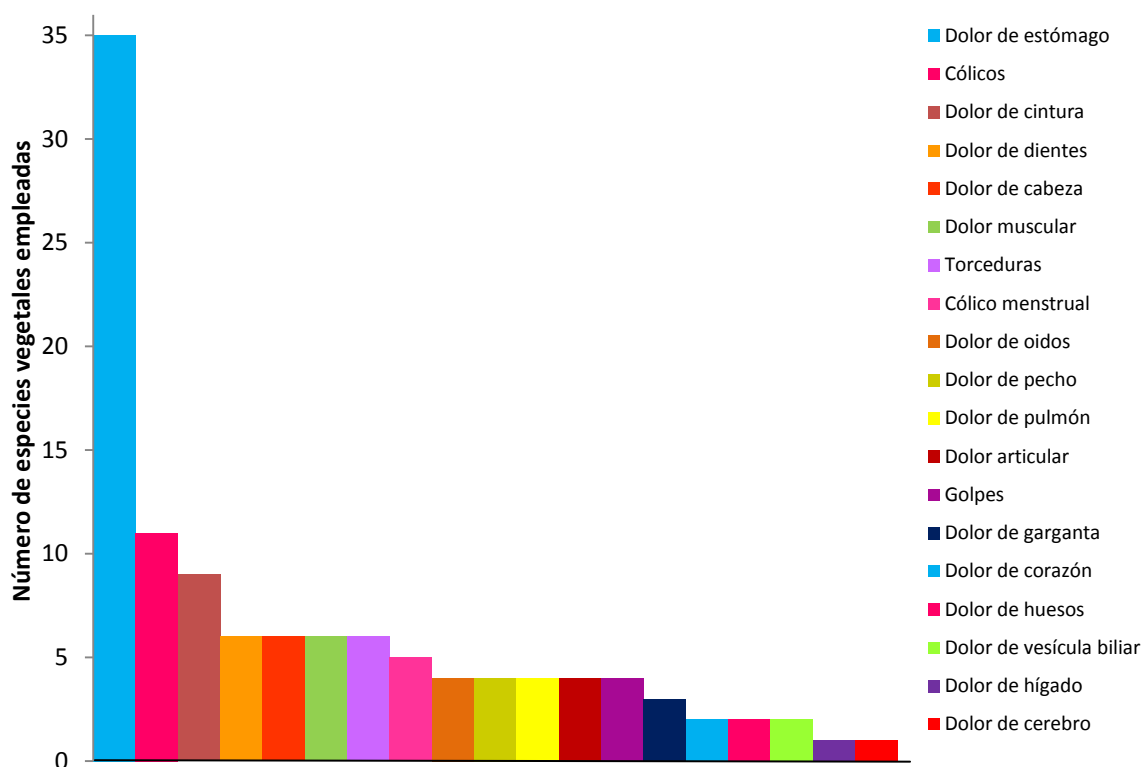
En este último nivel, se realizan procedimientos neuroquirúrgicos y bloqueos neurolíticos.

## 2.2.3. Fitoterapia para el dolor

A lo largo de la historia se han empleado plantas para el tratamiento del dolor como: la corteza del sauce para dolores reumáticos, la adormidera como analgésica, la mandrágora y el beleño para dolores espasmódicos y el cáñamo como analgésico. En china se utilizó desde épocas antiguas la efedra como un estimulante del sistema nervioso. Se han empleado también plantas alucinógenas

como el peyote y la coca, como tranquilizantes, anestésicos y analgésicos. El analgésico más empleado en la antigua Grecia era el opio por su alto contenido en morfina (6) y codeína (5); era empleado para cirugías y para calmar cualquier clase de dolor (Torres et al., 1997).

En el Estado de Hidalgo una gran cantidad de especies son empleadas para el tratamiento del dolor; el primer lugar lo ocupan aquellas que son empleadas para el dolor de estómago con 35 especies, seguido por las especies empleadas para cólicos y en tercer lugar las empleadas en el dolor de cintura tal y como se muestra en la gráfica 4.



**Gráfica 4. Especies vegetales del Estado de Hidalgo empleadas para el tratamiento del dolor (Pérez et al., 2003).**

Las afecciones del aparato digestivo están estrechamente relacionadas entre sí, los productos fitoterapéuticos suelen ser polivalentes, de aplicación en diferentes enfermedades o alteraciones digestivas (Castillo-García et al., 2007).

En la tabla 2 podemos ver la correlación que existe entre las plantas que se utilizan en el tratamiento de la diarrea y el dolor de estómago, destacando que son pocas las empleadas en el tratamiento de ambos padecimientos. En la familia Asteraceae, las especies *Brickellia veronicifolia* HBK, *Brickellia squarrosa* (cav.), *Conyza filaginoides* (DC.) y *Conyza schiedeana* (Less.), en la familia Caryophyllaceae, las especie *Drymaria laxiflora* Benth; en la familia Guttiferae la especie *Hypericum silenoides* Juss. Var. *silenoides*; en la familia Malvaceae la especie *Modiola caroliniana* (L.) G. Don, y por último, en la familia Onagraceae la especie *Lopezia racemosa* Cav. Ssp. *racemosa*.

**Tabla 2. Plantas medicinales del Estado de Hidalgo para el tratamiento del dolor de estómago y la diarrea (Pérez et al., 2003).**

| Familia       | Especie                             | Diarrea | Dolor de estómago |
|---------------|-------------------------------------|---------|-------------------|
| Amaranthaceae | <i>Alternanthera repens</i> (L.)    |         |                   |
|               | <i>Gomphrena decumbens</i> Jacq.    |         |                   |
| Anacardiaceae | <i>Schinus molle</i> L.             |         |                   |
| Asteraceae    | <i>Artemisa absinthium</i> L.       |         |                   |
|               | <i>Artemisa Klotzschiana</i>        |         |                   |
|               | <i>Artemisa ludoviciana</i> ssp.    |         |                   |
|               | <i>Brickellia veronicifolia</i> HBK |         |                   |
|               | <i>Brickellia squarrosa</i> (cav.)  |         |                   |
|               | <i>Chrysactina mexicana</i> Gray    |         |                   |
|               | <i>Conyza filaginoides</i> (DC.)    |         |                   |
|               | <i>Conyza schiedeana</i> (Less.)    |         |                   |
|               | <i>Cynara scolymus</i> L.           |         |                   |
|               | <i>Dyssodia papposa</i> (Vent.)     |         |                   |

|                 |  |  |  |
|-----------------|--|--|--|
|                 | <i>Eupatorium petiolare</i> Moc.                         |  |  |
|                 | <i>Eupatorium pycnocephalum</i> Less.                    |  |  |
|                 | <i>Lostephane heterophylla</i> (Cav.)                    |  |  |
|                 | <i>Matricaria chamomilla</i> L.                          |  |  |
|                 | <i>Montanoa tomentosa</i> Cerv.                          |  |  |
|                 | <i>Parthenium bipinnatifidum</i> (Ort.)                  |  |  |
|                 | <i>Parthenium hysterophorus</i> L.                       |  |  |
|                 | <i>Sanvitalia procumbens</i> Lam.                        |  |  |
|                 | <i>Sigesbeckia jorullensis</i> HBK.                      |  |  |
|                 | <i>Tagetes erecta</i> L.                                 |  |  |
|                 | <i>Tagetes filifolia</i> Lag.                            |  |  |
|                 | <i>Tagetes lucida</i> Cav.                               |  |  |
|                 | <i>Tagetes micrantha</i> Cav.                            |  |  |
|                 | <i>Tanacetum parthenium</i> (L.)                         |  |  |
|                 | <i>Zaluzania triloba</i> (Ort.)                          |  |  |
| Caryophyllaceae | <i>Arenaria lycopodioides</i> Wild.                      |  |  |
|                 | <i>Drymaria laxiflora</i> Benth.                         |  |  |
| Chenopodiaceae  | <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.                       |  |  |
| Cistaceae       | <i>Helianthemum glomeratum</i> Lag.                      |  |  |
| Combretaceae    | <i>Terminalia catappa</i> L.                             |  |  |
| Cruciferae      | <i>Lepidium virginicum</i> L.                            |  |  |
| Guttiferae      | <i>Hypericum silenoides</i> Juss. Var. <i>Silenoides</i> |  |  |
| Krameriaceae    | <i>Krameria cystoides</i> Cav.                           |  |  |
| Lamiaceae       | <i>Hedeoma drummondii</i> Benth.                         |  |  |
|                 | <i>Hedeoma piperitum</i> Benth.                          |  |  |
|                 | <i>Marrubium vulgare</i> L.                              |  |  |
|                 | <i>Mentha piperita</i> L.                                |  |  |
|                 | <i>Origanum mejorana</i> L.                              |  |  |
|                 | <i>Rosmarinus officinalis</i> L.                         |  |  |
|                 | <i>Thymus vulgaris</i> L.                                |  |  |
| Lauraceae       | <i>Persea americana</i> Miller                           |  |  |
|                 | <i>Persea americana</i> var. <i>Brymifolia</i>           |  |  |
| Leguminosae     | <i>Medicago polymorpha</i> var.                          |  |  |
|                 | <i>Pithecellobium dulce</i> (Roxb.)                      |  |  |
| Loganiaceae     | <i>Buddleia perfoliata</i> HBK.                          |  |  |
| Malvaceae       | <i>Modiola caroliniana</i> (L.) G. Don                   |  |  |
|                 | <i>Sphaeralcea angustifolia</i> (Cav.)                   |  |  |

|                  |   |  |  |
|------------------|---|--|--|
| Myrtaceae        | <i>Eugenia capuli</i> (Schl. et Cham)               |  |  |
|                  | <i>Pimenta dioica</i> (L.)                          |  |  |
|                  | <i>Psidium guajava</i> L.                           |  |  |
| Onagraceae       | <i>Lopezia racemosa</i> Cav. Ssp. <i>racemosa</i>   |  |  |
| Phytolaccaceae   | <i>Phytolacca icosandra</i> L.                      |  |  |
| Plantaginaceae   | <i>Plantago australis</i> Lam. ssp. <i>hirtella</i> |  |  |
|                  | <i>Plantago lanceolata</i> L.                       |  |  |
|                  | <i>Plantago linearis</i> Var. <i>mexicana</i>       |  |  |
|                  | <i>Plantago major</i> L.                            |  |  |
| Rutaceae         | <i>Ruta chalepensis</i> L.                          |  |  |
| Scrophulariaceae | <i>Silvia prostrata</i> Benth.                      |  |  |
| Umbelliferae     | <i>Coriandrum sativum</i> L.                        |  |  |
|                  | <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.                     |  |  |
| Verbenaceae      | <i>Aloysia triphylla</i> (L'Herit.) Britt.          |  |  |
|                  | <i>Lippia graveolens</i> HBK                        |  |  |

### 2.3. Generalidades de la familia *Onagraceae*

Es una familia constituida por 18 géneros y 640 especies, son abundantes en climas templados especialmente en Norteamérica y México, muchas crecen en lugares con sombra y algunas prefieren suelos secos, o condiciones árticas. Son plantas herbáceas, arbustos y ocasionalmente arboles, terrestres, subacuáticas y acuáticas, en algunos casos, epífitas. Entre los generos más importantes se encuentran: *Epilobium* con 200 especies, *Oenothera* con 200 especies, *Fuchsia* con 100 especies, *Jussiaea* con 40 especies, *Lopezia* con 14 especies, *Boisduvalia* con diez especies, *Gayophytum* con nueve especies, *Hauya* con ocho especies, *Clarkia* con siete especies y *Zauscheria* con cinco especies (Punt et al., 2003; Vázquez-Santana et al., 1991).

En el Estado de Hidalgo existen seis especies reportadas de la familia *Onagraceae*; en la tabla 3 se ejemplifican con su nombre común y usos, entre ellas *Lopezia racemosa* (Pérez-Escandón, 2003).

**Tabla 3. Especies de *Onagraceae* en el Estado de Hidalgo**

| Especie                    | Nombre común               | Usos                                |
|----------------------------|----------------------------|-------------------------------------|
| <i>Fucsia microphylla</i>  | Aretillo                   | Ornamental                          |
| <i>Gaura coccínea</i>      | Linda tarde                | Calentura, limpias y aire           |
| <i>Lopezia racemosa</i>    | Cabeza de hormiga, perilla | Cólico, diarrea y dolor de estómago |
| <i>Oenothera pubescens</i> | Cólica, reina de la noche  | Calentura                           |
| <i>Oenothera purpurea</i>  | Cólica                     | Calentura                           |
| <i>Oenothera rosea</i>     | Hierba del golpe           | Inflamación del estómago, diarrea   |

### 2.4. Generalidades de *Lopezia racemosa* Cav.Ssp.

Pertenece a la familia *Onagraceae*; es una hierba erecta ascendente anual, puede llegar a medir hasta 1.5 metros de alto aunque generalmente va de los 40 a 60 cm. Sus hojas comúnmente se encuentran en posición alterna y llegan a medir hasta 8 cm de largo y 4.5 cm de ancho, son puntiagudas. Sus flores se encuentran generalmente agrupadas y se forman de cuatro pétalos que pueden ser rosados, morados o anaranjados; son desiguales, los dos superiores son de 4 a 8.5 mm de largo y de 0.7 a 2 mm de ancho y los interiores miden de 3.5 a 10 mm de largo y entre 1.5 y 6 mm de ancho. Su fruto es esférico y mide de 2 a 7 mm de diámetro (Espinosa, 1997; Rzedowski, 2001). Esta especie se encuentra vegetativa de abril

a septiembre y florece de junio a noviembre; los nombres comunes con los que se reconoce son: alfilerillo, aretillo, papalotillo, perilla, zarcilla y cabeza de hormiga (Martínez, 1979).

Se distribuye en lugares tropicales, bosques de pino-encino, matorrales y pastizales. es una maleza común en parcelas de maíz y otros cultivos, crece también a orillas de los caminos; Se ha registrado la presencia de esta especie en Chiapas, Distrito Federal, Durango, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tlaxcala y Veracruz (Villaseñor, 1998).



**Figura 7. Imágenes de *Lopezia racemosa* Cav. Ssp. (CONABIO; 2011).**

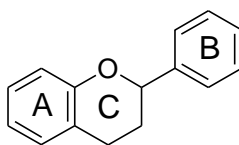


El uso más común en medicina tradicional es para aliviar el dolor de estómago, ascos, se recomienda para cólicos, estreñimiento, inflamación del estómago, para el riñón y se le refiere también como diurética es empleada en baños para después del parto, para dolores en cualquier parte del cuerpo; en casos de sarampión. En algunas partes se emplea para hacer buches cuando existen dolores de muelas y garganta o en forma de té para bajar la calentura o fiebre. Debido a que el flavonoide aislado de esta especie vegetal fue la apigenina, a continuación se hará una descripción general de los flavonoides así como de su actividad farmacológica (UNAM, 2009).

### **2.5. Flavonoides**

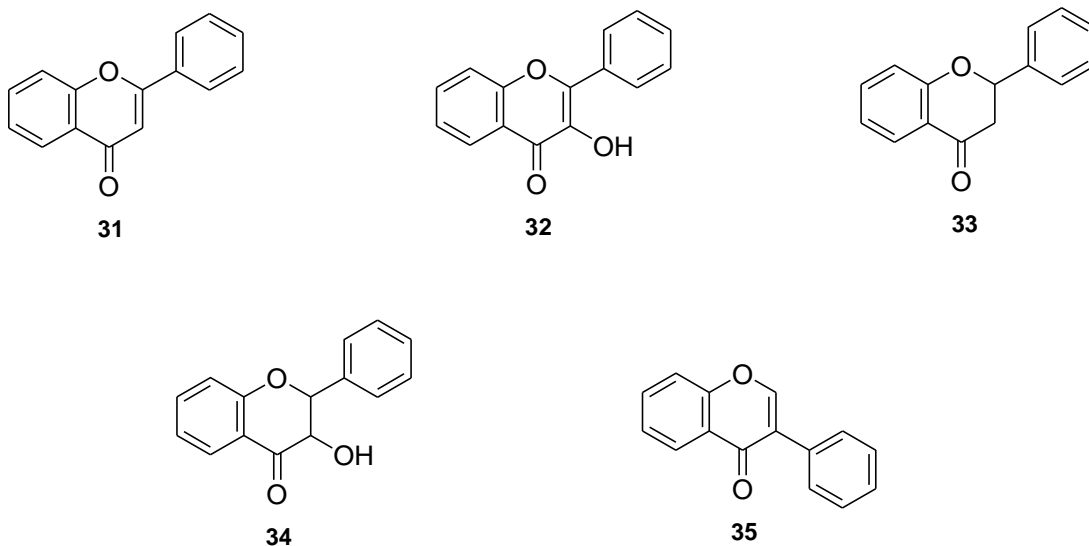
Los flavonoides constituyen la subclase de polifenoles más grande y abundante del mundo vegetal, son compuestos generalmente amarillos, que se encuentran casi en cualquier especie vegetal, en forma de glucósidos de diversos azúcares. Se han detectado aproximadamente unas 4,000 estructuras diferentes y principalmente se ubican en las hojas y en el exterior de las plantas (Iglesias-Neira, 2000; Primo-Yúfera, 1995).

En 1937, se les dio el nombre de vitamina P al ser descubiertos y es desde ese momento que debido a su amplia bioactividad, los flavonoides, han sido merecedores de investigación farmacológica; se han descrito propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antiagregantes, antihemorrágicas, vaso dilatadoras, antineoplásicas, antivirales, antibacterianas, antialérgicas y hepatoprotectoras (Álvarez-Castro et al., 2003; Vanaclocha et al., 2003).



**Figura 8. Estructura básica de los flavonoides.**

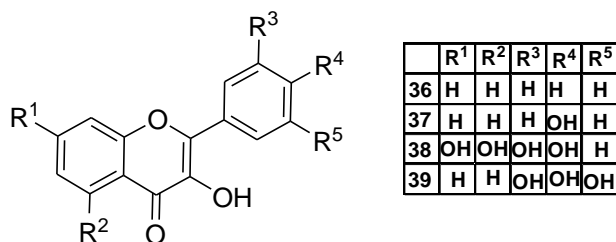
La estructura general de los flavonoides (figura 8) comprende un anillo A, un anillo B y un C formado por tres átomos de carbono, es por ello que se les conoce como unidades  $C_6-C_3-C_6$ . Pueden contener un anillo central heterocíclico, que son los más abundantes, o una cadena abierta (chalconas). Los grupos más comunes son las flavonas (**31**), flavonoles (**32**), flavanonas (**33**), flavanonoles (**34**) e isoflavonas (**35**) (figura 9) (Marcano et al., 2002; Iglesias-Neira, 2000).



**Figura 9. Algunos grupos de flavonoides.**

## 2.5.1. Actividad biológica de flavonoides

Dentro de las propiedades farmacológicas descritas para los flavonoides, encontramos su propiedad como antidiarreico y astringente; un ejemplo son la galangina (**36**), canferol (**37**), quercetina (**38**) y miricetina (**39**) presentes en *Comptonia peregrina* que ha sido utilizada en Europa Central como antidiarreico (Ferraro, 1983); a la quercetina (**38**) presente en la guayaba (*Psidium guajava*), se le atribuye acción antsecretora e inhibidora del peristaltismo (Lutterodt, 1989). Existen también estudios farmacológicos de la inhibición del tránsito intestinal para las hojas de guanábana (*Annona muricata*), que atribuyen su efecto a su contenido de compuestos fenólicos (taninos y flavonoides). En general la actividad antidiarreica de los flavonoides, está relacionada con el poder astringente de los polifenoles (Salinas et al., 2011).



**Figura 10. Ejemplos de flavonoides**

La capacidad de los flavonoides para modular la actividad de muchas enzimas se debe en parte a la presencia de grupos hidroxilo aromático, los cuales son relativamente reactivos y permiten la interacción de puentes de hidrógeno o uniones covalentes y la posibilidad de formar complejos con iones metálicos como

el cobre y el hierro. Una de las principales ventajas del estudio de los flavonoides desde el punto de vista farmacológico, es la uniformidad de la estructura química de toda la familia, permitiendo establecer una relación entre estructura y actividad; otra de las ventajas es la disponibilidad de los flavonoides y la relativa facilidad de su obtención (Álvarez-Castro et al., 2003).

### **2.6. Actividad biológica de apigenina (40)**

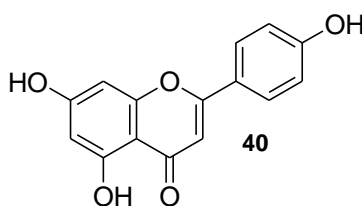
La apigenina (**40**), es una flavona que se encuentra en frutas y vegetales así como en el vino y especias populares como orégano, albahaca, cilantro y perejil; se le ha dado importancia a este flavonoide, tanto en la medicina tradicional como en la alternativa debido a sus beneficios en la salud (Yasir-Hasan et al., 2008).

Se ha demostrado que presenta actividad antiinflamatoria en el tratamiento de la inflamación derivada de la colitis, debido a que reduce los niveles de Mieloperoxidasa (MPA) en un 61.7% y de Malondialdehído (MDA) en un 22.14%, que el ser comparado con prednisolona fue similar (61.4% y 22.14%), ambos en la misma dosis de 5 mg/kg; por otro lado, tiene actividad antioxidante ya que actúa en la eliminación de radicales libres de oxígeno (ROS); también es útil para el tratamiento del envejecimiento de la piel provocada por la irradiación de metaloproteinasas (Ganjare et al., 2011). Se ha demostrado que la apigenina (**40**) ejerce actividad sobre las células endoteliales disfuncionales a dosis de 5 $\mu$ M al evaluarlo sobre la línea celular ISO-HAS, por lo cual se cree que es útil en el tratamiento de diabetes (Yamagata et al., 2011).

Se han realizado estudios evaluando el efecto antinociceptivo de las hojas de *Orbignya speciosa* Mart. (Babassu), los cuales han evidenciado la acción

antinociceptiva de apigenina (**40**) mediante los modelo de Writhing y hot plate a dosis de 1 mg/Kg (Punheiro, M.M., et al., 2012).

En un estudio reciente sobre la aplicación de apigenina (**40**) en la inhibición del crecimiento de varios tipos de cáncer, se demostró que ejerce una importante protección sobre el daño en el ADN; (Silvan et al., 2010); otra de sus propiedades es su capacidad foto protectora sobre la radiación UV, atenuando sus efectos tóxicos y actuando como filtro (Hwang et al., 2011).



**Figura 11. Apigenina**

Por otro lado conoceremos las características estructurales y electrónicas de una molécula biológicamente activa, permite comprender sus mecanismos de acción y es mediante el empleo de conceptos de química teórica que podemos calcular sus propiedades electrónicas.

### 2.7. Funciones Fukui

La función Fukui se describe por la siguiente ecuación:

$$F(r) = \left[ \frac{\delta \mu}{\delta v(r)} \right]_N = \left[ \frac{\partial p(r)}{\partial N} \right]_v$$

Donde  $N$  es el número de electrones,  $u(r)$  es el potencial actuando en un electrón debido a todo el núcleo,  $\mu$  es el potencial químico y  $\tilde{n}$  es la densidad electrónica.

Dependiendo del tipo de transferencia electrónica, existirán tres tipos diferentes de funciones Fukui:

$$f^+(r) = P_{N+1}(r) - P_N(r) \text{ Para ataque nucleofílico}$$

$$f^-(r) = P_N(r) - P_{N-1}(r) \text{ Para ataque electrofílico}$$

$$f^0(r) = [P_{N+1}(r) - P_{N-1}(r)]/2 \text{ Para ataque radicalario}$$

Yang y Mortier proporcionaron un método simple para calcular las funciones de Fukui condensadas; la condensación sobre sitios específicos en la molécula produce los índices Fukui:

$$f_x^- = [q_x(N) - q_x(N - 1)]$$

$$f_x^+ = [q_x(N + 1) - q_x(N)]$$

$$f_x^0 = \left[ \frac{f_x^- + f_x^+}{2} \right] = \left[ \frac{q_x(N + 1) - q_x(N - 1)}{2} \right]$$

Donde  $q_x$  se refiere a la carga de un átomo "x" en la molécula.

La función  $f_x^+$  está asociada con el orbital molecular de más baja energía desocupado (LUMO) y mide la reactividad hacia un reactivo donador; la función  $f_x^-$  está asociada con el orbital molecular de más alta energía (HOMO) y mide la

reactividad hacia un reactivo aceptor, y el promedio de ambos  $f_{x0}$  mide la reactividad hacia un radical.

Los cálculos teóricos se realizaron utilizando el paquete computacional Spartan02 para el análisis conformacional de apigenina. Posteriormente se utilizó el software Gaussian para optimizar las moléculas (Montes, N. and Hormaza, A., 2008).

Para la predicción de la reactividad, así como para el diseño de estrategias sintéticas, es fundamental conocer los sitios más reactivos de un sistema molecular y para esto es útil conocer los índices locales de reactividad Fukui. Las funciones Fukui se emplean para calcular el índice de reactividad de las moléculas y con ello elucidar los llamados sitios reactivos, es decir, los lugares de las moléculas que interactúan más rápido con alguna sustancia; por tanto, el conocimiento de los sitios activos de un compuesto químico sirve para explicar y predecir los lugares más reactivos de este al entrar en contacto con algún otro compuesto (Popa, V., 2007). Este trabajo presenta un estudio inicial sobre los sitios reactivos de apigenina, dando oportunidad a que en un futuro con un estudio más profundo, pueda analizarse la molécula para determinar su efectividad frente al tratamiento de determinadas enfermedades.

### III. JUSTIFICACIÓN

La riqueza florística mexicana está ubicada en cuarto lugar a nivel mundial por lo que es considerado uno de los países con recursos naturales más importantes del mundo; sin embargo, el porcentaje de especies estudiadas química y biológicamente es relativamente bajo, por lo cual las plantas medicinales en México son un potencial importante como fuente de nuevos principios activos. A través de esta investigación, se pretende contribuir al conocimiento científico de plantas medicinales empleadas tradicionalmente en nuestro país.

Hasta nuestro conocimiento, no se han reportado o publicado estudios químicos o farmacológicos de *Lopezia racemosa*, lo cual la convierte en una especie interesante para iniciar su estudio orientado a la búsqueda de compuestos con actividad antidiarreica y analgésica, usos que se le ha dado tradicionalmente a esta planta en el estado de Hidalgo.



### IV. HIPÓTESIS

*Lopezia racemosa* es empleada tradicionalmente para el tratamiento de la diarrea y del dolor de estomago en el estado de Hidalgo, por lo que el estudio farmacológico del extracto etanólico de las partes aéreas, permitirá observar si esta planta tiene efectos antidiarreicos y analgésicos en modelos animales.

### V. OBJETIVOS

#### 5.1. Objetivo General

Determinar la actividad antidiarreica y analgésica del extracto etanólico de las partes aéreas de *Lopezia racemosa* mediante los modelos de motilidad gastrointestinal, Tail-flick y Writhing.

#### 5.2. Objetivos particulares

5.2.1. Determinar la actividad antidiarreica del extracto etanólico de las partes aéreas de *L. racemosa* mediante el modelo de motilidad gastrointestinal.

5.2.2. Determinar la actividad analgésica del extracto etanólico de las partes aéreas de *L. racemosa* mediante los modelos de Tail-flick y Writhing.

5.2.3. Purificar mediante técnicas cromatográficas los compuestos presentes en el extracto etanólico.

5.2.4. Elucidar la estructura química de los compuestos aislados mediante análisis espectroscópicos.

5.2.5. Realizar análisis computacional del compuesto aislado.

## VI. METODOLOGÍA

### 6.1. Materiales utilizados

La separación cromatográfica se llevó a cabo empleando como soporte gel de sílice (60 Merk, malla 70-230 ASTM) en columna de vidrio de 5, 3.5 y 1 cm de diámetro interno por 40 y 60 cm de largo. Para la cromatografía en capa fina analítica y preparativa, se emplearon placas de aluminio y vidrio (cromatofolios Merck Alugram sil G/UV F234), y como disolventes  $\text{CHCl}_3$ , MeOH, hexano, acetona, EtOH y agua.

Como agentes cromógenos se utilizaron sulfato cérico, ácido sulfúrico al 1% en EtOH, cloruro férrico y vainillina. Los espectros de RMN  $^1\text{H}$  a 400 MHz, se determinaron en un equipo VARIAN 400, usando como disolvente  $\text{MeOH-}d_4$  teniendo como referencia TMS.

### 6.2. Obtención e identificación del material vegetal

El material vegetal de *Lopezia racemosa* (500 g) fue adquirido en el Mercado de Sonora de la Ciudad de México en agosto del 2009. Parte del material fue empleado en la obtención del ejemplar herbario, el cual se depositó como referencia en el herbario del IMSS-México. La identificación se está llevando a cabo por la Dra. Abigail Aguilar Contreras.

### 6.3. Obtención del extracto etanólico de las partes aéreas

El material vegetal se dejó secar durante 10 días; una vez seca la muestra (500 g), se separó en las partes aéreas, se realizó su limpieza y molienda. Posteriormente, se maceró con etanol (500 mL) a temperatura ambiente durante una semana (el

procedimiento se realizó por triplicado), el filtrado se evaporó a sequedad, bajo presión reducida hasta la obtención del extracto etanólico de partes aéreas (Figura 12), cuyo peso fue de 150 g, lo cual representa un rendimiento del 30%.



**Figura 12. Obtención del extracto etanólico de las partes aéreas**

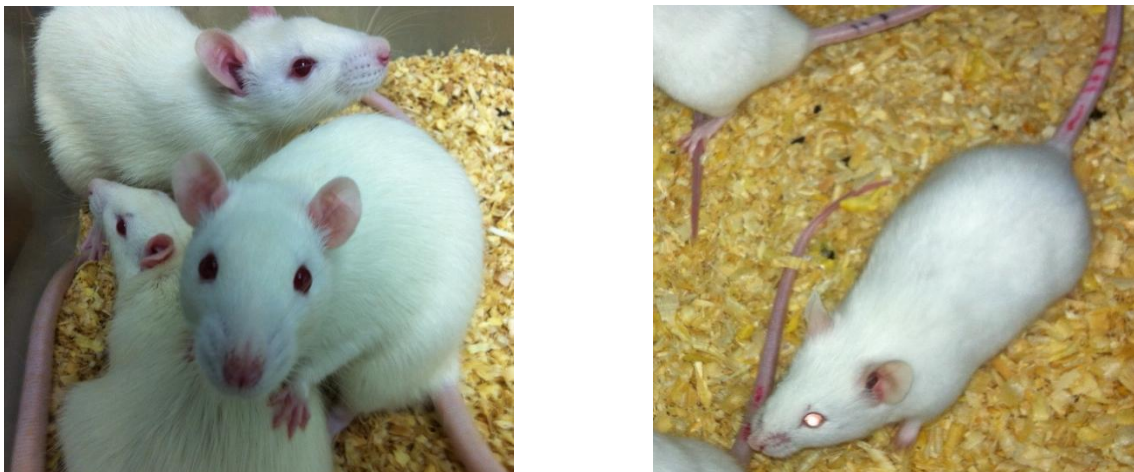
### **6.4. Modelos farmacológicos**

#### **6.4.1. Animales utilizados**

Las pruebas fueron realizadas utilizando animales experimentales, de acuerdo a las “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio” por La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación”; publicada en el Diario Oficial del Gobierno Mexicano el 28 de junio de 2001, La Norma Mexicana NOM-062-ZOO-1999; cada animal se utilizó sólo una vez y se sacrificó en una cámara saturada con CO<sub>2</sub> al final del experimento (SAGARPA, 2001).

Se emplearon ratas Wistar albinas hembras con pesos entre 100 a 150 g y ratones hembra de la cepa CD-1 con pesos entre 30 a 35 g, obtenidos en el bioterio de la

UAEH (Figura 13), los cuales se mantuvieron en condiciones normales de temperatura y humedad y fueron alimentadas con dieta estándar y agua. Previo a los experimentos, se mantuvieron en ayuno de 18 h con acceso libre de agua.

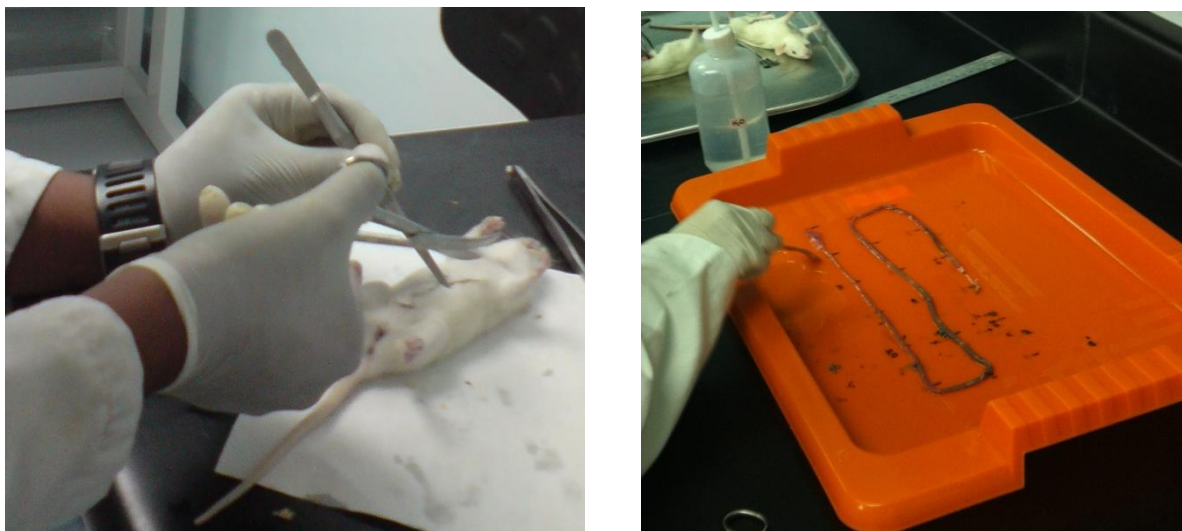


**Figura 13. Animales utilizados**

### **6.4.2. Modelo de motilidad gastrointestinal**

Las ratas fueron pesadas y marcadas; se distribuyeron en seis grupos de cinco ratas cada uno. Fueron administradas por vía intragástrica, al control positivo se le administró loperamida (**10**) (2.5 mg/Kg), el control negativo recibió 1 mL al 1.0% de Tween 80 en agua. El extracto etanólico fue administrado por la misma vía en dosis de 150, 300 y 600 mg/Kg respectivamente. Una hora después, se administró la solución de marcaje (carbón activado en goma arábica al 1%) e inmediatamente después, 1 mL de aceite de Ricino. Pasados 60 minutos, los animales fueron sacrificados para remover su tracto intestinal, midiendo la distancia recorrida por el carbón activado. Los resultados se expresan como un porcentaje de la longitud

total desde el píloro al ciego (Figura 14) (Pérez et al., 2005; Agbor et al., 2004; Tangpu y Yadav, 2004).



**Figura 14. Modelo de motilidad gastrointestinal**

### **6.4.3. Modelo de Tail-flick**

Las ratas, fueron pesadas, marcadas y se dividieron en cinco grupos de cinco ratas cada uno. Se administró el extracto etanólico a dosis de 150, 300 y 600 mg/Kg. Al control positivo se le administró paracetamol (**14**) a 250 mg/Kg y al control negativo se le administró Tween 80 al 1.0% en agua, todos por vía intragástrica. Transcurridos 60 minutos de la administración, se procedió a sumergir la cola de las ratas en agua caliente (50 °C), se midió el tiempo en segundos mediante un cronómetro cuando se observaba un movimiento vigoroso de la cola (Figura 15) (Morón-Rodríguez et al., 2008).



**Figura 15. Modelo de Tail-flick**

#### **6.4.4. Modelo de Writhing**

Los ratones, fueron pesados, marcados y se dividieron en cinco grupos de cinco ratones cada uno. Previo al estudio se mantuvieron 18 h en ayuno. Se administró el extracto etanólico a dosis de 150, 300 y 600 mg/Kg. Se utilizaron como controles positivos ácido acetilsalicílico (ASA) (**22**) a dosis de 200 mg/kg y diclofenaco (DCF) (**21**) a dosis de 10 mg/kg, al control negativo se le administró Tween 80 al 1.0% en agua, todos por vía intragástrica. Transcurridos 30 min, todos los grupos fueron administrado por vía intraperitoneal (i.p.) con una solución de ácido acético al 0.6%, a una dosis de 0.1 mL por cada 10 g de peso corporal, se consideró un tiempo de latencia de 5 min y se cuantificó el número de contracciones o estiramientos inducidos por el ácido acético en periodo de 5 min durante 30 min (Figura 16) (Gómez-Parra et al., 1999).



**Figura 16. Modelo de Writhing**

### 6.5. Análisis estadístico

Todos los resultados están expresados como el promedio de  $5 \pm$  el error estándar de la media; el nivel de significancia fue evaluado la prueba de t de Student con valores de  $p$  menores de 0.05 mediante SigmaStat 4.0.

### 6.6. Aislamiento y purificación

#### 6.6.1. Purificación de apigenina

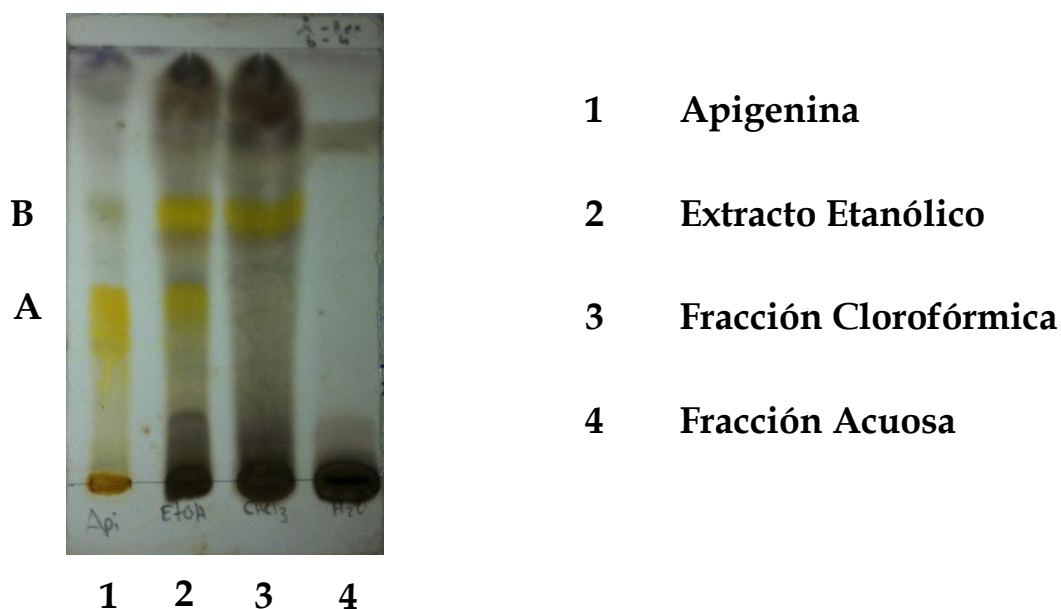
El extracto etanólico (10 g) se sometió a partición, con  $\text{CHCl}_3$  (100 mL X 3), seguido por AcOEt (100 mL X 3) para obtener la fracción clorofórmica (39.4%), acetato de etilo (16.4%) y la acuosa (27.7%) (Esquema 1), las cuales se analizaron mediante cromatografía en capa fina sobre placa de gel sílice 60 HF<sub>254</sub>. Se realizó una placa de apigenina (**40**), del extracto etanólico, de la fracción clorofórmica, y acuosa, utilizando un sistema de elución de Acetona:Hexano (6:4)



(Figura 17), con esta técnica se identificaron cualitativamente algunos grupos de compuestos de extracto etanólico aplicando como agente cromógeno sulfato sérico amoniaco.

En la fila A se observa que la apigenina se encuentra presente en la fracción de acetato de etilo y por consiguiente en el extracto etanólico ya que se encuentra un compuesto amarillo típico de los flavonoides (Wanger y Bladt, 1996) y por esta razón se decidió continuar con el estudio químico correspondiente a esta fracción.

En las fracciones clorofórmica y acuosa no se observa la apigenina (40), sin embargo en la fracción clorofórmica se observa otro compuesto en la fila B, el espectro de la fracción clorofórmica muestra señales diferentes a la apigenina (Figura 17).



**Figura 17. Cromatografía en capa fina de apigenina, extracto etanólico, fracciones, fracción clorofórmica y acuosa**

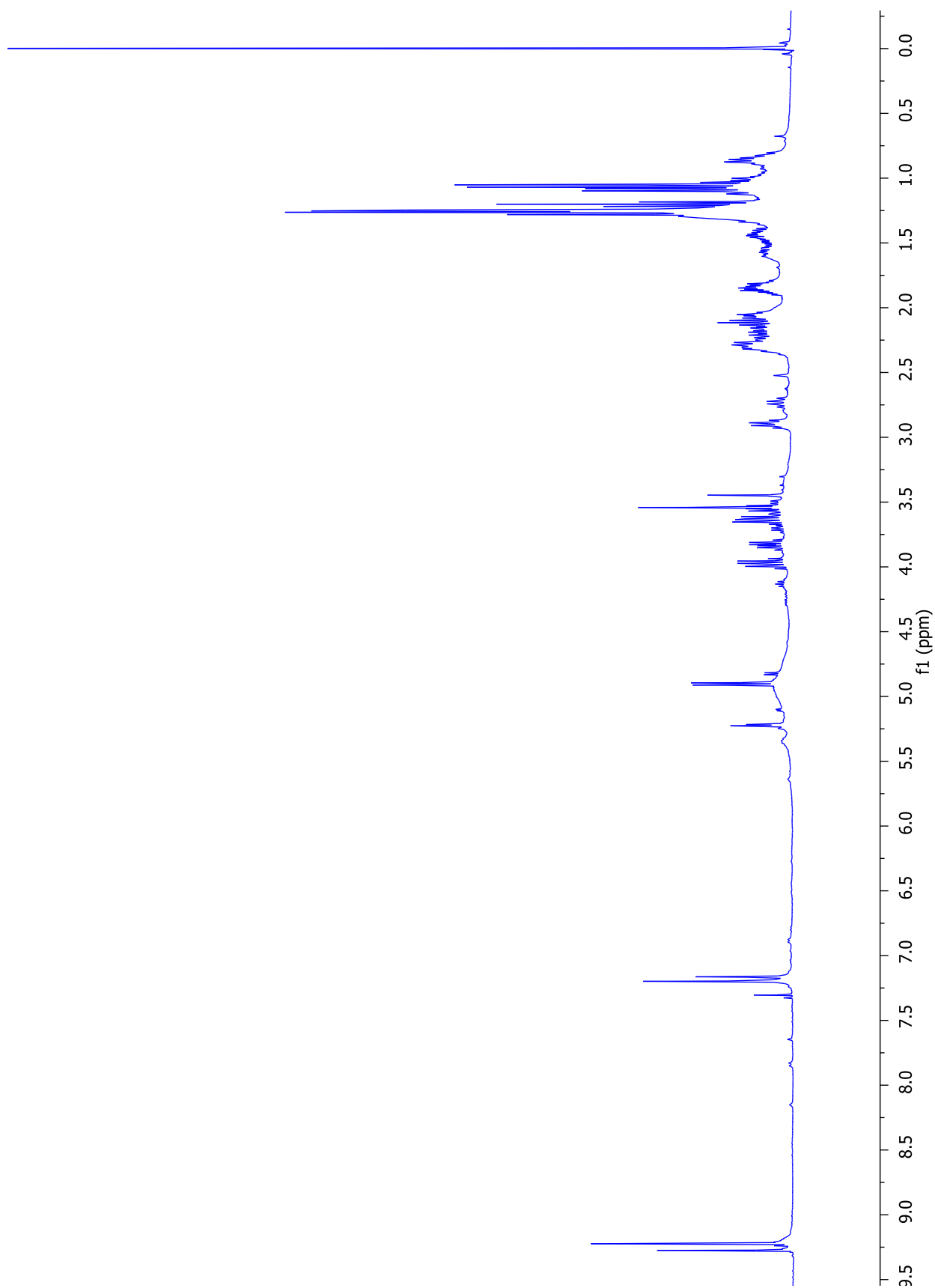
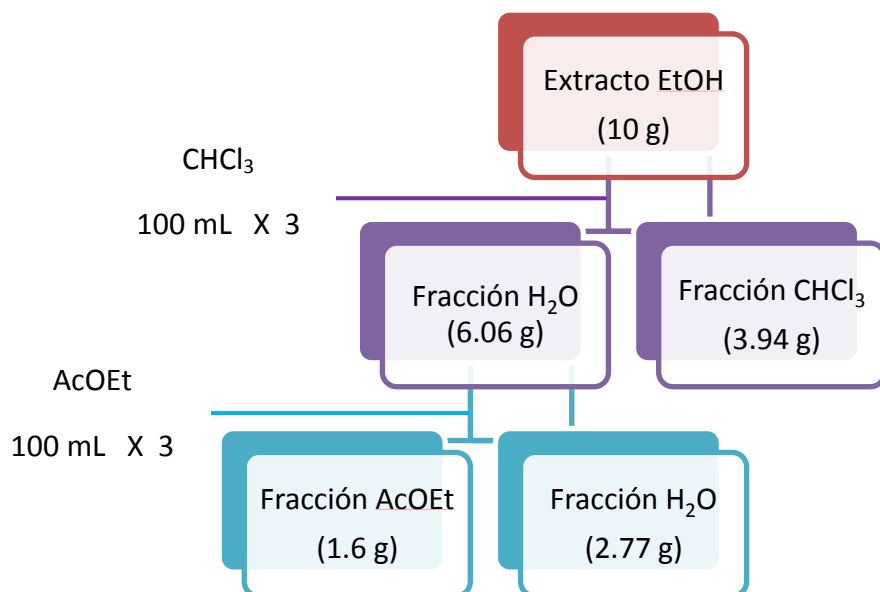


Figura 18. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) en  $\text{CDCl}_3$  de la fracción clorofórmica

**Esquema 1. Fraccionamiento por partición de extracto etanólico**



La fracción de AcOEt (1.64 g) se sometió a un proceso de purificación mediante cromatografía en columna abierta, empleando como eluyente mezclas de  $\text{CHCl}_3$ -AcOEt-MeOH con incremento de polaridad. Se obtuvieron 41 fracciones de 34 mL cada una, las cuales, de acuerdo a sus características cromatográficas, se agruparon para obtener 9 fracciones secundarias ( $F_1$ - $F_9$ ).

La fracción  $F_4$  (92.5 mg) se evaluó mediante cromatografía de capa fina utilizando como agente cromógeno, sulfato cérico; con base en lo cual se sometió a un segundo fraccionamiento en columna abierta, eluyendo con mezclas de  $\text{CHCl}_3$ /AcOEt y AcOEt/MeOH. Se obtuvieron 41 fracciones de 5 mL, las cuales se agruparon de acuerdo a su similitud cromatográfica, resultando seis fracciones secundarias con los pesos que se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Fraccionamiento secundario de F<sub>4</sub>

| Fracción secundaria | Peso (mg) |
|---------------------|-----------|
| F <sub>1</sub>      | 8.0       |
| F <sub>2</sub>      | 4.6       |
| F <sub>3</sub>      | 25.0      |
| F <sub>4</sub>      | 11.0      |
| F <sub>5</sub>      | 8.7       |
| F <sub>6</sub>      | 3.0       |

La fracción F<sub>3</sub> (25 mg) se purificó mediante cromatografía en capa fina preparativa, utilizando un sistema de elución acetona:CHCl<sub>3</sub> (6:4), lo cual condujo al aislamiento de apigenina (**40**) (8.2 mg).

Una vez aislada la apigenina (**40**) se analizó su estructura para determinar sus sitios reactivos mediante el empleo de métodos teóricos.

## 6.7. Análisis estructural

### 6.7.1. Determinación de sitios reactivos de apigenina (**40**) (Spartan 02 y Gauss View 3.09)

- \* Se construyó la molécula del apigenina (**40**) con la ayuda de la interface Gráfica del programa Spartan02. Después se realizó la búsqueda conformacional, utilizando un método de Mecánica Molecular el cual es MMFF ya que es adecuado para las moléculas orgánicas.

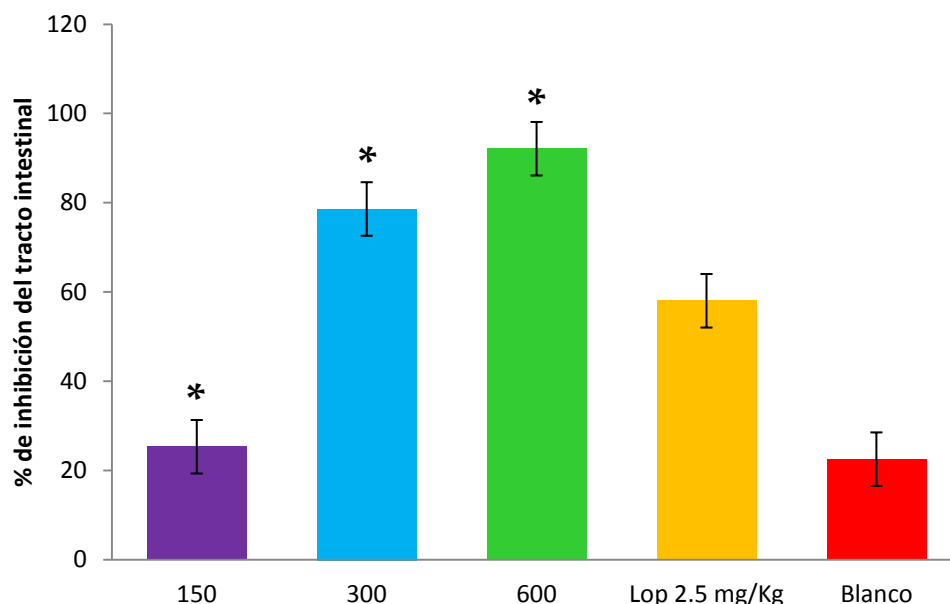
- \* Una vez que se obtuvo el confórmero de mínima energía, se optimizó la geometría del apigenina (**40**) utilizando un modelo de Hartree-Fock con una base de 6-31G.
- \* Se construyeron los gráficos HOMO y LUMO, así como los mapas de potencial electrostático sobre una isosuperficie de densidad a un valor 0.002 e u.a.<sup>-3</sup>.
- \* Con la ayuda del programa Gauss View 3.09 se realizó la calibración teórica para seleccionar el método de cálculo adecuado para la molécula estudiada y se fue variando la base (3-21G, 6-31G y 6-311G), se ocupó la base 6-31g que presenta resultados similares a la 6-311 G.
- \* Una vez obtenido el método y base adecuada se inició el cálculo de la molécula en su forma catiónica, aniónica y neutra para posteriores cálculos de las funciones Fukui.

### VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 7.1. Modelos farmacológicos

##### 7.1.1. Modelo de motilidad gastrointestinal

En la gráfica 5 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación biológica del extracto etanólico de las partes aéreas de *Lopezia racemosa* a diferentes dosis (150, 300 y 600 mg/Kg), en esta se observa una actividad mayor comparada con el fármaco control, para las dosis de 300 mg/Kg (78.57%) y para la dosis de 600 mg/Kg (92.08%), lo cual evidencia la existencia de su actividad antidiarreica y a su vez presenta un comportamiento dosis dependiente, ya que aumenta la inhibición del tránsito intestinal al aumentar la dosis del extracto.



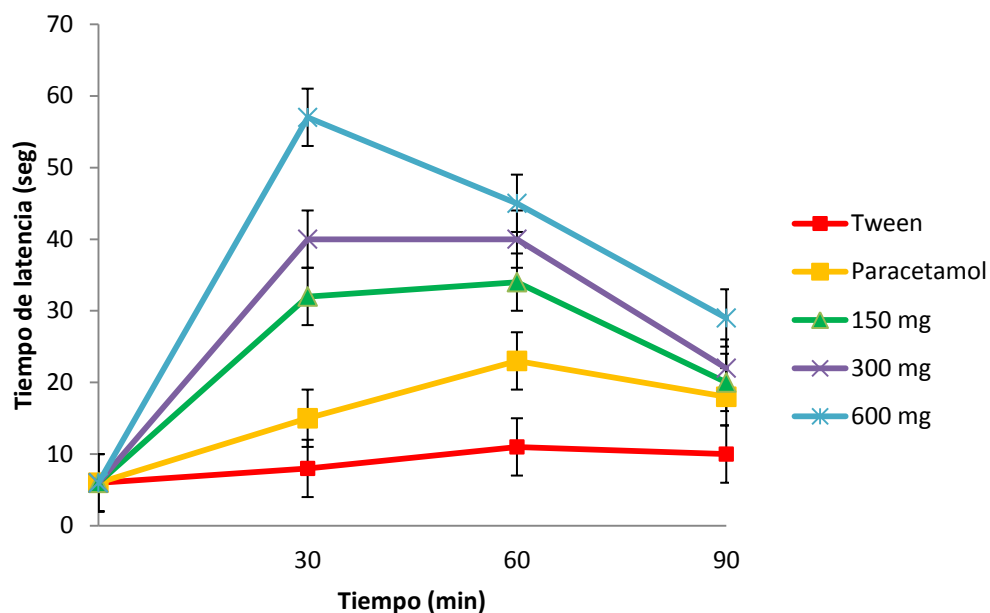
Se graficaron la media de los datos  $\pm$  desviación estándar.  $n=5$ . 150 = Dosis de 150 mg/Kg, 300 = dosis de 300 mg/Kg, 600 = dosis de 600 mg/Kg, Lop 2.5 = loperamida a dosis de 2.5 mg/Kg y bco = blanco. Se observa significancia estadística con el control.

**Gráfica 5. Porcentaje de inhibición del tránsito intestinal de *Lopezia racemosa*.**

El extracto etanólico de *Lopezia racemosa* disminuye el tránsito intestinal en una relación dosis dependiente como se observa en la gráfica 5; con esto se justifica el uso que tradicionalmente se hace de *Lopezia racemosa* como antidiarreico. Es importante resaltar que existen diversos agentes causales de diarrea, entre estos la diarrea causada por agentes infecciosos, mecanismo en el cual no sería recomendable el empleo de esta especie vegetal ya que al disminuir el tránsito intestinal, agravaría el daño en el paciente. Se ha reportado que los flavonoides inhiben la motilidad intestinal así como la secreción causada por aceite de ricino, prostaglandina E2 o picosulfato de sodio, al mismo tiempo que presentan actividad analgésica (Di Carlo, *et al.*, 1993).

### **7.1.2. Modelo de Tail-flick**

En la gráfica 6 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación analgésica del extracto etanólico de las partes aéreas en el modelo de Tail-flick, empleando diferentes dosis (150, 300 y 600 mg/Kg); se observa una mayor actividad analgésica que el paracetamol en las tres dosis evaluadas, lo cual proporciona una evidencia de su actividad analgésica; también se observa que el extracto presenta una relación dosis dependiente ya que al aumentar la cantidad de extracto aumenta el periodo de latencia.



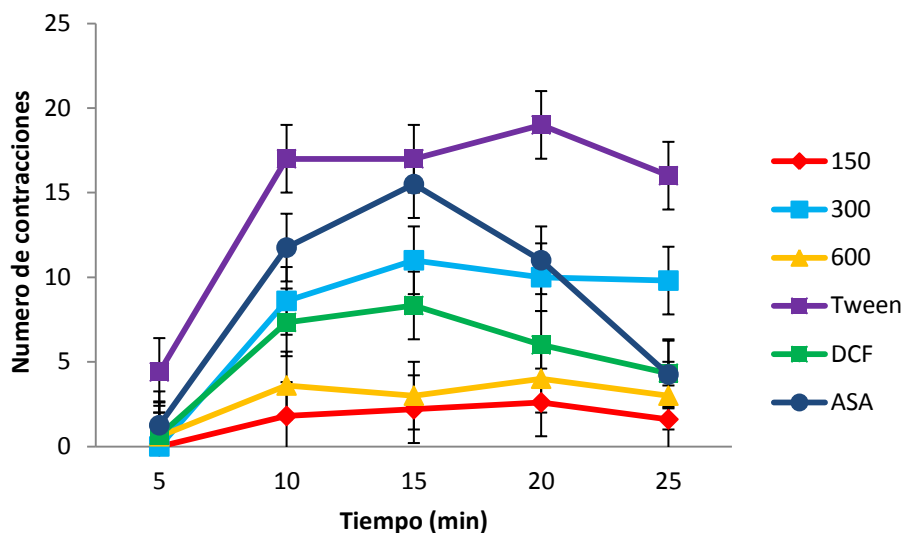
Se graficaron la media de los datos  $\pm$  desviación estándar.  $n=5$ . Curso temporal durante 90 minutos del efecto antinociceptivo del extracto etanólico de *Lopezia racemosa*, a dosis de 150, 300 y 600 mg/Kg, comparado con los grupos control (+) paracetamol a dosis de 10 mg/Kg y control (-) vehículo-Tween 80. Se observa significancia estadística con el control.

**Gráfica 6. Actividad analgésica de *Lopezia racemosa* para el modelo de Tail-Flick.**

## 7.1.3. Modelo de Writhing

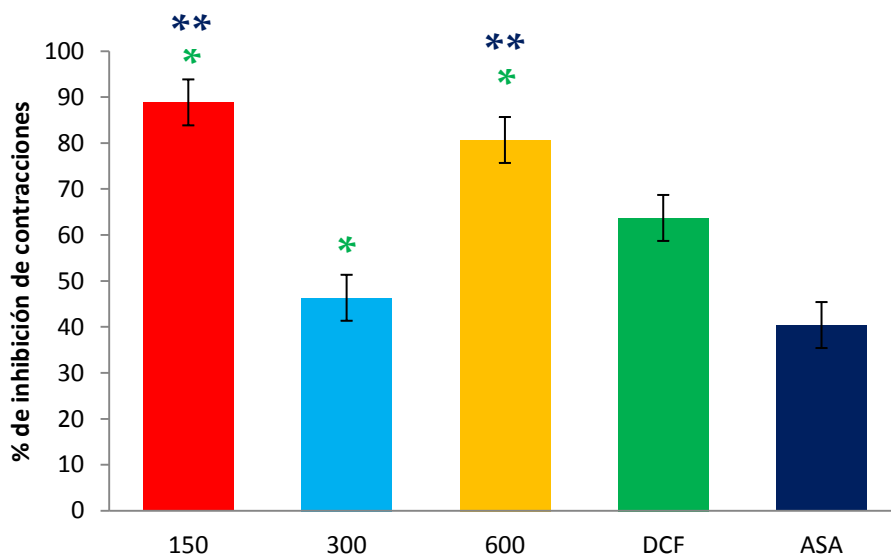
En la gráfica 7 y 8 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación biológica del extracto etanólico de las partes aéreas de *L. racemosa* a diferentes dosis (150, 300 y 600 mg/Kg); se observó un comportamiento de hormesis, ya que a la dosis de 300 mg/kg (46.32%) disminuyó la actividad antinociceptiva, presentaron mayor actividad las dosis de 150 mg/kg (88.83%) y 600 mg/kg (80.65 %), que los fármacos control, ácido acetilsalicílico (ASA) (22) 200 mg/kg (40.39%) y Diclofenaco (DCF) (21) 10 mg/kg (40.39%), lo cual evidencia la existencia de su actividad analgésica.





Se graficaron la media de los datos  $\pm$  desviación estándar.  $n=5$ . Curso temporal durante 25 minutos del efecto antinociceptivo del extracto etanólico de *Lopezia racemosa*, a dosis de 150, 300 y 600 mg/Kg, en el modelo de dolor visceral inducido por ácido acético al 0.6 %, comparado con los grupos control (-) Veh-Tween y control (+) diclofenaco (DCF) a dosis de 10 mg/Kg y ácido acetilsalicílico (ASA) a dosis de 200 mg/kg. Se observa significancia estadística con los controles.

**Gráfica 7. Actividad analgésica de *Lopezia racemosa* para el modelo de Writhing**



Se graficaron la media de los datos  $\pm$  desviación estándar.  $n=5$ . 150 = Dosis de 150 mg/Kg, 300 = dosis de 300 mg/Kg, 600 = dosis de 600 mg/Kg, DCF = diclofenaco a dosis de 10 mg/Kg, ASA= ácido acetilsalicílico a dosis de 200 mg/kg. Se observa significancia estadística con los controles.

**Gráfica 8. Porcentaje de inhibición de contracciones abdominales en el modelo de Writhing.**

Existen estudios, que demuestran que los taninos y los flavonoides pueden ser responsables de la actividad analgésica de algunas plantas medicinales (Di Carlo, *et al.*, 1993). El interés en el desarrollo de nuevos fármacos antiinflamatorios a partir de flavonoides, radica en su alto margen de seguridad y en la ausencia de efectos ulcerologénicos. Además los analgésicos no esteroideos presentan propiedades antiinflamatorias y analgésicas (Martino, 2000).

La enzima ciclooxigenasa (COX) es la responsable de la conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas; las prostaglandinas son mediadoras importantes en los procesos de inflamación, protección gastrointestinal, nocicepción y cáncer. El mecanismo de acción común de los antiinflamatorios es la inhibición de la COX que tiene como consecuencia la inhibición en la formación de prostaglandinas. Se han determinado mediante ensayos *in vitro* la inhibición de la COX, por inmunoensayos en placas de 96 pozos, para flavonoides comparados con indometacina y mostrando un efecto dosis dependiente en el rango de 4 a 150  $\mu\text{M}$  (Alberto, *et al.*; 2007).

Se han demostrado otras propiedades que puede presentar la apigenina (**40**) tal es el caso de los extractos acuosos de *Matricaria recutita* donde se aisló apigenina (**40**) y demostró un claro efecto ansiolítico en ratones sin producir sedación ni actividad relajante muscular, ni actividad anticonvulsiva en el modelo de agresión inducida por aislamiento a dosis de 0.5, 1 y 1.5 mg/Kg de midazolam (Martino, 2000); por otro lado se ha demostrado la actividad antiinflamatoria y anticancerígena (Liu *et al.*, 2011).

Los resultados demostraron que el extracto etanólico de *L. racemosa* disminuye el tránsito intestinal, lo cual disminuye la diarrea, también presentó una actividad antinociceptiva, posiblemente por el sinergismo que presentan entre los posibles compuestos que constituyen la planta. El estudio fitoquímico de la fracción de acetato de etilo, permitió el aislamiento del compuesto de tipo flavonoide denominado apigenina (**40**), a continuación se describe la elucidación estructural del compuesto.

### 7.2. Elucidación de la estructura de apigenina (**40**) mediante RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) en $\text{MeOH-}d_4$

El compuesto se aisló como un sólido amarillo soluble en metanol. En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) en  $\text{MeOH-}d_4$  (Figura 19) se observó una señal simple en 6.54 ppm correspondiente al H-3 del anillo C. Se observó un sistema  $A_2B_2$  en 7.82 ppm (2H, d,  $J = 8.9$  Hz) para los hidrógenos 2' y 6', y en 6.90 ppm (2H, d,  $J = 8.9$  Hz) para los protones 3' y 5', con lo cual se confirmó la sustitución del anillo B en la posición H-4'. Los hidrógenos 6 y 8 correspondientes al anillo A aparecieron como señales dobles a 6.15 ppm ( $J = 2$  Hz) y 6.39 ( $J = 2.1$  Hz), con esto se confirmó la doble sustitución del anillo en las posiciones 5 y 7.

La tabla 5 muestra los valores obtenidos de RMN  $^1\text{H}$  a 400 MHz en  $\text{MeOH-}d_4$ , así como los valores de la literatura, lo cual apoyó la propuesta de la estructura de la sustancia.

**Tabla 5. Desplazamiento de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) para apigenina (40) en  $\text{MeOH-}d_4$**

| Posición | $\delta$ , m (J) | Referencia <sup>1</sup> |
|----------|------------------|-------------------------|
| 3        | 6.54 s           | 6.76, s                 |
| 6        | 6.15, d (2)      | 6.25, d (2)             |
| 8        | 6.39, d (2.1)    | 6.52, d (2)             |
| 2'/6'    | 7.82, d (8.9)    | 7.94, d (8.9)           |
| 3'/5'    | 6.9, d (8.9)     | 6.98, d (8.9)           |

<sup>1</sup>Markham y Geiger, 1993.

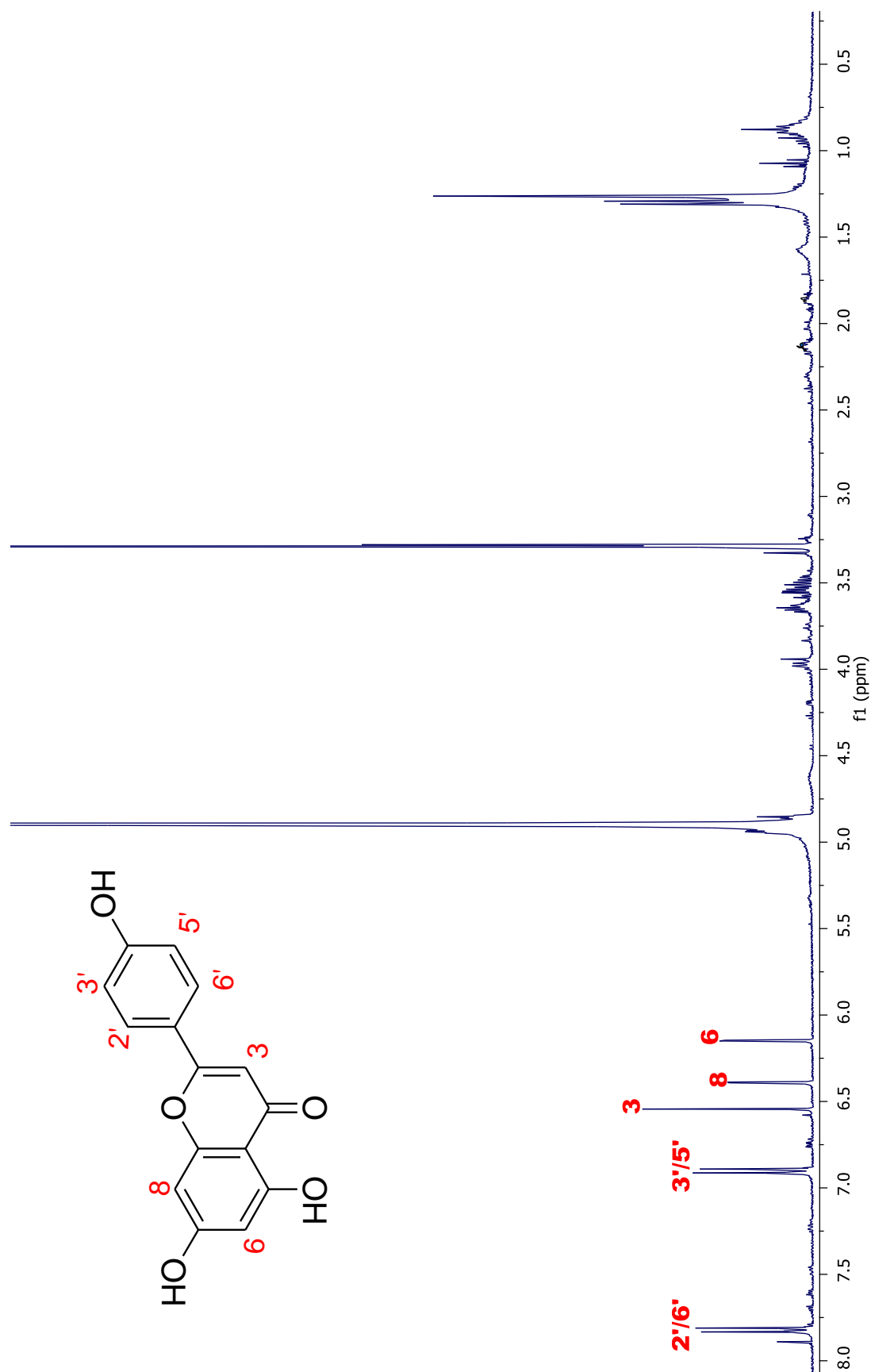


Figura 19. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) de apigenina (40) en  $\text{MeOH-}d_4$

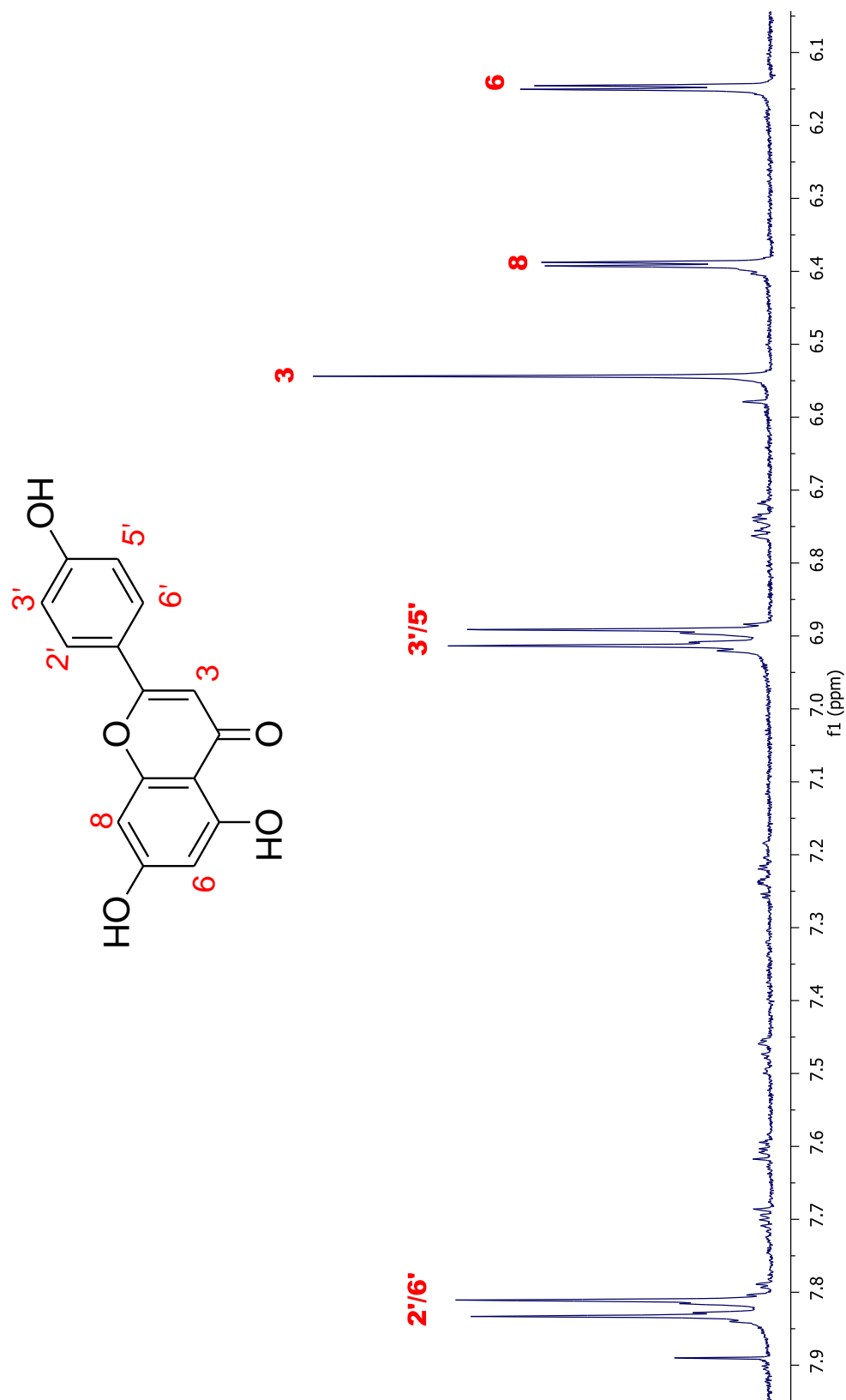
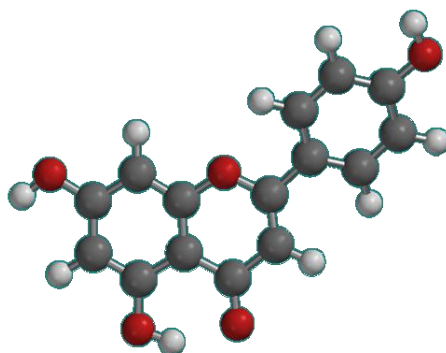


Figura 20. Expansión del espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) de apigenina (40) en  $\text{MeOH-d}_4$

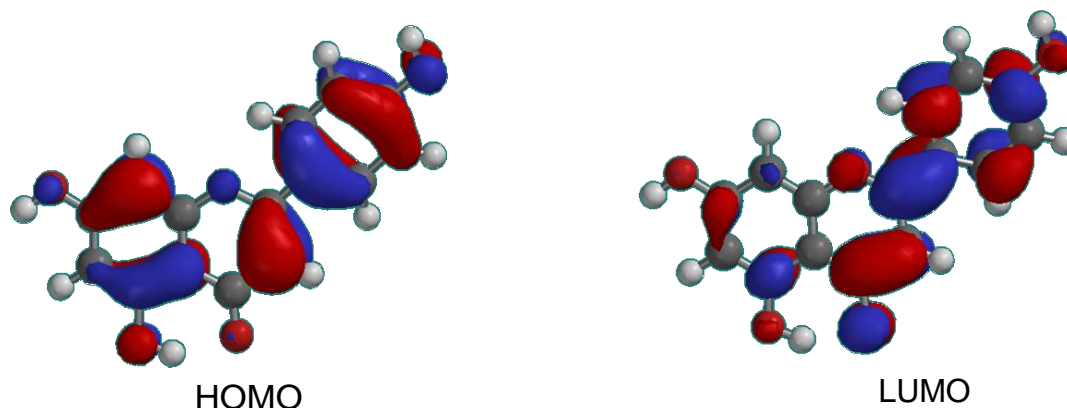
### 7.3. Análisis estructural mediante cálculos teóricos

En la búsqueda del conformero más estable se obtuvo la siguiente molécula con 54 conformeros (Figura 21), es decir se obtuvo la conformación o geometría que corresponde a un mínimo en la superficie de energía potencial de la molécula.



**Figura 21. Conformero más estable de apigenina (40)**

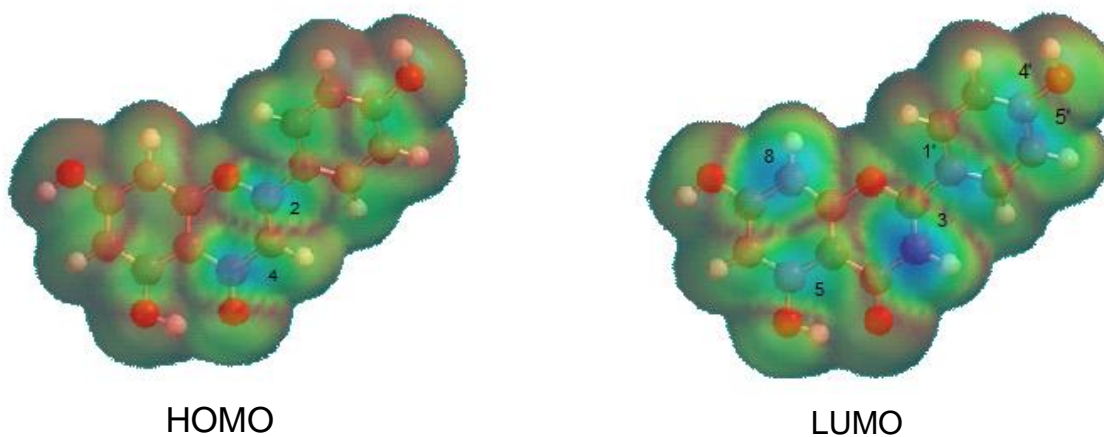
Se analizaron los orbitales moleculares HOMO y LUMO de apigenina (**40**) con la ayuda de sus mapas de densidad electrónica (Figura 22), la molécula tiene diferentes sitios reactivos tanto nucleofílicos como electrofílicos. El orbital HOMO indica donde se encuentra el par de electrones más fácil de donar de la molécula. El orbital LUMO indica el lugar de la molécula donde será más fácil aceptar un par de electrones, el LUMO al ser el primer orbital vacío, representa la región de la molécula en la que más fácil se aceptará un electrón, es decir, la región donde ocurrirá un ataque nucleofílico (Pertejo, 2004).



**Figura 22. Orbital molecular HOMO y LUMO para apigenina (40)**

Los orbitales homo y lumo dan información sobre los sitios reactivos de la molécula, los valores más altos y pequeños de densidad se representan con colores, los valores más altos en densidad electrónica de la molécula son los que aparecen en color azul, que en este caso se encuentran en la posición 2 y 4 de la molécula para el orbital HOMO que nos indica un posible sitio electrófilo, y para el orbital LUMO se encuentran en las posiciones 3, 5, 8, 1', 4' y 5' de la molécula, esto nos indica un posible ataque nucleofílico en estas posiciones (Figura 23).

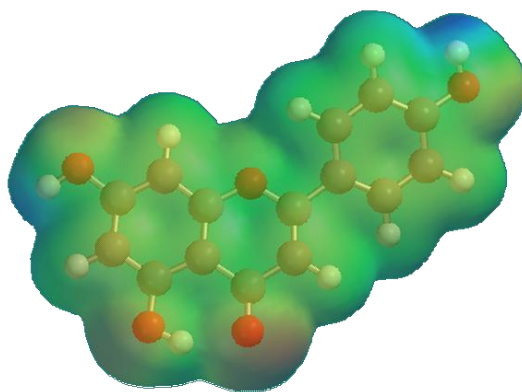
Los valores más bajos de los orbitales aparecen en color rojo.



**Figura 23. Mapa de densidades HOMO y LUMO para apigenina (40)**



En conjunto con el mapa de densidades (Figura 23) y los orbitales moleculares (Figura 22), el mapa de potencial electrostático (Figura 24) completa la búsqueda de sitios reactivos, ya que permite la visualización de la distribución de los electrones en una molécula utilizando el código de colores indicado. El color rojo indica la región donde la densidad electrónica es mayor, mientras que la región azul como se muestra en la figura 24 indica una menor población electrónica. Los estados intermedios siguen el orden de los colores del arcoíris hacia un lado u otro, según una mayor o menor presencia de electrones, y así el color amarillo o verde en ciertas zonas de las estructuras indicarán un balance electrónico homogéneo, como el que se espera esté presente en el enlace covalente.



**Figura 24. Mapa de potencial electrostático de apigenina (40)**

### **7.3.1. Determinación de los sitios reactivos (Gauss View 3.09)**

Para encontrar la base adecuada del cálculo de la molécula, se analizó con la ayuda del programa Gauss View 3.09 utilizando un método de Hartree Fock, variándose las bases hasta observar que el valor de energía no tuviera un cambio considerable como se muestra en la tabla 6.

**Tabla 6. Bases analizadas con sus energías respectivas**

| Base           | Valor de energía (a. u.) |
|----------------|--------------------------|
| <b>3-21 G</b>  | -1017.3405               |
| <b>6-31 G</b>  | -1022.6091               |
| <b>6-311 G</b> | -1022.8416               |

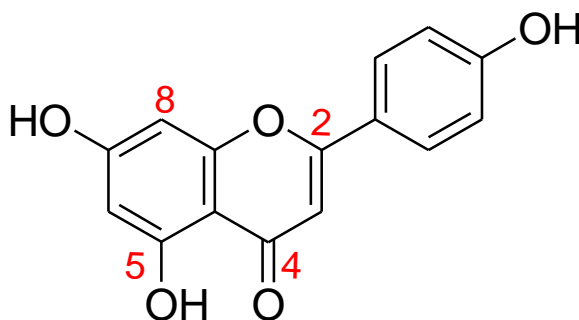
El método elegido fue Hartree-Fock con 6-31G de base ya que comparada con la base 6-311G no hubo una variación considerable, por ello se optó por ocupar esta base para correr los cálculos, una vez obtenida la base se analiza la molécula como neutra, como anión y como catión. Los valores de energía obtenidos de cada una de las moléculas se registraron para el cálculo de las funciones Fukui (Tabla 7).

**Tabla 7. Valores de las funciones Fukui.**

| Número de átomo | Catión (+) | Neutro    | Anión(-)  | f <sup>-</sup> | f <sup>+</sup> | f <sub>0</sub> |
|-----------------|------------|-----------|-----------|----------------|----------------|----------------|
| 2 C             | 0.429421   | 0.452769  | 0.363515  | 0.089254       | -0.023348      | 0.032953       |
| 4 C             | 0.52015    | 0.515477  | 0.355009  | 0.160448       | 0.004673       | 0.0825605      |
| 8 C             | -0,06042   | -0,220678 | -0,208774 | -0,011904      | 0,160258       | 0,074177       |
| 5 O             | -0,65629   | -0,780069 | -0,831682 | 0,051613       | 0,123779       | 0,087696       |
| 8 H             | 0,348349   | 0,250724  | 0,203655  | 0,047069       | 0,097625       | 0,072347       |
| 4 O             | -0,603953  | -0,648982 | -0,78883  | 0,139848       | 0,045029       | 0,0924385      |

En la tabla 7 se marcan los tres valores más altos para cada uno de los tipos de ataque de cada especie (aniónica, catiónica y neutra) resaltando con verde el valor más alto de estos descriptores moleculares, el valor positivo más alto de estos tres

números representa al átomo mas reactivo y así disminuye la reactividad según disminuyan; para la forma aniónica los valores más altos son 0.160448 para el carbono de la posición 4 de la molécula, 0.139848 para el oxígeno que se encuentra en la posición 4 de la molécula y 0.089254 para el carbono en la posición 2, en estas posiciones es un posible sitio electrofílico. Para la forma catiónica los valores más altos son 0.160258 que corresponde al carbono en la posición 8 de la molécula, 0.123779 para el oxígeno en la posición 5 y 0.097625 para el hidrogeno en la posición 8 de la molécula, en estas posiciones se espera un ataque nucleofílico. En la forma neutra encontramos los valores más altos que son 0.0924385 para oxígeno en la posición 4 de la molécula, 0.087696 para oxígeno en la posición 5, y 0.0825605 para carbono en la posición 4, en dichas posiciones se espera un ataque vía radicales libres (Figura 25).



**Figura 25. Posibles sitios reactivos en la molécula de apigenina (40) según cálculos teóricos**

### VIII. CONCLUSIONES

- 8.1. Se comprobó la actividad antidiarreica y analgésica del extracto etanólico de partes aéreas de *Lopezia racemosa* mediante los modelos de motilidad gastrointestinal para diarrea, Tail-flick y Writhing para analgesia.
- 8.2. Se aisló e identificó mediante RMN<sup>1</sup> H (400 MHz) la apigenina (**40**).
- 8.3. Se determinaron los sitios reactivos de la apigenina (**40**) mediante técnicas de química computacional.
- 8.4. La presente investigación es una contribución al conocimiento fitoquímico y farmacológico de la especie *Lopezia racemosa*.
- 8.5. El estudio de la actividad antidiarreica y analgésica de *Lopezia racemosa*, proporciona un soporte científico, que explica en parte su uso en la medicina tradicional de Hidalgo para el tratamiento de diarrea y dolor de estomago.

### **IX. PERSPECTIVAS**

- 9.1. En trabajos futuros se pretende realizar el estudio biológico de la fracción clorofórmica, acuosa y de acetato de etilo ya que se podrá ampliar el conocimiento fitoquímico y farmacológico de la especie vegetal.

### X. BIBLIOGRAFÍA

Agbor, G., Léopold, T., Jeanne, N. Y. (2004). The antidiarrheal activity of Alchornea cordifolia leaf extract. *Phytotherapy*. **18**: 873 - 876.

Álvarez-Castro, E., Oralo-Camberio, F. (2003). Actividad biológica de los flavonoides (I). Acción frente al cáncer. *Offarm*. **22**: 130 - 140.

Alberto, M. R., Nieva Moreno, M. I., Zampin, I., Isla, M. I. (2007). Actividad Antiinflamatoria de flavonoides naturales estructuralmente relacionados. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*. 6., 6. Pp 313 - 314

Ara-Roldán, A. (1997). 100 plantas medicinales escogidas: Una guía de plantas de todo el mundo seleccionadas por su valor terapéutico. México-DF. Editorial EDAF, S.A. pp. 27 - 33

Barragán-Iglesias, P., Cervantes-Durán, C., Quiñonez-Bastidas, G.N., Granados-Soto, V. (2011). Dolor neuropático: diagnóstico, mecanismos fisiopatológicos y tratamiento. *El Residente*. Vol. VI Número **2-2011**. Pp. 96 - 104

Cabello-Romero, R., Herrera-Benavente, I. F (2002). Síndrome diarreico infeccioso. Editorial médica Panamericana. Madrid, España. Pp. 38 - 39.

Castillo-García, E., Martínez-Solís, I. (2007). Manual de Fitoterapia. Barcelona-España. Elsevier Masson. Pp. 2 - 17

CONABIO, Consejo Nacional para el uso y Conocimiento de la Biodiversidad  
(2011). Fecha de consulta: 20 de febrero del 2012. Disponible en:  
<http://www.conabio.gob.mx/>.

Coghill, R. C., McHaffie, J. G., Yen, Y. F., (2003). Neural correlates of  
interindividual differences in the subjective experience of pain.  
*Proceedings of the National Academy of Sciences*. **100**: 8538 - 8542

Di Carlo G, Autore G, Izzo A, Maiolino P, Mascolo N, Viola P, Diurno M, Capasso  
F. J. (1993). *Pharmacology*. **45**: 1054 - 1059

SPARTAN '02 Copyright © 1991-2002 by Wavefunction Inc. All Rights Reserved

Espinosa, F. J. y J. Sarukhán, (1997). Manual de Malezas del Valle de México.  
Claves, descripciones e ilustraciones. Universidad Nacional Autónoma de  
México y Fondo de Cultura Económica, México, D. F. Pp. 80 - 85, 195 -  
200.

Ferraro, G. (1983). Flavonoides: Actualización de su uso en terapéutica. *Acta  
Farmacéutica Bonarense* **2**: 97 - 103.

Fritz, S. (2001). Fundamentos del masaje terapéutico. Editorial Paidotribo.  
Barcelona, España. Pp. 106 - 109

Ganjare, A. B., Nirmal, S. A., Patil, A. N. (2011). Use of apigenin from *Cordia  
dichotoma* in the treatment of colist. *Fitoterapia*. **82**:1052 - 1056

García-Palmieri, M.R. (2000). Lo que debes saber sobre tu salud. Puerto Rico.  
Editorial de la Universidad de Puerto Rico. Pp. 40 - 43

Gil-Hernández, A., Álvarez-Hernández.J., Manuel-Culebras, J., García-de Lorenzo y Mateos, A. **(2010)**. Tratado de Nutrición: Tomo IV: Nutrición Clínica. Editorial médica panamericana. Madrid, España. Pp. 644 - 655.

Gómez-Parra, J., Campos-Sepúlveda, A. E., Guevara-López, U., De Lille-Fuentes, R., Martínez-Enríquez, M. E. **(1999)**. Analgesia Preventiva en un modelo experimental de dolor visceral. *Revista Mexicana de Anestesiología*. **22**: 116 - 121

Gómez-Sancho, M., Grau-Abalo, J.A. **(2006)**. Dolor y sufrimiento al final de la vida. Arán ediciones S.L. Pp. 99 - 101

González-Barón, M., Muñiz-Gabilán, A. **(2003)**. Racecadotril, nuevo antidiarreico. Hoja de evaluación de medicamentos de castilla. La Mancha. Sescam Vol IV, No. 4. Pp. 1 - 2.

González-Barón, M., Ordoñez, A., Feliu, J., Zamora, P., Espinosa, E. **(2007)**. Tratado de medicina paliativa y tratamiento de soporte del paciente con cáncer. Editorial médica panamericana. Buenos Aires, Argentina. Pp. 320 - 326

Guyton, A. C., Hall, J. E. **(1998)**. Fisiología y Fisiopatología. México, D.F. McGraw-Hill interamericana. Pp. 315 - 319.

Guzmán-Mora, F., Carriosa-Alajmo, E., Vergara-Gómez, A., Jimenez, C.E. **(2004)**. Líquidos y electrolitos en cirugía: Fisiopatología celular y bioquímica. Colombia. Editorial médica Panamericana. Pp. 114 - 118



- Hwang, Y. P., Oh, K. N., Yun, H. J., Jeong, H. G. (2011). The flavonoids apigenin and luteclin suppress ultraviolet A-induced matrix metalloproteinase-1 expression via MAPKs and AP-1-dependent signaling in HaCat cells. *Journal of Dermatological science*. **61**: 23 - 31.
- Iglesias Neira, J. (2000). Diseño de ingredientes de origen natural y su aplicación en la estabilización de productos derivados de la pesca. Facultad de Química. Universidad de Santiago de Compostela. Pp. 65- 71.
- Lorenzo, P., Moreno, A., Lizasoain, I., Leza, J. C., Moro, M. A., Portolés, A. (2008). Farmacología básica y clínica. Editorial médica Panamericana. Madrid, España. Pp. 588 - 592.
- Liu, R., Zhang, T., Yong, H., Lan, X., Ying, J., Du, Gu, G. (2011) The flavonoid apigenina protects brain neurovascular coupling against amyloid-B<sub>2</sub> 5-3 5-induced toxicity in mice. *Journal of Alzheimer's Disease*. **24**: 85 - 100.
- Lutteradt, G.A. (1989). Inhibition of gastrointestinal release of acetylcholine by quercetin as a possible mode of action of psidium guajava leaf extracts in the treatment of acute diarrhoeal disease. *Journal of Ethnopharmacology*. **25**: 235 - 237.
- Marhuenda-Requena, E., Bravo-Díaz, L. (2005). Manual de farmacoterapia. Elsevier. Madrid, España. Pp. 3 - 10.
- Markham, K.R., Geiger, H. (1993). The flavonoids: Advances in research since 1986. Chapman & Hall.Londres. Pp. 1 - 3, 32.

- Martino, V. (2000). Los flavonoides como promisorios agentes preventivos y terapéuticos. *Acta farmacéutica Bonaerense*. **19**: 303 - 308.
- Marón-Rodríguez, F. Victoria-Amado, M.C., Morejón-Rodríguez, Z., López-Barreira, M., García-Hernández, A.I., Fuentes-Fiallo, V., Robineau, L., Campo-Epalza, C. (2008). Tamizaje fitoquímica, actividad analgésica y antiinflamatoria de decoctia de *Costus pictus* D.Don. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. **13**: On-line version ISSN 1028 - 4796.
- Marcano, D., Hasegawa, M. (2002). Fitoquímica orgánica. Universidad central de Venezuela. Consejo de desarrollo científico y humanístico. Caracas, Venezuela. Pp. 137 - 139.
- Martínez, M. (1979). Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica, México, D.F. Pp. 276.
- Martino, V. (2000). Los flavonoides como promisorios agentes preventivos y terapéuticos. *Acta Farmacéutica Bonaerense*. **19**: 303 - 308.
- Mendieta, R. M, Del Amo, S. (1981). Plantas Medicinales del Estado de Yucatán. México. Compañía Editorial Continental, S. A. De C. V. Pp. 1 - 3.
- Montes, N. and Hormaza, A. (2008). Comparación de los índices locales de reactividad Fukui de una serie de aldehídos. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. **74**, 247-251.
- Munir, M. A., Enay, N., Zhang, J. M. (2007). Analgésicos no opioides. *Revista Clínicas Médicas de Norteamérica*. **91**: 97 – 111.

Muñoz, A. L., Tapia-Illabaca, P. (1998). Dolor agudo y dolor crónico. Editorial Universitaria. Santiago de Chile. Pp. 9 - 17.

Muriel-Villoria, C. (2007). Dolor crónico: diagnóstico, clínica y tratamiento. Arán Ediciones, S. L. Madrid, España. Pp. 13 - 20.

Organización Mundial de la Salud (1994). Manejo y prevención de la diarrea: Pautas prácticas. España. Organización Mundial de la Salud. Pp.1

Organización Mundial de la Salud (2009). Medicina tradicional. Nota descriptiva No. 330

Organización Mundial de la Salud (2012). Medicina tradicional. Nota descriptiva No. 178

Organización Mundial de la Salud OMS (2011). Temas de Salud: Medicina Tradicional. Fecha de consulta: 27 de marzo del 2012. Disponible en: [www.who.int](http://www.who.int)

Obregón-De Castro, C., Nuñez-Rivera, D. (1991). Las Plantas medicinales de nuestra región. Consejería de cultura, educación y turismo. España. Pp. 9 - 13.

Osuna-Torres, L, Tapia-Pérez, M.E, Aguilar-Contreras, A. (2005). Plantas Medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales: Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. Barcelona-España. Publicaciones y Ediciones de la Universidad de Barcelona. Pp. 16 - 20, 147 - 149.

- Pérez-Escandón, B.E., Villacencio-Nieto, M.A., Ramírez-Aguirre, A. (2003). Lista de plantas útiles del Estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, Hidalgo. Pp 3 - 11.
- Pérez, S., Pérez, C., Zavala M. (2005). A study of the antidiarrheal properties of *Loeselia mexicana* on mice and rats. *Phytomedicine*. **12**: 670 - 674.
- Peretta, M. D. (2005). Reingeniería Farmacéutica: Principios y protocolos de la atención al paciente. Editorial médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. Pp. 265 - 270.
- Ponz-Sejas, E., Carpio-Tancara, G., Meo-Chupinagua, S. (2005). La medicina tradicional de los tacana y machineri: conocimientos prácticos de las plantas medicinales. La Paz-Bolivia. Fundación PIEB. Pp. 1 - 14.
- Popa, V. (2007). La cuantificación de los sitios activos en las bases de DNA y RNA utilizando las funciones Fukui condensadas. *Revista Mexicana de física*. **53**, 241-253.
- Porter, R. S., Kaplan, J. L., Homerer, B. P. (2010). Manual merck de signos y síntomas del paciente. Editorial panamericana. México, D.F. Pp. 150 - 153.
- Primo-Yúfera, E. (1995). Química orgánica básica y aplicada: De la molécula a la industria. Editorial Reverté, S.A. Barcelona, España. Pp. 917 - 921.
- Punheiro, M.M., Boylan, F., Fernandes. P.D. (2012). Antinociceptive effect of the *Orbignya speciosa* Mart. (Babassu) leaves: Evidence for the involvement of apigenin. *Life Sciences*. **91**, 293-300.

- Punt, W., Rovers, J., Haen, P. P. (2003). Onagraceae Review of Paraeobotany and Palynology. *Elsevier*. **23**: 107 – 161.
- Rodgers, M. T., Garmentrout, P. (2000). *Journal of American Chemical Society* **122**: 8548.
- Rodríguez-Suárez, L. F., Ania-Palacio, J. M., Silva-García, L., Puertas-Calderón, E., Junquera-Velasco, C. R. (2005). Diplomados en enfermería / ATS. Editorial Mad, S.L. Madrid, España. Pp. 199 - 201.
- Romo de Vivar-Romo, A. (2006). Química de la Flora Mexicana. Investigaciones en el Instituto de Química. México. Universidad Nacional Autónoma de México. Pp 1 - 5.
- Ruíz-De Adana, R. (2001). Manual de diagnóstico y terapéutica médica en atención primaria. Madrid-España. Ediciones Díaz de Santos, S.A. Pp. 337
- Russo, N., Toscamo, M., Ground, A. (2001). *Journal of American Chemical Society* **123**: 10272.
- Rzedowski, G. C. (2001). Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán, México.
- SAGARPA, Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2001. Norma Oficial Mexicana. “Especificaciones técnicas para la Produccion, Cuidado y Usos de los Animales de Laboratorio”. Diario Oficial Mexicano. 16 - 20, 31, 38, 35.

- Salinas, D., Araujo, J., Cisneros, C., Villena, C. Senosain, D., Huarcaya, C., Arroyo, J. **(2011)**. Inhibición del tránsito intestinal por el extracto metanólico de las hojas de *Amona muricata* L (Guanábana) en ratones. *Ciencia e investigación*. **14**:9-13.
- Sandkuhler, J. **(2000)**. Learning and memory in pain pathway. International Association for the Study of Pain. *Pain* **88**: 113 - 118.
- Segarra, E. **(2006)**. Fisiopatología de los aparatos y sistemas. Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Médicas. Pp. 145 - 147.
- Shaw, R. J., DeMaso, D. R., **(2006)**. Consulta Psiquiátrica en Pediatría En niños y adolescentes con enfermedades orgánicas. Editorial médica panamericana, Buenos Aires, Argentina. Pp. 237 - 241.
- Silvan, S., Marcharan, S., Baskaran, N., Singh, A. K. **(2010)**. Apigenin A potent antígenotoxic and anticlastogenic agent. Biomedicine and Pharmacotherapy. Article in Press.
- Tangpu, V., Yadav, A., **(2004)**. Antidiarrhoeal activity of *Rhus javanica* ripen fruit extract in albino mice. *Fitoterapia*. **75**: 39 – 44.
- Torres, L. M., Elorza, J., Gómez-Sancho, M., Micó, J. A., Muriel, C., Reig, E., Rodríguez, M.J. **(1997)**. Medicina del dolor. Masson, S.A. Barcelona, España. Pp. 6 – 13.
- Torres-Morera, L. M. **(2001)**. Tratado de cuidados críticos y emergencias. Arán ediciones, S.L. Pp. 173 – 175.

- UNAM. (2009). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana: *Lopezia racemosa* Cav. Biblioteca digital de la Medicina Tradicional Mexicana. Fecha de consulta: 22 de enero del 2012. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=8003>.
- Vanaclocha, B., Cañigual, S. (2003). Fitoterapia. Vademécum de prescripción. El Sevier, Masson. S. A. Barcelona, España. Pp. 29 - 30.
- Van Wyk, B. E., Wink, M. (2004). Medicinal Plants of the world. Portland-Oregon. Timber Press, Inc. Pp. 8 - 16, 20 - 24
- Vázquez-Santana, S., Martínez-Mena, A. (1991). Flora Palinológica de Guerrero: No.1. *Onagraceae Fuchsina, Hauya y Oenothera*. Prensas de Ciencias, D. F., México.
- Villaseñor Ríos, J. L. y F. J. Espinosa García. (1998). Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México, Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario y Fondo de Cultura Económica, México, D.F.
- Wagner H, S Bladt (1996) Plant Drug Analysis. A Th in Layer Chromatography Atlas. Springer Verlag, Berlin. 384 p.
- Yasir-Hasan, S., Tavaneer, B., Mohammad, A. (2008). Antigenotoxic effect of apigenina against anti-cancerous drugs. *Toxicology in Vitro*. **22**: 625 - 631.

Yamagata, K., Miyashita, A., Chino, M., Matsufuji, H. (2011). Apigenin inhibits tumor necrosis factor alpha puls high glucose-induced Lox-1 expression in human endotelial cells. *Microvascular Research*. **81**: 60 - 67.