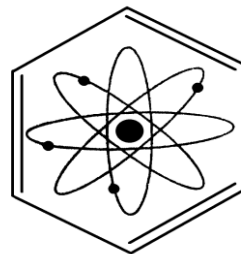




UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO



INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
LICENCIATURA EN QUÍMICA

“Estudio fitoquímico biodirigido de
Plantago lanceolata”

T E S I S

Que para obtener el título de
Licenciada en Química

P R E S E N T A :

Gabriela Montiel Jarillo

Director de tesis:

Dra. Claudia Velázquez González

Dr. José Roberto Villagómez Ibarra

Mineral de la Reforma, Hidalgo; agosto de 2012



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA

M. en A. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO,
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DE LA U.A.E.H.,
Presente:

Por este conducto le comunico que el Jurado asignado a la pasante de Licenciatura en Química **Gabriela Montiel Jarillo**, quien presenta el trabajo de titulación "**Estudio fitoquímico biodirigido de *Plantago lanceolata***" después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación firman de conformidad los integrantes del Jurado:

PRESIDENTE:	Dr. José Roberto Villagómez Ibarra
PRIMER VOCAL:	Dra. Claudia Velázquez González
SEGUNDO VOCAL:	Dr. J. Jesús Martín Torres Valencia
TERCER VOCAL:	Dra. Susana Rojas Lima
SECRETARIO:	Dr. Juan Antonio Gayosso de Lucio
PRIMER SUPLENTE:	Dra. Minarda De la O Arciniega
SEGUNDO SUPLENTE:	Dr. Javier Castro Rosas

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

ATENTAMENTE

"Amor, Orden y Progreso"

Mineral de la Reforma, Hidalgo a 15 de Agosto de 2012.

M. en C. Arazeli Sierra Zenteno.
Coordinadora Adjunta de la Lic. en Química



INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS
Carretera Tachá - Pánuco km. 4.5, Ciudad Universitaria,
Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México, C.P. 42184
Tel. +52 771 7172000 exts 2230, 2231. Fax 2109
asierra@uah.edu.mx



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.

PARTE DEL PRESENTE TRABAJO SE PRESENTÓ BAJO LA MODALIDAD
DE TRABAJO LIBRE EN:

XLII CONGRESO NACIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, OCTUBRE
DEL 2009. CIUDAD DE CANCÚN QUINTANA ROO, MÉXICO.

II CONGRESO NACIONAL DE INNOVACIÓN EN SALUD Y QUÍMICA
MÉDICA, ABRIL DEL 2011. SAN MIGUEL DE ALLENDE,
GUANAJUATO.

DEDICATORIAS

A Dios, por ser la fortaleza constante de mi vida, por ponerme en este camino y guiar mis pasos, por rodearme de las personas indicadas.

A mi mamá, quien ha formado la persona que soy, gracias por creer en mí y nunca dejarme sola, porque has estado en los mejores y peores momentos de mi vida, las palabras son cortas para agradecerte el inmenso amor que me das, te amo y estoy agradecida de tener como madre a una mujer tan fuerte como tú, gracias porque nunca me has dejado caer y has guiado mis pasos con amor y paciencia. Eres la mayor bendición de mi vida.

A mi papá, por el amor que me das y lo fácil que recuerdo que es la vida cuando hablo contigo, gracias por apoyar cada una de mis decisiones y respetar y querer lo que soy, te amo y estoy agradecida por tenerte a mi lado.

A mi tío Pepé por significar tanto en mi vida, por ser desde siempre un amigo en el cual confiar, porque crees en mí y escuchas cada uno de mis sueños, se que siempre estaras a mi lado y que tu amor es incondicional.

A mis hermanos, Elisa: por hacerme sonreír cada día a pesar de mi mal carácter, por ser mi cómplice y ser desde niñas mi apoyo; Jorge: por ser un gran ejemplo en mi vida, por el orgullo que me haces sentir y ayudarme a no rendirme, gracias por el amor que los dos me demuestran día a día. A Lia por ser mi luz y alegría y a Andrea por ser parte de mi familia, permitirme conocerte, darme consejos y escucharme.

A la hermosa familia que Dios me dio, a la abuela tan maravillosa que nos mantiene unidos, a mis tíos que me han dado su apoyo y amor incondicional, en especial mi tía Emma que siempre se ha preocupado por lo que soy y como me siento, a mis primos que me dan tanta alegría, los amo, no podría tener un mejor ejemplo para ser quien soy.

Ayari, por ser la mejor amiga que pude tener y pedir, porque has cambiado mi vida con toda la buena vibra que siempre me transmites, gracias porque a cada instante has formado parte de mis sueños y me has ayudado a creer en mí y a seguir adelante, gracias porque haces de mis problemas algo más llevadero y siempre logras sacarme una sonrisa, te quiero infinito.

Cristian, por todo el tiempo de crecimiento y aprendizaje que hemos compartido, gracias por estar cuando más lo he necesitado y por siempre impulsarme, creer en mí y ayudarme a ser mejor y por tantas alegrías. Gracias por ser siempre paciente e incondicional a pesar de mi mal genio; te quiero demasiado y ha sido maravilloso compartir este camino contigo.

Jorge, amiwo! Gracias por estar siempre conmigo, por cuidarme y preocuparte por mí, por tantos momentos que hemos compartido y por darle orden a mi desastrosa vida, gracias por ser parte de mi vida! Te quiero...

A mis amigos Octavio, Chapa y Frida por quitarme el estrés y las locuras y experiencias que hemos vivido, gracias porque su apoyo ha sido fundamental y constante en este proceso, por interesarse sinceramente en mis planes y no juzgarme en mis decisiones, los quiero demasiado.

A mis amigos de la universidad muy en especial Evelyn, Karen y Alex por todo lo que vivimos y significan en mi vida, a los de la prepa Bere, Vladimir, Jaz, Ana, Joana y Mirelle por tantos momentos de alegría y locura y en especial a Grecia por siempre estar conmigo y por regañarme cuando lo necesito pero siempre tener las palabras adecuadas para mi caos.

A todas las personas que directa o indirectamente han influido en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Dra. Claudia Velázquez por haberme hecho sentir parte de este proyecto, por el tiempo, esfuerzo y paciencia que tuvo conmigo; me siento muy agradecida por el apoyo que me brindó mas allá de lo académico, por los consejos y el tiempo que se tomó para escucharme y compartirme un poco de su vida. La admiro y admiro su trabajo; no debo olvidar extender este agradecimiento a Ulises por las largas horas de espera durante las revisiones.

Quiero expresar mi agradecimiento y admiración al Dr. Roberto Villagomez quien desde un principio me permitió formar parte de su equipo, gracias por el apoyo, comprensión e impulso y por la motivación que he recibido de su parte, agradezco la amistad y los consejos que me ha brindado.

Agradezco al Dr. Juan Gayosso por compartir su conocimiento y experiencia en el trabajo diario, por motivarme con esa gran pasión que tiene por la investigación y por el empeño y perseverancia que me transmitió durante este proceso.

A los sinodales que se tomaron el tiempo de leer mi trabajo, opinando, corrigiendo y dándome ánimo, a la Dra. Susana que desde mis primeros días de universidad me ha brindado su apoyo y me ha compartido su conocimiento, gracias por los consejos y las pláticas, al Dr. Martín Torres por todos los conocimientos que me ha transmitido, muchas gracias por la dedicación que mostró en mi trabajo, a la Dra. Minarda por siempre tener palabras de ánimo y aliento y finalmente al Dr. Javier Castro por haber tomado el tiempo para ayudarme a mejorar mi trabajo y por la amabilidad que me brindó durante las revisiones.

Al personal del bioterio de la UAEH por las facilidades para la realización de las pruebas biológicas, en especial al químico Cerón y al Dr. Héctor por las pláticas y el apoyo personal que recibí de su parte.

Al M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez y Dra. Beatriz Quiroz García del Instituto de Química de la UNAM por el apoyo en la obtención de los espectros de RMN.

A los investigadores y administrativos del área académica de farmacia, por siempre recibirme con la mejor actitud y hacerme parte de su equipo de trabajo, en especial gracias a la Dra. Gina por interesarse en mí mas allá de lo académico y los constantes ánimos que me brindó.

A todos los maestros que han contribuido en mi formación y que me han dado la oportunidad de aprender de ellos y que además muchos, me han permitido generar lasos de amistad.

RESUMEN

En este trabajo de investigación se validaron las propiedades antidiarreicas atribuidas en la medicina tradicional de Hidalgo a *Plantago lanceolata*, popularmente conocido como “siete venas”.

Para evaluar la actividad antidiarreica de *Plantago lanceolata* se empleó el modelo de motilidad gastrointestinal en ratas; se evaluaron los extractos metanólico y clorofórmico de las partes aéreas encontrándose que ambos presentan actividad antidiarreica, con inhibición de 64.5 % para el metanólico mientras que para el clorofórmico fue de 51.7 %. Al evaluar el extracto metanólico a dosis de 150, 300 y 600 mg/Kg, se observó un efecto de hormesis con porcentajes de inhibición de 42.9 %, 64.5 % y 47.8 %, respectivamente. Posteriormente, se realizó un fraccionamiento por partición del extracto metanólico de las partes aéreas y la evaluación biológica de las fracciones obtenidas: clorofórmica, acetato de etilo y acuosa a dosis de 50 mg/Kg, obteniendo porcentajes de inhibición del 11.8 %, 37.3 % y 34.0 % respectivamente. El estudio fitoquímico de la fracción más activa que fue la de acetato de etilo condujo al aislamiento del glicósido de fenilpropanoide conocido como acteósido (**22**), el cual fue caracterizado mediante RMN ^1H y ^{13}C . El acteósido (**22**) presentó una importante actividad antidiarreica a dosis de 10 mg/Kg (42.1 %), comparable al control loperamida (**6**) (2.5 mg/Kg) (48.5%).

INDICE

	Pág.
Índice de cuadros	iv
Índice de figuras	iv
Índice de gráficos	v
Índice de tablas	v
Lista de abreviaturas	vi
1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Plantas medicinales y productos naturales	4
2 ANTECEDENTES	
2.1 Generalidades del síndrome diarreico	7
2.1.1 Diarrea osmótica	8
2.1.2 Diarrea secretora	9
2.1.3 Diarrea motora	9
2.1.4 Diarrea exudativa	10
2.2 Fármacos empleados para el tratamiento de la diarrea	10
2.2.1 Absorbentes intestinales	10
2.2.2 Inhibidores de la motilidad intestinal, opioides	11
2.2.3 Inhibidores de la hipersecreción intestinal	11
2.2.4 Microorganismos antidiarreicos	12
2.2.5 Modificadores de las heces	12
2.2.6 Modificadores del transporte electrolítico	12
2.3 Generalidades de la familia Plantaginaceae	15
2.4 Generalidades de <i>Plantago lanceolata</i>	19
2.4.1 Compuestos aislados de <i>Plantago lanceolata</i>	21

2.5 Glicósidos de fenilpropanoide	23
2.5.1 Ruta biosintética de fenilpropanoides	24
2.5.2 Actividad biológica del acteósido (22)	26
3 JUSTIFICACIÓN	28
4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
5 OBJETIVOS	
5.1 Objetivo general	30
5.2 Objetivos particulares	30
6 HIPÓTESIS	31
7 MATERIALES Y MÉTODOS	
7.1 Espectros de Resonancia magnética nuclear	32
7.2 Análisis cromatográfico	32
7.3 Obtención e identificación del material vegetal	32
7.4 Operaciones preliminares	33
7.5 Obtención del extracto crudo	33
7.6 Fraccionamiento del extracto activo	33
7.7 Obtención del acteósido (22)	34
7.8 Animales utilizados	36
7.9 Determinación de la actividad antidiarreica	37
7.10 Análisis estadístico	38
8 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
8.1 Determinación del extracto biológicamente activo mediante el modelo de motilidad gastrointestinal	40
8.2 Elucidación estructural del acteósido (22)	44

8.2.1	Resonancia magnética nuclear de ^1H a 400 MHz en DMSO- d_6	44
8.2.2	Resonancia magnética nuclear de ^{13}C a 100 MHz en DMSO- d_6	48
9	CONCLUSIONES	51
10	PERSPECTIVAS	52
11	REFERENCIAS	53
12	APÉNDICE I: CONGRESOS	
12.1	XLII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas, 2009	60
12.2	II Congreso Nacional de Innovación en salud y química médica, 2011	61

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Principios activos obtenidos de productos naturales	5
Cuadro 2.	Fármacos empleados para el tratamiento de la diarrea	13
Cuadro 3.	Compuestos aislados de la familia Plantaginaceae	17
Cuadro 4.	Compuestos aislados de <i>Plantago lanceolata</i>	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Medicina tradicional indígena	2
Figura 2.	Mecanismos de diarrea	8
Figura 3.	<i>Plantago lanceolata</i>	20
Figura 4.	Estructura de los glicósidos de fenilpropanoide	24
Figura 5.	Ruta biosintética de fenilpropanoides	25
Figura 6.	Fraccionamiento por partición del extracto metanólico de las partes aéreas de <i>Plantago lanceolata</i>	34
Figura 7.	Modelo de motilidad gastrointestinal	37
Figura 8.	Resumen de las dosis utilizadas para la evaluación biológica del extracto MeOH de las partes aéreas de <i>Plantago lanceolata</i>	38
Figura 9.	Espectro de RMN ^1H del acteósido (22) a 400 MHz en DMSO- d_6	46
Figura 10.	Ampliación de la región aromática del espectro de RMN ^1H del acteósido (22) a 400 MHz en DMSO- d_6	47
Figura 11.	Espectro de RMN ^{13}C del acteósido (22) a 100 MHz en DMSO- d_6	50

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfica 1.	Especies medicinales empleadas en trastornos gastrointestinales	3
Grafica 2.	Porcentaje de inhibición del tránsito intestinal de los extractos CHCl_3 y MeOH de las partes aéreas de <i>Plantago lanceolata</i>	40
Gráfica 3.	Porcentaje de inhibición del tránsito intestinal de los extractos metanólicos de las flores y partes aéreas	41
Gráfica 4.	Porcentaje de inhibición del tránsito intestinal del extracto metanólico de las partes aéreas a diferentes dosis	42
Gráfica 5.	Porcentaje de inhibición del tránsito intestinal de las fracciones y del compuesto puro	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Plantas de la familia Plantaginaceae en el Estado de Hidalgo	19
Tabla 2.	Rendimiento de la obtención de extractos	33
Tabla 3.	Resumen del fraccionamiento secundario	35
Tabla 4.	Obtención del acteósido (22)	36
Tabla 5.	Datos de RMN ^1H (400 MHz) en $\text{DMSO}-d_6$ del acteósido (22)	45
Tabla 6.	Datos de RMN ^{13}C (100 MHz) en $\text{DMSO}-d_6$ del acteósido (22)	49

Lista de abreviaturas

AcOEt	acetato de etilo
A549	línea celular de adenocarcinoma pulmonar humano
CCF	cromatografía de capa fina
cm	Centímetros
C+	control positivo
d	señal doble
dd	señal doble de dobles
DMSO-d_6	Dimetilsulfóxido hexadeuterado
EtOH	etanol
ECPA	extracto clorofórmico de partes aéreas
EMF	extracto metanólico de flores
EMPA	extracto metanólico de partes aéreas
glc	Glucosa
glu	Glucósido
g	gramos
HCT 116	línea celular de adenocarcinoma colorrectal humano
HeLa	línea celular de cáncer cérvico-uterino
Hex	Hexano
HL-60	línea celular de leucemia humana
Hz	hertz
J	constante de acoplamiento
Kg	kilogramos
m	multiplete
MeOH	metanol
mg	miligramos
MHz	megahertz
mL	mililitros
mm	milímetros

mmol	milimoles
MMP+	ión 1-metil-4-fenilpiridino
OMS	Organización Mundial de la Salud
P_{L150}	<i>Plantago lanceolata</i> 150 mg/Kg
P_{L300}	<i>Plantago lanceolata</i> 300 mg/Kg
P_{L600}	<i>Plantago lanceolata</i> 600 mg/Kg
ppm	partes por millón
RMN ¹³C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13
RMN ¹H	Resonancia Magnética Nuclear de protón
ROS	radicales libres de oxígeno
s	señal simple
SAGARPA	Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación
SSH	Secretaría de Salud del estado de Hidalgo
TMS	Tetrametilsilano
TPA	13-acetato de 12-O-tetradecanoil-forbol
VIH	virus de inmunodeficiencia humana
ZR 75-3C	línea celular de cáncer de mama
%	porcentaje
δ	desplazamiento químico

1 INTRODUCCIÓN

Desde los primeros momentos de la historia de la humanidad, ocuparse de los temas de salud ha sido una práctica cotidiana que el hombre ha logrado satisfacer gracias a que su vida se encuentra ligada a su entorno natural, lo cual le ha permitido descubrir, experimentar, aprender y transmitir el empleo de los recursos que lo rodean para satisfacer sus necesidades (Perea-Quesada, 2004).

Durante mucho tiempo, los remedios naturales fueron el principal e incluso el único recurso del que disponían los médicos tradicionales y a través del lenguaje, se logró ordenar y transmitir de generación en generación el conocimiento sobre el poder de la naturaleza para aliviar o curar, es así como surge la medicina tradicional (Lozoya-Legorreta, 1997). La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la medicina tradicional como “la suma completa de conocimientos, técnicas y prácticas fundamentadas en teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas y que se utilizan para mantener la salud y prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar trastornos físicos o mentales” (Figura 1) (OMS, 2008).

El empleo de plantas medicinales, forma parte de la medicina tradicional que durante siglos ha estado presente en la asistencia sanitaria de muchos países y ha tenido un crecimiento exponencial en el mercado mundial; la OMS estima que aproximadamente el 65 % de la población mundial, ha incorporado las plantas como modalidad primaria de asistencia médica (Mendoza-Patiño, 2008).

A nivel mundial se estima que el número de plantas es de 250,000 especies de las cuales 70,000 poseen propiedades terapéuticas y solo se ha investigado la actividad biológica de aproximadamente el 6 % y fitoquímicamente el 15 %.

(Mendoza-Patiño, 2008). Existen aproximadamente 121 sustancias químicas de origen vegetal catalogadas como fármacos importantes y que se encuentran en uso en uno o más países. Estas sustancias tienen diversas aplicaciones terapéuticas y se obtienen principalmente de unas 95 especies de plantas (Ponz et al., 2005).

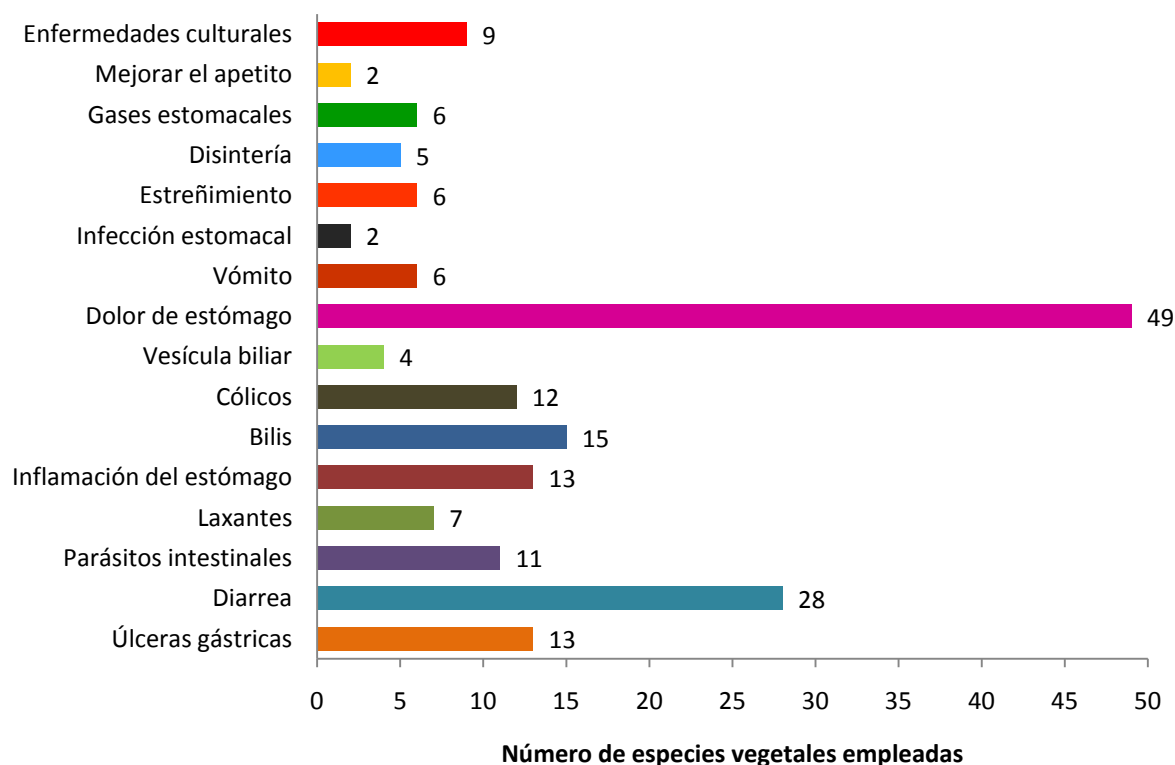


Figura 1. Medicina tradicional indígena

En México, la medicina tradicional representa una alternativa médica importante para más de 40 millones de personas que no tienen acceso a los servicios de salud; para la población mexicana, las plantas forman parte de su cultura médica y tradición que se ha preservado a través de generaciones (Mendoza-Patiño, 2008; Osuna-Torres et al., 2005).

México posee una riqueza cultural amplia, así como una importante diversidad de especies vegetales, cuenta con 22,800 especies de plantas, de las cuales solo se emplean 5,000 y de estas, solo 3,000 son utilizadas con fines medicinales y aun así, tan solo del 5 al 15 % de estas plantas, ha sido estudiada fitoquímica y farmacológicamente (Muñeton-Pérez, 2009; Silverman, 2004).

Las características ambientales del Estado de Hidalgo, brindan una importante diversidad vegetal; a la fecha se han detectado 611 especies de plantas, distribuidas en 393 géneros y 127 familias. De este total, 461 especies se reportan como plantas medicinales. Por otro lado, la clasificación de acuerdo con los aparatos, sistemas y afecciones sitúa a las plantas empleadas para el tratamiento de afecciones del sistema digestivo en primer lugar, con 137 especies. En la siguiente gráfica se muestran los diferentes trastornos gastrointestinales, indicando el número de plantas que se usan para su tratamiento, es de destacarse que se encuentran en primer lugar el dolor de estómago (49 especies), seguido por la diarrea (28 especies) (gráfica 1) (Pérez-Escandón et al., 2003).



Gráfica 1. Especies medicinales empleadas en trastornos gastrointestinales

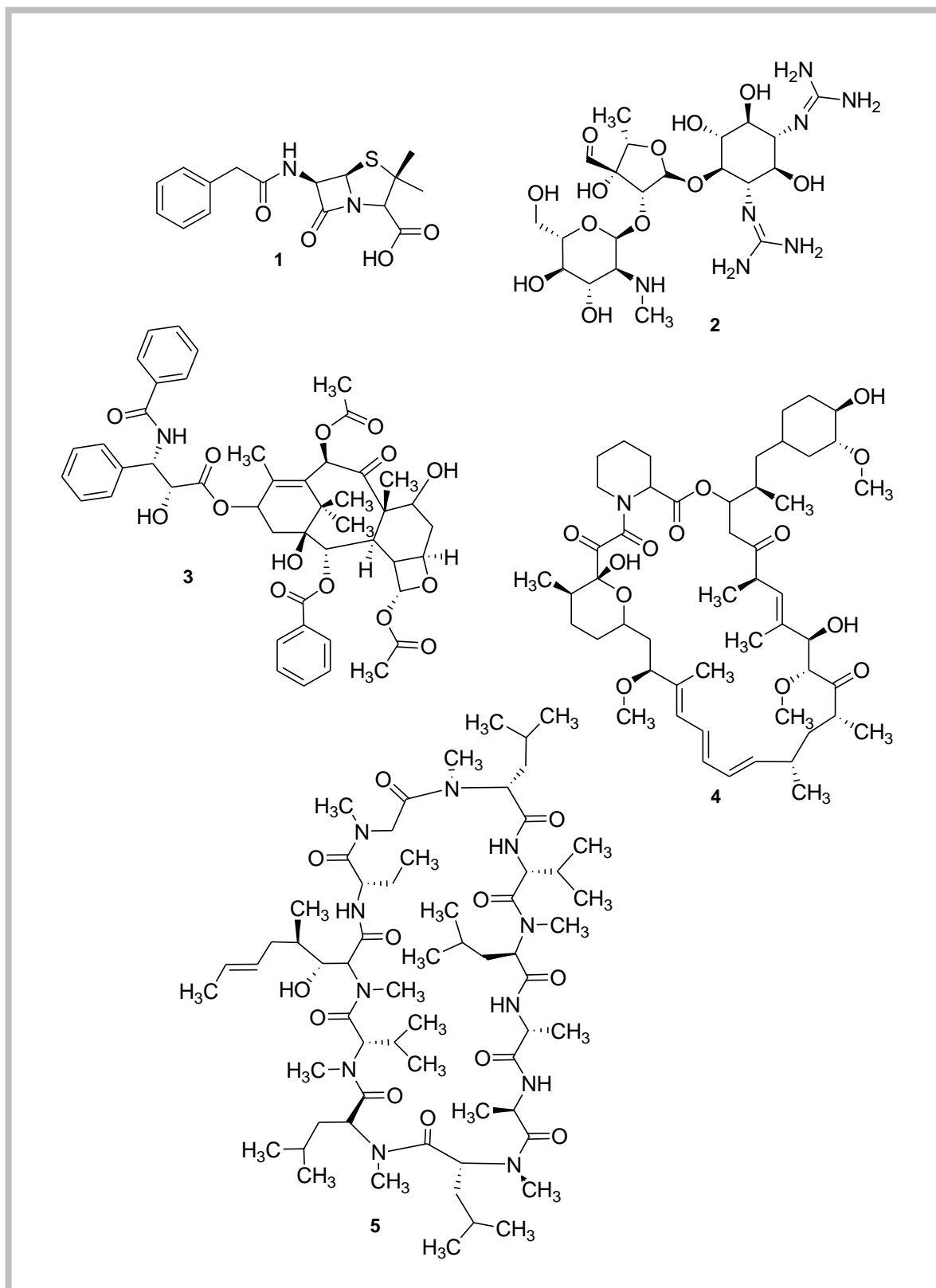
1.1 Plantas medicinales y productos naturales

Los productos naturales son de vital importancia en la vida del hombre y es por esto que se ha estudiado el efecto y acción de las sustancias químicas que de ellas se obtienen, analizando su composición química, toxicidad y propiedades farmacológicas; además, desempeñan una función vital en los sistemas de atención médica, ya que sustancias químicas consideradas como fármacos importantes derivan de especies de plantas. Una de las principales desventajas de los productos naturales, es que frecuentemente las moléculas son complejas y difíciles de sintetizar o modificar mediante síntesis química convencional. Hasta nuestros días, la naturaleza representa una importante fuente para el descubrimiento de principios activos que den lugar a nuevos medicamentos y componentes de interés (Pamplona, 2006; Kuklinski, 2000).

Los productos naturales, se han empleado como fuente de nuevos agentes terapéuticos en el campo de fármacos: antiinfecciosos como la penicilina (1) y la estreptomicina (2), antineoplásicos tal como el taxol (3) e inmunodepresores como sirolimús (4) y ciclosporina (5) (cuadro 1) (Rang et al., 2008).

Desde hace ya algunos años, la investigación de plantas medicinales ha dejado de ser vista como un factor cultural y ha sido considerada como una relevante actividad científica, ya que las plantas medicinales representan una alternativa viable en el desarrollo de nuevas técnicas terapéuticas así como en la obtención de moléculas bioactivas (Vanaclocha-Vanaclocha, 2003).

Cuadro 1. Principios activos obtenidos de productos naturales



Dependiendo de la función que desempeñan en el organismo, las plantas se pueden dividir como digestivas, circulatorias, hepáticas, depurativas, respiratorias, para la piel, para problemas reumáticos y para mejorar el sistema inmune (Olaya-Florez and Méndez-Alzamora, 2003). Entre los grupos de principios activos que podemos encontrar en una planta tenemos: aceites esenciales, alcaloides, flavonoides, saponinas, glucósidos, taninos y minerales (Ara, 1997).

El trabajo de investigación que a continuación se presenta, comprende la evaluación farmacológica de la actividad antidiarreica de *Plantago lanceolata*, así como la separación química biodirigida de su extracto metanólico de las partes aéreas, por lo cual en los siguientes temas se revisaran: generalidades del síndrome diarreico, su clasificación y los fármacos actuales empleados para su tratamiento; se ahondara en el género al cual pertenece la planta y los metabolitos que han sido aislados de ella para posteriormente exponer los estudios previos realizados a *Plantago lanceolata*. Finalmente se hablará sobre glicósidos de fenilpropanoide, sus estudios farmacológicos y compuestos aislados.

2 ANTECEDENTES

2.1 Generalidades del síndrome diarreico

La diarrea es un problema de salud que generalmente afecta a países que se encuentran en vías de desarrollo y es la mayor causa de morbilidad y mortalidad en el mundo, con un promedio que va de 2 a 12 episodios por año por persona. A nivel mundial, representa la segunda causa de muerte principalmente en niños menores de 5 años y personas mayores, se ha estimado que mueren aproximadamente 1.5 millones de niños y afecta a más de 2,000 millones de personas al año (OMS, 2010; Cabello-Romero et al., 2002).

Es un síntoma de trastornos gastrointestinales, los cuales pueden ser causados por bacterias, virus, protozoarios y alimentos; consiste en el aumento anormal de la cantidad de líquido eliminado y un incremento en el número de deposiciones poco consistentes como consecuencia del aumento de la motilidad intestinal. Puede ocasionar una excesiva pérdida de agua y electrolitos ocasionando deshidratación y desnutrición (Talley et al., 2010; Inarejos-García and Caure-López, 2009; Cabello-Romero et al., 2002).

La diarrea es causada por la alteración de cualquiera de las funciones básicas del tubo digestivo: digestión/absorción, secreción y función motora; de manera general, la diarrea se clasifica en:

- aguda, aquella que tiene un inicio brusco, pero que cesa al cabo de pocos días.
- crónica, que llega a durar semanas o meses.

Por otra parte, según el mecanismo que produce la diarrea, puede diferenciarse en cuatro tipos: osmótica, secretora, exudativa y motora, los cuales se esquematizan en la figura 2 (De Castro and Arellano, 2006).

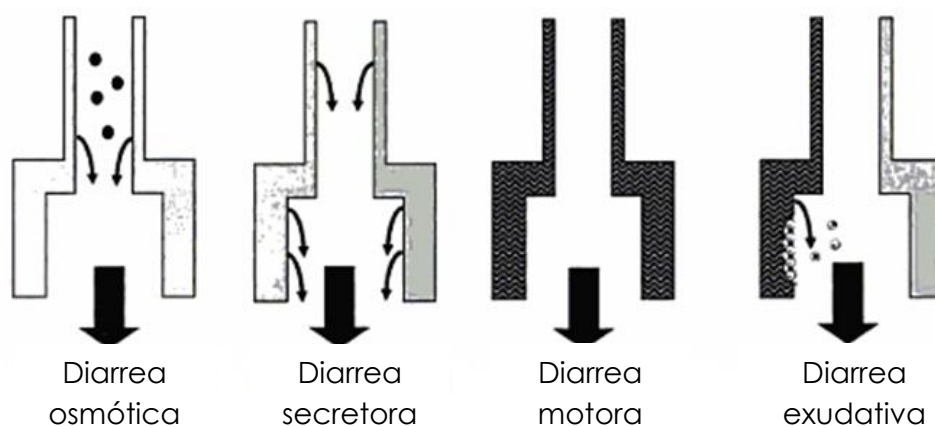


Figura 2. Mecanismos de diarrea

2.1.1 Diarrea osmótica

Este tipo de diarrea, se debe a la presencia de solutos no absorbibles en el tracto gastrointestinal, los cuales ejercen un efecto osmótico que atrae agua a la luz intestinal, dichas partículas osmóticas mantendrán el agua con ellas y esta será eliminada con las heces. Este tipo de diarrea, es provocada por defecto en la digestión/absorción, si se reduce la absorción de cualquiera de estas sustancias, se producirá la diarrea osmótica. Algunos ejemplos típicos de sustancias que provocan este tipo de diarrea son: la lactosa (intolerancia), líquidos carbonatados (exceso de azúcares), sales de magnesio y sorbitol. La secreción es rica en agua y escasa en sodio. (De Castro and Arellano, 2006; Segarra, 2006; Behrman et al., 2004; Chesire and Long, 2004).

2.1.2 Diarrea secretora

Este tipo de diarrea se presenta por una alteración en el transporte de agua e iones y en la mayoría de los casos la alteración se da por una disminución de la absorción más que por un aumento de la secreción; pueden existir dos mecanismos en este proceso: 1. Aumento de la presión hidrostática en la pared intestinal por inflamación de la mucosa y 2. Secreción activa de iones estimulada por enterotoxinas (producidas por *Vibrio Cholerae* y *Escherichia coli* entero toxigénica). También puede ser causada por el consumo de laxantes, mala absorción de ácidos grasos o sales biliares y es independiente de la ingesta de alimentos. Las deposiciones son voluminosas y acuosas en ausencia de sangre (De Castro and Arellano, 2006; Segarra, 2006; Graber and Lanternier, 2002; Rodés et al., 2002).

2.1.3 Diarrea motora

En este caso, la diarrea es causada ya sea por el aumento o la disminución de la motilidad intestinal. Si nos referimos a un aumento en el tránsito intestinal, debemos entender que al reducir el tiempo de contacto entre el contenido intestinal y la mucosa, se ve afectada la completa absorción de los nutrientes, por lo cual el colon recibe un contenido fecal con aumento de líquidos el cual supera su capacidad de absorción. Si por el contrario, nos referimos a una disminución en el peristaltismo intestinal, debemos asociarlo a un sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado, el cual causa de manera indirecta una diarrea (De Castro and Arellano, 2006; Rodés et al., 2002).

2.1.4 Diarrea exudativa

Este tipo de diarrea incluye los tres mecanismos previamente mencionados: secretor, motilidad y osmótico. Es ocasionada por una lesión en la mucosa intestinal, que exuda sangre, moco y proteínas, sustancias capaces de participar tanto como factores osmóticos como secretorios. Debido al mecanismo osmótico, disminuye la absorción de agua, varios mediadores inflamatorios tienen la capacidad de secretagogos y la inflamación de cualquier región intestinal aumenta la motilidad en dicho fragmento. Entre las causas asociadas con este tipo de diarrea se encuentran problemas infecciosos por cepas bacterianas (*Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium difficile*), enfermedades inflamatorias crónicas del intestino como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn y en menor frecuencia la colitis isquémica (De Castro and Arellano, 2006; Segarra, 2006; Rodés et al., 2002).

2.2 Fármacos empleados para el tratamiento de la diarrea

Los fármacos empleados para el tratamiento de la diarrea se clasifican en función a su mecanismo de acción, ya sea como absorbentes intestinales, inhibidores de la motilidad, inhibidores de la hipersecreción intestinal, modificadores del transporte electrolítico y microorganismos antidiarreicos. A continuación se hará una breve descripción de ellos:

2.2.1 Absorbentes intestinales

Su acción está relacionada con la capacidad para absorber toxinas y agua en el tracto digestivo, se emplea:

- Carbón absorbente. Se puede administrar en forma de polvo, gránulos o cápsulas; se emplea para la prevención y reducción de la absorción de sustancias tóxicas.
- Gelatina.
- Otros. Se emplean resinas de intercambio iónico (colestiramina) como protector de la mucosa digestiva; silicato de caolín hidratado y preparado que contienen pectina, tanato de gelatina y germen de trigo, su objetivo es aumentar la masa del contenido intestinal.

2.2.2 Inhibidores de la motilidad intestinal, opioides

- Loperamida (**6**). A dosis baja presenta limitada tasa de absorción con una marcada actividad inhibidora de la motilidad del tracto intestinal con el consecuente retraso en el vaciamiento gástrico. Aumenta el tono de la pared digestiva y disminuye las contracciones peristálticas propulsivas.
- Difenoxilato (**7**) y codeína (**8**). También existen mezclas complejas que contienen algún derivado opioide como activo principal, junto con anticolinérgicos como la atropina (**9**) obtenida de *Atropa belladonna*, y antiespumantes con efecto antilflatulento como la dimeticona (**10**) o sustancias astringentes tales como el ácido tánico (**11**).

2.2.3 Inhibidores de la hipersecreción intestinal

- Racecadotril (**12**). Es un inhibidor selectivo de la encefalinasa. Es útil para el tratamiento de diarrea aguda y rehidratación. Se administra por vía oral.

- Octreótida (**13**). Inhibe la secreción de la hormona estimulante de la tiroides y algunas otras hormonas gastrointestinales. Se emplean en el tratamiento de diarrea secretora y grave causada por el VIH.
- Subsalicilato de bismuto (**14**). Reduce la secreción intestinal causada por bacterias.
- Berberina (**15**). Es un alcaloide aislado de la *Berberis anisata* y posee propiedades antisecretoras.

2.2.4 Microorganismos antidiarreicos

Estos representan un complemento en el tratamiento de la flora intestinal que ha sido alterada después de un proceso diarreico. Los microorganismos más empleados incluyen: *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces boulardii* y *Bifidobacterium bifidum* (Castells-Molina and Hernández-Pérez, 2007).

2.2.5 Modificadores de las heces

Existen también fármacos modificadores de las heces, se pueden utilizar arcillas absorbentes en combinación con morfina, cuya función es formar una masa que aumenta la consistencia de las heces; también existen otros agentes los cuales aumentan su viscosidad (Castells-Molina and Hernández-Pérez, 2007).

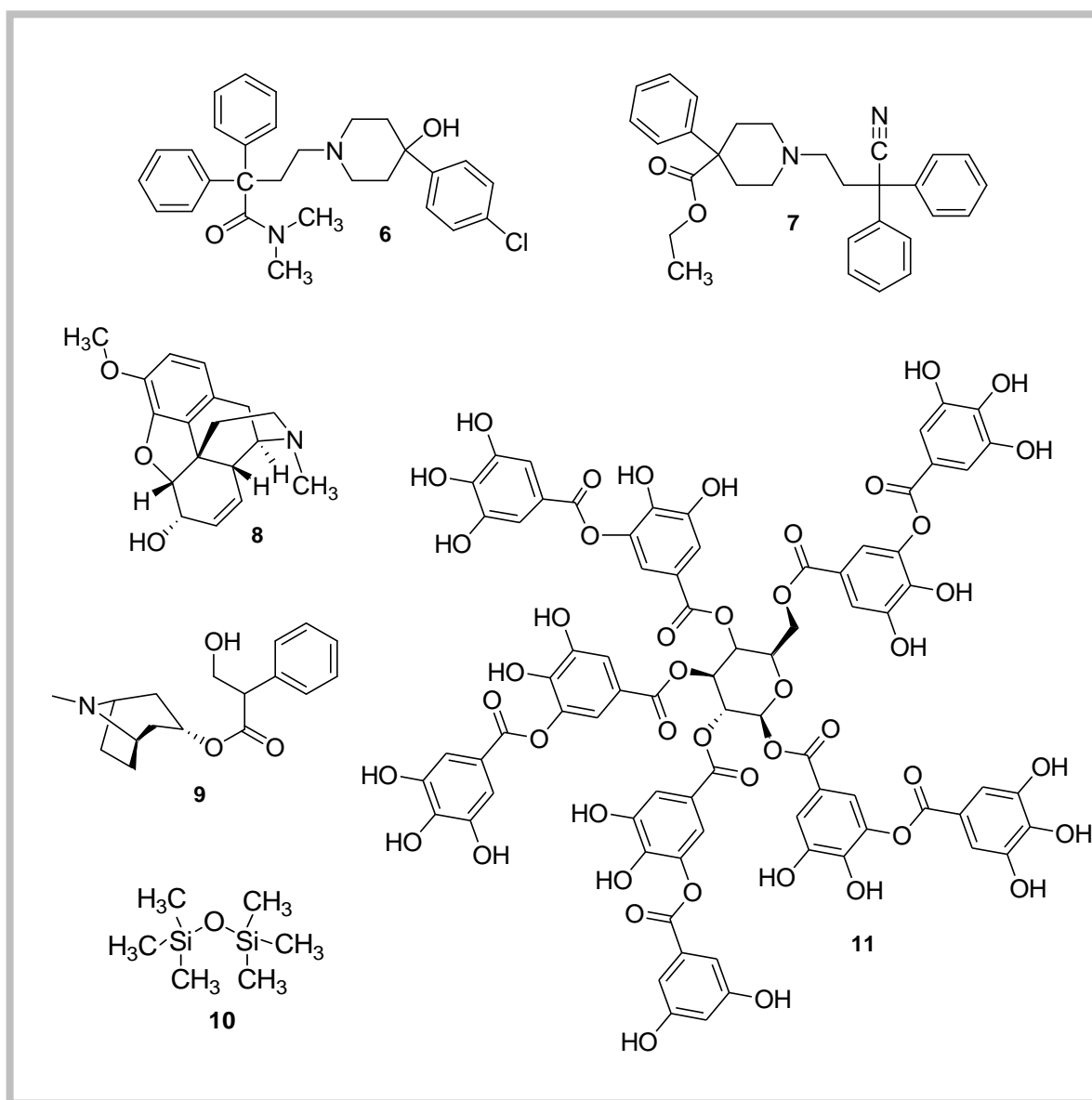
2.2.6 Modificadores del transporte electrolítico

- Aminosalicilatos: sulfasalazina (**16**) y mesalazina (**17**). Estos fármacos, reducen la inflamación intestinal e inhiben la secreción de cloruro (Gennaro, A.R., 2003).

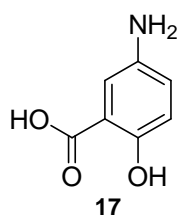
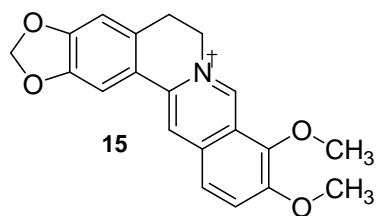
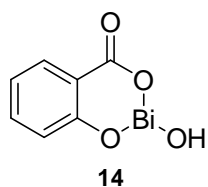
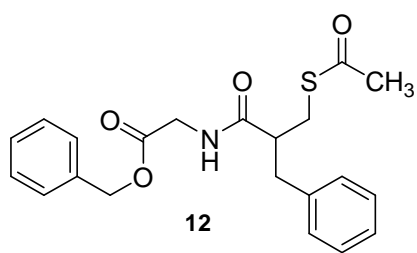
- Glucocorticoides. Se utiliza beclometasona (**18**), metilprednisolona (**19**) y triamcinolona (**20**), así como budesonida (**21**), para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal como alternativa ante aquellos fármacos que no son tolerados.

En el siguiente cuadro se esquematizan los fármacos empleados para el tratamiento del síndrome diarreico.

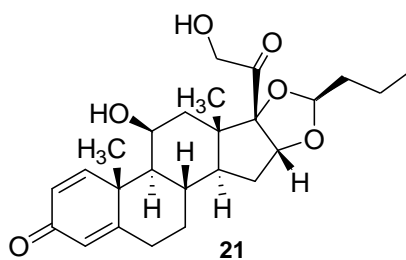
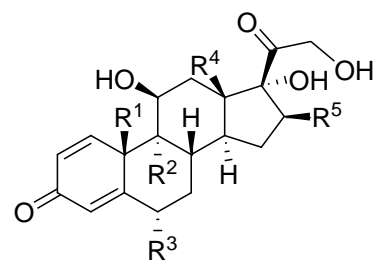
Cuadro 2. Fármacos empleados para el tratamiento de la diarrea



Cuadro 2. Fármacos empleados para el tratamiento de la diarrea (continuación)



	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
18	CH ₃	Cl	H	CH ₃	CH ₃
19	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃	H
20	H	F	H	H	OH



Existen en el mercado farmacéutico, una gran cantidad de agentes antidiarreicos, pero es bien sabido que pueden inducir efectos adversos como taquicardias, glaucoma, somnolencia y náuseas; el antidiarreicos más común, loperamida (6) no puede ser utilizado en niños menores de dos años, quienes representan la población más afectada por síndromes diarreicos, debido a que provoca efectos adversos serios (íleo paralítico, somnolencia y muerte) que sobrepasan su beneficio; es por esto importante buscar alternativas a los fármacos existentes que puedan ser empleados en niños y que además disminuyan los efectos adversos en los pacientes (Ucrós-Rodríguez and Mejía-Gaviria, 2009); por lo anterior, las plantas empleadas en la medicina tradicional para el tratamiento de trastornos gastrointestinales constituyen una fuente para obtención de compuestos con actividad antidiarreica.

2.3 Generalidades de la familia Plantaginaceae

La familia Plantaginaceae está formada por dos géneros (*Littorella* y *Plantago*) y entre 250 y 275 especies de las cuales la mayoría pertenece al género *Plantago*. Son llamadas “llantenos” y son plantas herbáceas anuales de origen europeo; crecen en regiones arenosas, sus hojas son basales, alternas u opuestas; son fáciles de reconocer por su hábito herbáceo de hojas arrosetadas (Castillo-García and Martínez-Solís, 2007; Vargas, 2002; Muñoz et al., 1999).

El nombre *Plantago* proviene del latín “planta”, huella o planta del pie, esto por la forma de las hojas de algunas especies. Varias especies de *Plantago*, se han empleado en medicina tradicional como laxantes, contra la fiebre, problemas relacionados con el aparato digestivo y respiratorio, cáncer, actividad hipotérmica,

así como inhibidores de bacterias causantes de infecciones en la piel (Aronson, 2009; Gálvez et al., 2005; Muñoz et al., 1999; Ringbom et al., 1998).

Se ha reportado que la infusión de las hojas de esta familia sirve como cura contra el cáncer, para el tratamiento de heridas y úlceras, sus semillas se emplean como emolientes debido a su elevado contenido de mucílagos (Castillo-García and Martínez-Solís, 2007; Allen and Hatfield, 2004; Samuelsen, 2000).

Existen estudios para algunas especies de *Plantago*, que demuestran su actividad antioxidante en el modelo de inhibición de Fe^{2+} en la peroxidación de lípidos; entre las especies estudiadas están: *Plantago coronopus*, *Plantago lanceolata*, *Plantago serraria*, *Plantago afra* y *Plantago lagopus* (Gálvez et al., 2005).

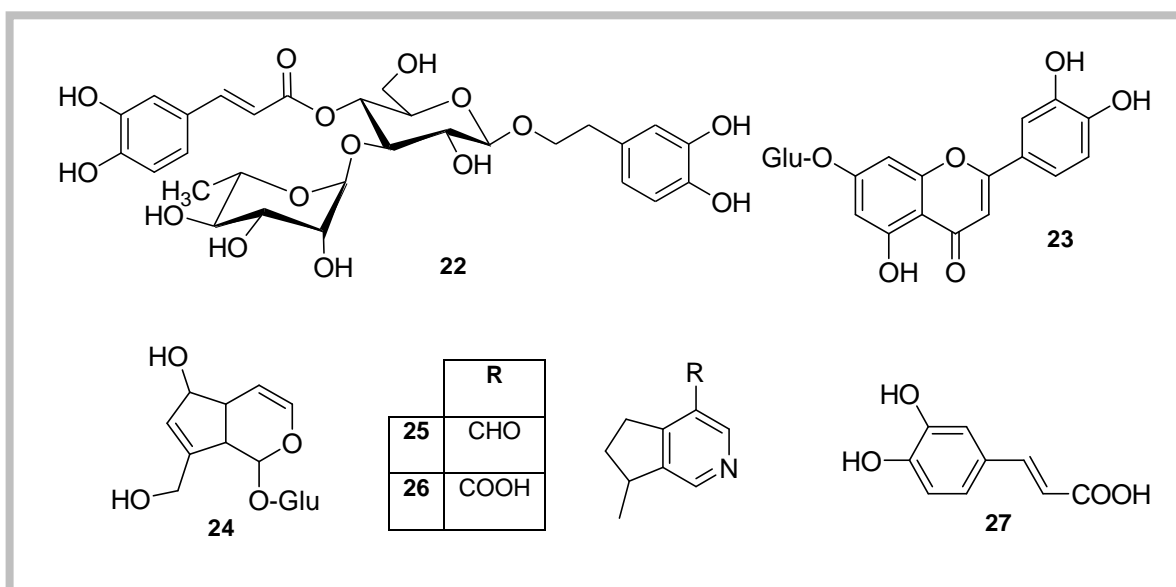
De estas especies se ha aislado: el glicósido de fenilpropanoide: acteósido (**22**), el flavonoide luteolina-7-O-glucósido (**23**) y el iridoide aucubina (**24**) (Aronson, 2009; Gálvez et al., 2005; Vargas, 2002).

Una de las especies más estudiadas, es el *P. major* de la cual se han identificado y caracterizado los alcaloides indicaina (**25**) y plantagonina (**26**), el ácido caféico (**27**) y sus derivados: ácido clorogénico (**28**), y plantamajosido (**29**), flavonoides como baicaleina (**30**), hispidulina (**31**) y plantaginina (**32**) e iridoides tales como asperulosido (**33**) y aucubina (**24**); también se han aislado catalpol (**34**), ácido gentipósido (**35**), 10-acetoximajosido (**36**), 10-hidroximajosido (**37**), melitósido (**38**) y majorósido (**39**).

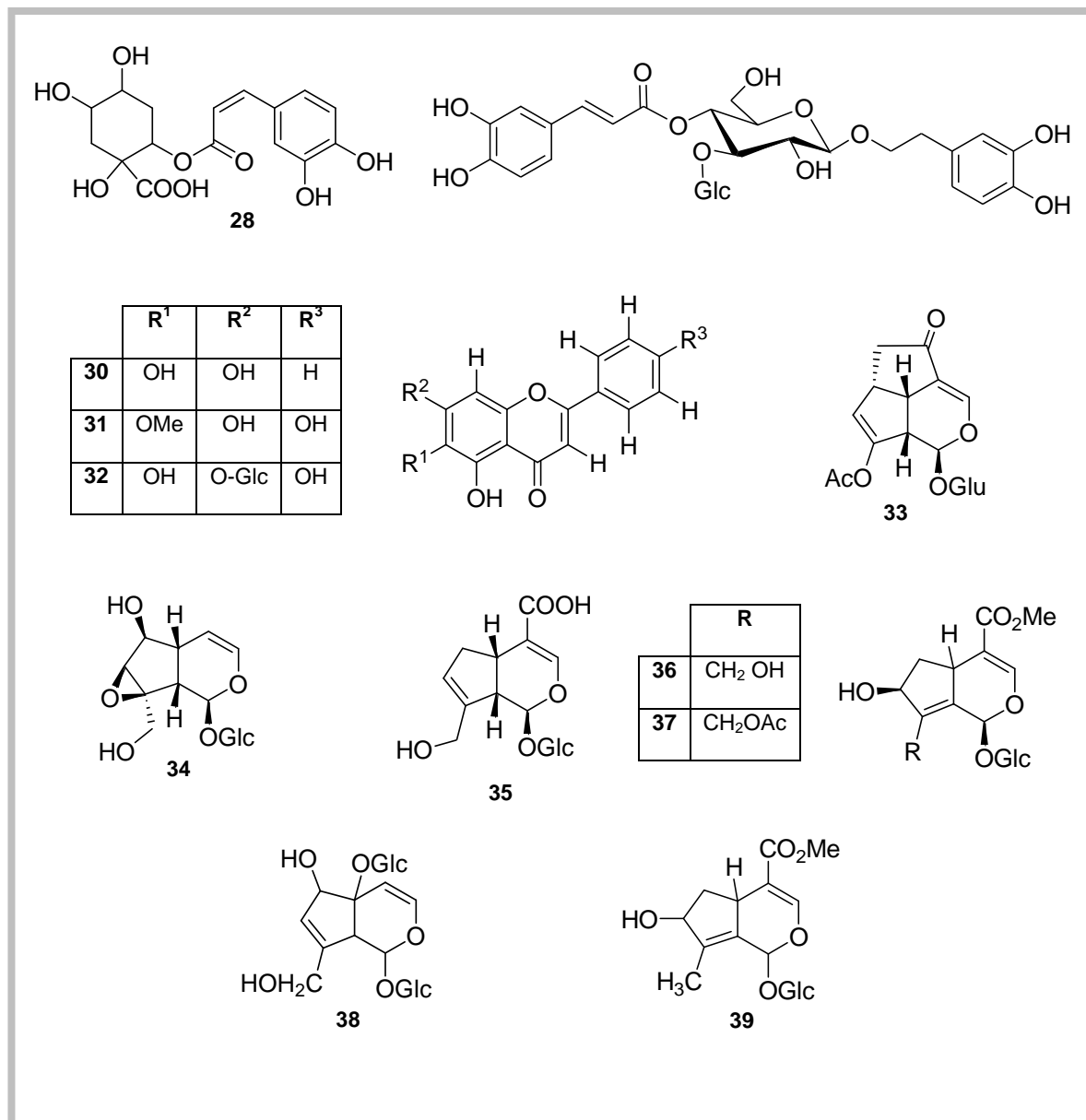
Se ha determinado que, posee actividad biológica antiinflamatoria debido al efecto inhibitorio de la aucubina (**24**) sobre TPA el cuál induce edema auricular en oreja en ratón, con un máximo efecto a dosis de 1 mg/oído el cual es muy similar al

efecto de indometacina a dosis de 5 mg/oído; también se ha estudiado su propiedad antioxidante inhibiendo la peroxidación lipídica y eliminando radicales libres de oxígeno (ROS); posee efecto hepatoprotector frente al daño hepático inducido por CCl₄ debido a su contenido en flavonoides; se ha estudiado su actividad antiviral frente a hepatitis B, herpes y polio, actividad antifúngica frente a *Fusarium tricinctum*, *Microsporum gypseum*, *Candida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae*, y actividad antibacteriana ante *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* y *Mycobacterium phlei* debido a su contenido de iridoides (Samuelsen, 2000). Los resultados atribuyen la mayoría de los efectos terapéuticos de las especies de *Plantago* a la presencia de acubina (**24**), plantamajósido (**29**) y catalpol (**34**); sin embargo, esta familia aun está siendo investigada ya que la farmacología de estas especies aún permanece sin explorar (Samuelsen, 2000; Merriman-Kirkpatrick, 1992).

Cuadro 3. Compuestos aislados de la familia Plantaginaceae



Cuadro 3. Compuestos aislados de la familia Plantaginaceae (continuación).



Estudios fitoquímicos han comprobado la presencia de taninos, sales de potasio, cumarinas, flavonoides, polifenoles, pectina, mucílagos, ácidos orgánicos, almidón y aceites comestibles (Vargas, 2002; Gálvez et al., 2005).

Pérez-Escandón del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, realizó un estudio de enfoque estatal mediante el cual presenta los resultados sobre el inventario de la flora útil del estado de Hidalgo; en este se reportan cuatro especies de la familia Plantaginaceae, distribuidas en diferentes zonas, en la tabla 1 se representan estas especies indicando nombre común y uso (Pérez-Escandón et al., 2003).

Tabla 1. Plantas de la familia Plantaginaceae en el Estado de Hidalgo

ESPECIE	NOMBRE COMÚN	USO MEDICINAL
<i>Plantago australis</i> Lam.	Llantén	Diarrea, empacho y vómito
<i>Plantago major</i> L.	Antén, Llantén	Diarrea, vómito, empacho y amibas
<i>Plantago linearis</i> var. <i>Mexicana</i>	Hierba del pastor	Diarrea
<i>Plantago lanceolata</i>	Llantén menor, siete venas	Diarrea, vómito y empacho

2.4 Generalidades de *Plantago lanceolata*.

Plantago lanceolata, pertenece a la familia Plantaginaceae, es una hierba vivaz con todas sus hojas concentradas en una o más rosetas basales. Es una hierba de 10 a 30 cm de altura. Su tallo es perenne, corto y grueso; sus hojas están alternadas, todas basales, son de 5 a 15 cm de largo pueden o no tener vellosidad. Sus flores están agrupadas en espigas cónico-ovoides en la juventud, cilíndricas al madurar siendo de 2 a 8 cm de largo. Su fruto es una cápsula ovoide

de más o menos 4 mm de longitud, contiene 1 o 2 semillas de aproximadamente 2 mm de longitud de color ámbar a café oscuro. Algunos ejemplos de *Plantago lanceolata* se muestran en la figura 3.



Figura 3. *Plantago lanceolata*

En México, la distribución de esta planta se ha registrado en Baja California, Chihuahua, Coahuila, Distrito Federal, Durango, Estado de Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Querétaro y San Luis Potosí (Pérez-Escandón et al., 2003).

En la medicina tradicional, *Plantago lanceolata* se utiliza como antiinflamatorio y expectorante, antidiarreico, astringente, emoliente, diurético y cicatrizante; es empleada contra la cistitis y hematuria, así como para el alivio de las hemorroides

y sangrados irritantes (Schmidgall et al., 2000). También tiene acciones balsámicas y constituye un buen remedio para el tratamiento de afecciones de las vías respiratorias superiores. Es empleada en el tratamiento de úlceras, picaduras de insectos y heridas en general, (Merriman-Kirkpatrick, 1992).

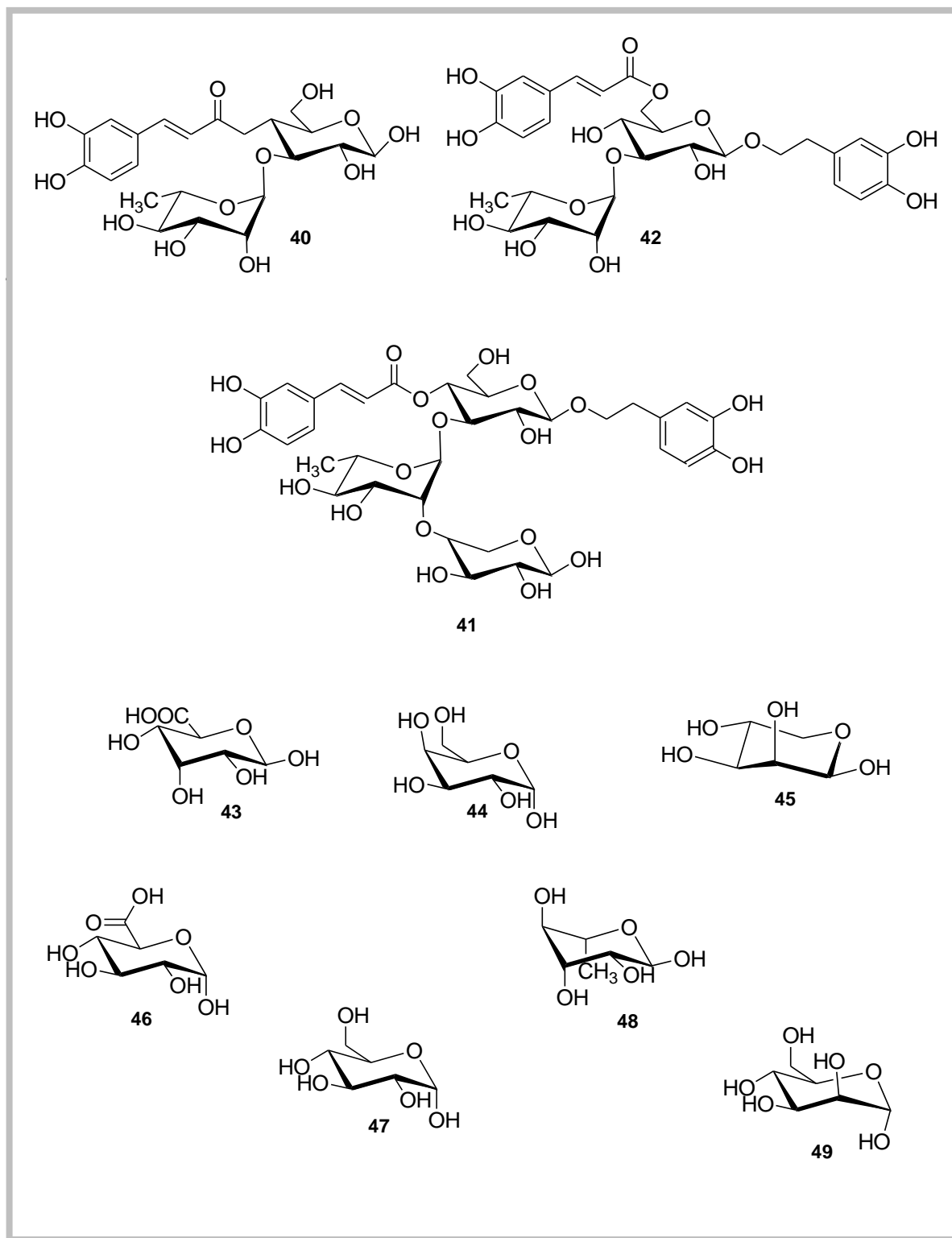
2.4.1 Compuestos aislados de *Plantago lanceolata*

Se ha descrito una composición de 2-3 % de glicósidos de iridoides como asperulósido (**33**), siendo los componentes mayoritarios aucubina (**24**) y catalpol (**34**); también se ha caracterizado acteósido (**22**) como componente mayoritario y en menores cantidades cistanósido F (**40**), lavandulifoliósido (**41**), plantamajósido (**29**) y isoacteósido (**42**) (Verotta et al., 2000).

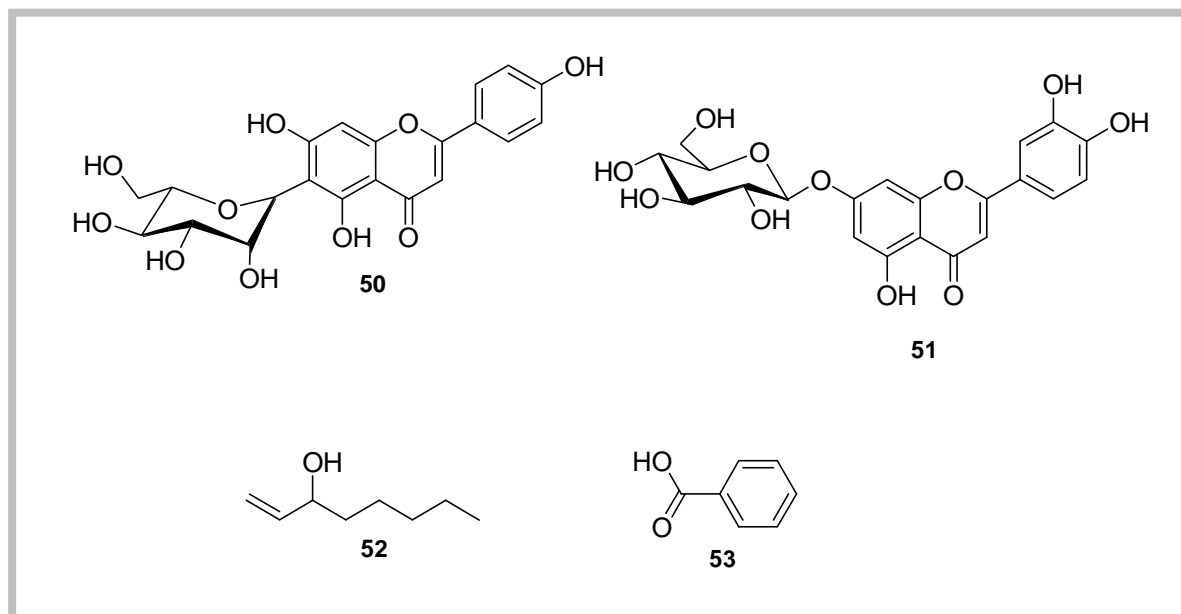
Dentro de la familia de mucílagos (2-6.5 %) se encontraron: ácido galacturónico (**43**) (30-35 %), galactosa (**44**) (28-44 %), arabinosa (**45**) (20-32 %), ácido glucorónico (**46**) (6-7 %), glucosa (**47**) (6-9 %), ramnosa (**48**) (4-7 %) y manosa (**49**) (2-4 %) (Bräutigam, M., et al., 1985). Se han aislado los flavonoides apigenina-6-C-glucósido (**50**), luteolina-7-O-glucorónido (**51**) y luteolina-7-O-glucósido (**23**) (Kawashty et al., 1994).

Se han identificado aceites como 1-en-3-octanol (**52**) (41 %) y ácido benzoico (**53**) (6.3 %). Se han aislado constituyentes inorgánicos como sales de minerales con concentraciones elevadas de zinc y potasio (Fons et al., 1998).

Cuadro 4. Compuestos aislados de *Plantago lanceolata*



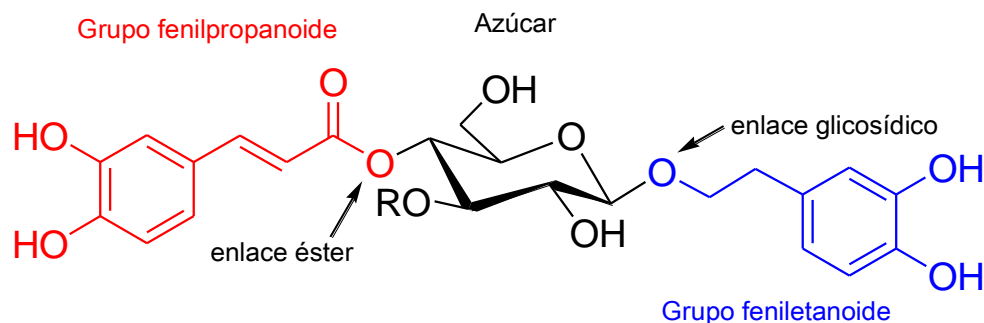
Cuadro 4. Compuestos aislados de *Plantago lanceolata* (continuación).



Como se mencionó anteriormente, uno de los compuestos que se ha identificado en *Plantago lanceolata* es el acteósido (**22**) el cual también ha sido aislado y evaluado en este trabajo de investigación; a continuación se hace referencia tanto a generalidades de glicósidos de fenilpropanoide como a estudios farmacológicos sobre este tipo de compuestos haciendo mención especial del acteósido (**22**).

2.5 Glicósidos de Fenilpropanoide

Los glicósidos de fenilpropanoide son compuestos que se caracterizan por la presencia de un grupo fenilpropanoide y otro feniletanólico unidos a un mismo azúcar mediante un enlace glicosídico y otro tipo éster (figura 4); derivan de la fenilalanina (**62**) y tirosina (**63**) vía desaminación. (Vertuani et al., 2011; Van-Wyk and Wink, 2005).



* Los grupos R pueden ser H o azúcar

Figura 4. Estructura de los glicósidos de fenilpropanoide

2.5.1 Ruta biosintética de fenilpropanoides.

La ruta del ácido siquímico (figura 5) comienza con la condensación de una molécula de eritrosa 4-fosfato (**54**) con una molécula de fosfoenolpiruvato (**55**) dando lugar al fosfato del ácido heptulosónico (**56**), el cual se cicla y forma el ácido 5-dehidroquínico (**57**) que se deshidrata y reduce dando origen al ácido siquímico (**58**). El ácido siquímico (**58**) se eterifica con fosfoenolpiruvato (**55**) formando el ácido corísmico (**59**) el cual sufre una transposición de Claisen, dando lugar al ácido prefénico (**60**), que se descarboxila y se aromatiza originando el ácido fenilpirúvico (**61**). El ácido fenilpirúvico (**61**) sufre una transaminación que da lugar a la fenilalanina (**62**) la cuál por desaminación y acción de fenilamonialosa da origen al ácido cinámico (**64**). El ácido *p*-cumárico (**65**), surge tras acción de la cinamato monooxigenasa (2) que posteriormente es transformada en ácido caféico (**27**) gracias a la enzima fenol oxidasa (Matar and Rivero, 2000; Bruneton, 1991; Harbone and Mabry, 1982; Markham, 1982).

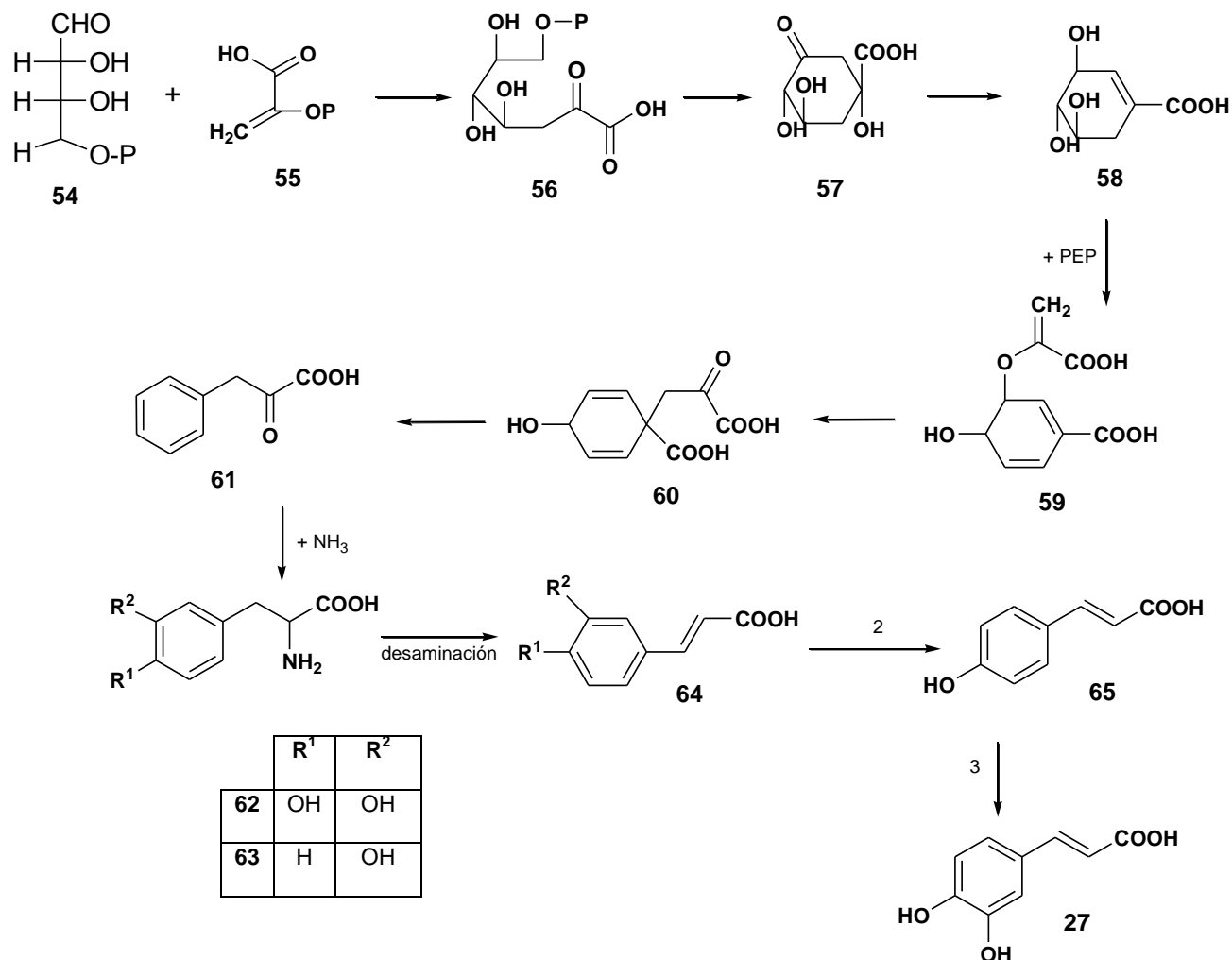


Figura 5. Ruta biosintética de fenilpropanoides

Este tipo de compuestos, se encuentran ampliamente distribuidos en plantas con actividad terapéutica contra la hipertensión, tumores y cáncer; se ha estudiado su actividad antibacteriana (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *estreptococo β-hemolítico*, *Bacterium vulgare*, *B. dysenteriae* y *Micrococcus pneumoniae*), antiviral (infecciones respiratorias) y su capacidad citotóxica frente a células cancerígenas humanas (HeLa, A-549, HCT116, ZR-75-30 y HL-60),

antinociceptiva (modelo de tail flick y writhing) y antioxidante evaluada por ensayos de su capacidad de absorción de radicales de oxígeno, reducción férrica y anión superóxido. (Georgiev et al., 2011; López-Munguía et al., 2011; Yun-Lee et al., 2011; Hai-Xeu et al., 2009; Li et al., 2008). Se cree que la aglicona es la estructura bioactiva de los glicósidos de fenilpropanoide responsable de la actividad antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatoria y antimutagénica (Vertuani et al., 2011).

2.5.2 Actividad biológica del acteósido (22)

El acteósido [2-(3,4-dihidroxifenil)etil-*O*-*L*-ramnopiranosil-(1-3)-4-*O*-cafeoil- β -*D*-gucopiranosido] (22) es un glicósido de fenilpropanoide aislado por primera vez de *Verbascum sinuatum*, también conocido con el nombre de Verbascósido (Wang et al., 2009).

Posee diversas actividades farmacológicas como actividad citotóxica contra carcinoma humano en epidermis de laringe y rabdomiosarcoma humano; hepatoprotectoras a dosis de 1.25 y 2.5 mg/Kg en ratas y ratones frente al daño hepático inducido por CCl₄ (Nabi-Qazi et al., 2006) y antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*. El acteósido (22) posee actividad antioxidante frente a DPPH, óxido nítrico y superóxido, así como en las membranas fosfolípidas y elimina de manera significativa los radicales libres biológicamente activos; es también un inhibidor de la peroxidación de lípidos (Cardinali, 2012; Yun-Lee et al., 2011; Olivier et al., 2010); existe evidencia de que posee actividad neuroprotectora, ya que inhibe la muerte neuronal provocada por el ión 1-metil-4-

fenilpiridino (MMP⁺) y glutamato, así mismo ejerce un efecto neuroprotector sobre la lesión neurotóxica que provoca Alzheimer (Wang et al., 2009).

Mediante la prueba de Writhing, se ha demostrado que el acteósido (**22**) posee mayor actividad antinociceptiva que el ibuprofeno a dosis similares (43.7mg/Kg acteósido (**22**) 67.3% y 31.2 mg/Kg ibuprofeno con actividad de 50%) y en la prueba de tail-flick su actividad es muy similar, el acteósido (**22**) a una dosis de 137.6 mg/Kg presenta un porcentaje de actividad de 27.5%, mientras que la del ibuprofeno a 45.4 mg/Kg es de 25.0% (Backhouse et al., 2008); su potente actividad antiinflamatoria, se debe a que inhibe la acumulación de moléculas pro-inflamatorias como el óxido nítrico y citoquinas; presenta también efectos vasodilatadores, y actividad antihiperalgésica (Gómez-Aguirre et al., 2012).

3 JUSTIFICACIÓN

El estudio químico de plantas medicinales ha contribuido al conocimiento de principios activos con probable uso en el tratamiento de algunas enfermedades. El estado de Hidalgo, es uno de los que poseen mayor biodiversidad en vegetales, y es también uno en los que tradicionalmente se recurre al empleo de plantas medicinales para el tratamiento de diferentes padecimientos.

Esta investigación tiene como propósito evaluar farmacológica y químicamente a *Plantago lanceolata*, una especie medicinal que ha sido empleada como antidiarreico, por lo tanto la evaluación de los extractos metanólico y clorofórmico, brindará un conocimiento sobre sustancias con potencial uso en este padecimiento.

4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La incidencia de pacientes con diarrea, primordialmente niños, en nuestro país y a nivel mundial sigue representando una de las principales causas de muerte. En nuestro país, la diarrea representa la segunda causa de muerte en niños (OMS, 2010). En el estado de Hidalgo se han registrado 26 mil 305 casos de diarrea en el primer semestre del 2012, que comparado con los datos del año 2011 a la misma fecha, representa un incremento del 11.9 % (SSH, 2012) en niños menores de 5 años.

La prevalencia de diarrea es similar a la reportada a nivel nacional (12.9 %) y se presenta con mayor frecuencia en hombres. La diarrea es un síntoma común por lo cual es motivo de estudio en todo el mundo; en este sentido los productos naturales representan una importante fuente para la obtención de principios activos con actividad antidiarreica, de ahí la importancia de evaluar la actividad biológica y la fitoquímica de *Plantago lanceolata*, especie que ha sido empleada en la medicina tradicional de Hidalgo para el tratamiento entre otras cosas, del síndrome diarreico.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto antidiarreico del extracto metanólico y clorofórmico de las partes aéreas de *Plantago lanceolata* utilizando el modelo de motilidad gastrointestinal y posteriormente realizar el estudio fitoquímico del extracto activo.

5.2 Objetivos particulares

- 5.2.1 Obtener los extractos metanólico y clorofórmico de *Plantago lanceolata*.
- 5.2.2 Evaluar mediante el modelo de motilidad gastrointestinal la actividad antidiarreica de los extractos metanólico y clorofórmico.
- 5.2.3 Realizar el estudio fitoquímico del extracto activo.
- 5.2.4 Separar mediante métodos cromatográficos los compuestos del extracto activo.
- 5.2.5 Identificar los compuestos aislados mediante técnicas de análisis espectroscópico.

6 HIPÓTESIS

Sí *Plantago lanceolata* es empleado en la medicina tradicional del Estado de Hidalgo para el tratamiento de la diarrea, entonces su estudio biodirigido mediante el método de motilidad gastrointestinal derivará en el aislamiento y caracterización de compuestos con actividad antidiarreica.

7 MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Espectros de resonancia magnética nuclear

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H se obtuvieron a 400 MHz y ^{13}C a 100 MHz en un equipo VARIAN 400 en DMSO- d_6 y utilizando como referencia interna TMS. Los desplazamientos químicos (δ) están reportados en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento se reportan en hertz (Hz).

7.2 Análisis cromatográfico

La cromatografía de adsorción en columna abierta se realizó sobre gel de sílice (60 Merck, malla 70-230 ASTM). Para la cromatografía en capa fina (CCF) analítica se utilizaron placas de aluminio (cromatofolios Merck Alugram sil G/UV F₂₃₄) y como disolventes cloroformo, metanol, hexano, acetona, etanol y agua. Como revelador se utilizó sulfato cérico, ácido sulfúrico al 10% en EtOH, cloruro férrico y vainillina.

7.3 Obtención e identificación del material vegetal

La colecta de *Plantago lanceolata*, se realizó en la comunidad de Acaxochitlán en el estado de Hidalgo. Un ejemplar se depositó en el Herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social y la identificación se está llevando a cabo por la Dra. Abigail Aguilar Contreras.

7.4 Operaciones preliminares

El material vegetal colectado fue limpiado y secado en un sitio ventilado a temperatura ambiente durante 10 días. Una vez seco, se separó en partes aéreas (hojas y tallo) y flores y se sometieron a molienda mecánica.

7.5 Obtención del extracto crudo

Las partes aéreas secas y molidas se extrajeron utilizando metanol y cloroformo (500 mL x 3) por maceración durante 7 días a temperatura ambiente. El filtrado se evaporó a sequedad, bajo presión reducida hasta la obtención de los extractos crudos. Los rendimientos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Rendimiento de la obtención de extractos

Extracto	Planta (g)	Extracto (g)	R (%)
MeOH partes aéreas	407.0	93.8	23
MeOH flores	46.0	7.8	17
CHCl ₃ partes aéreas	357.0	91.1	26
CHCl ₃ flores	43.0	6.1	14

7.6 Fraccionamiento del extracto activo

Una parte del extracto metanólico de las partes aéreas (20 g) se sometió a partición empleando cloroformo (100 mL x 3), acetato de etilo (100 mL x 3) y agua (300 mL).

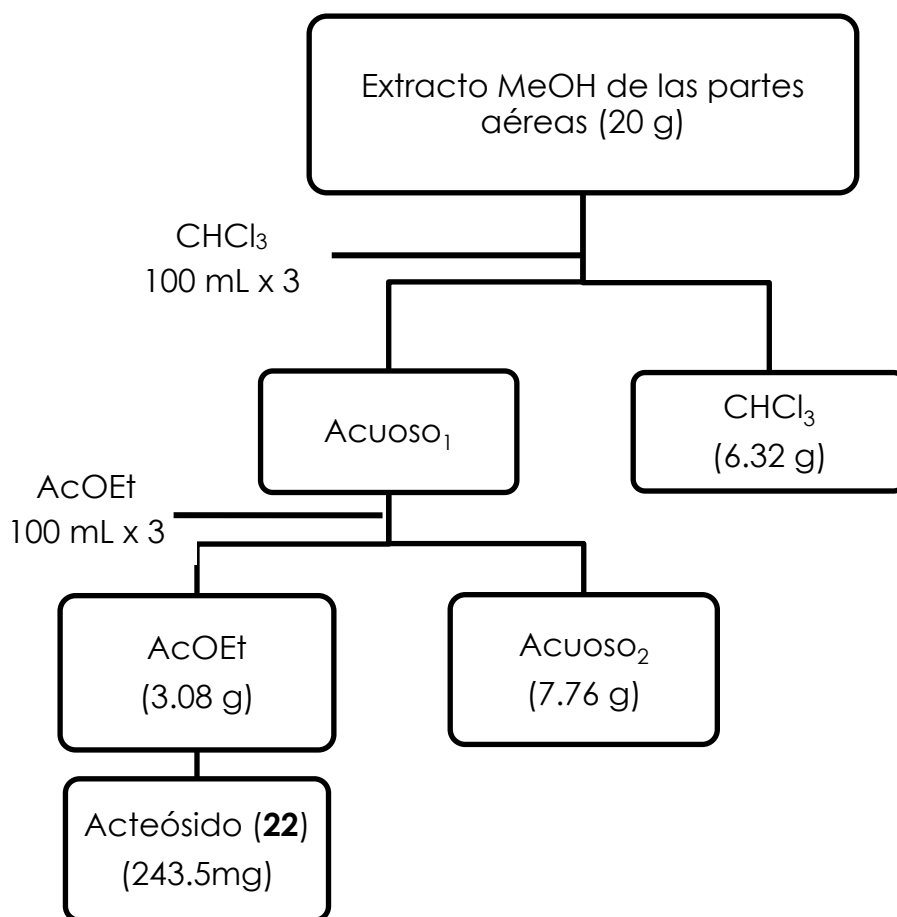


Figura 6. Fraccionamiento por partición del extracto metanólico de las partes aéreas de *Plantago lanceolata*

7.7 Obtención del acteósido (22)

La fracción de AcOEt (1.48 g) se sometió a un fraccionamiento secundario por cromatografía en columna abierta, empleando como fase estacionaria gel de sílice (10 g); se utilizó como eluyente una mezcla ternaria de MeOH-AcOEt-HEX (1:2:1). Se obtuvieron 10 fracciones de 37 mL cada una las cuales fueron agrupadas en función a sus características cromatográficas, quedando cuatro fracciones

secundarias (F₁ a F₄). En la Tabla 3 se resume el fraccionamiento secundario incluyendo la cantidad obtenida.

Tabla 3. Resumen del fraccionamiento secundario

Fracción	Peso (g)
F ₁	0.0499
F ₂	0.5236
F ₃	0.0136
F ₄	0.0069

La fracción F₂ (0.450 g) se purificó mediante cromatografía en columna abierta empleando una columna (10 mm x 80 cm) y como fase estacionaria gel de sílice (10 g), empleando una mezcla ternaria de CHCl₃-H₂O-MeOH [(50:0.2:4); (45:0.2:3.1); (40:0.2:3.0); (35:0.2:2.8); (30:0.2:2.6); (25:0.2:2.4); (20:0.2:2.3); (15:0.2:2.0); (10:0.2:1.8); (5:0.2:1.5); (0:0.2:1.4)]. Se obtuvieron 95 fracciones de 14 mL cada una, las cuales se agruparon en función a sus características cromatográficas, quedando 14 fracciones terciarias (F₂₋₁ - F₂₋₁₄) (tabla 4).

De la fracción F₂₋₁₀, eluida con CHCl₃-H₂O-MeOH (5:0.2:1.5), se obtuvieron 243.5 mg de acteósido (**22**), como un sólido ámbar soluble en metanol, de fórmula molecular C₂₉H₃₂O₁₅ y un peso de 624.61 g/mol, con un rendimiento del 1.2 %.

Tabla 4. Obtención del acteósido (**22**)

Fracción	Peso (mg)
F₂₋₁	3.7
F₂₋₂	4.0
F₂₋₃	1.4
F₂₋₄	7.7
F₂₋₅	9.3
F₂₋₆	6.1
F₂₋₇	4.7
F₂₋₈	9.4
F₂₋₉	23.9
F₂₋₁₀	243.5
F₂₋₁₁	11.3
F₂₋₁₂	2.5
F₂₋₁₃	5.6
F₂₋₁₄	8.3

7.8 Animales utilizados

Se emplearon ratas Wistar albinas (100-150 g) obtenidas en el bioterio de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Los animales se mantuvieron en condiciones normales de temperatura y humedad; fueron alimentados con una dieta estándar y agua. Los animales se mantuvieron en ayuno de 24 horas previo

a los experimentos, con acceso libre de agua. El cuidado y manejo de los animales se realizó en función a las especificaciones técnicas establecidas por la NOM-062-ZOO-1999 (SAGARPA, 1999).

7.9 Determinación de la actividad antidiarreica

Se empleó el modelo de motilidad gastrointestinal, en el cual se dividieron los animales en seis grupos de cinco animales cada uno, al control positivo se le administró loperamida (2.5 mg/Kg), y el control negativo recibió 1 mL al 1 % de Tween 80 en agua por vía gastrointestinal. Los extractos, fracciones y compuesto puro, fueron administrados por la misma ruta. Después de una hora, se administró la solución de marcaje (carbón activado en goma arábica al 1.5 %) e inmediatamente se administró 1 mL de aceite de ricino. Pasados 60 minutos, los animales fueron sacrificados para remover su tracto intestinal y se midió la distancia recorrida por el carbón activado (Tangpu, *et al.*, 2004; Agbor, *et al.*, 2004; Pérez, S., *et al.*, 2005).



Figura 7. Modelo de motilidad gastrointestinal

Los extractos clorofórmico y metanólico de las partes aéreas y flores, fueron evaluados a dosis de 300 mg/Kg. Posteriormente, se realizó la evaluación del extracto metanólico de las partes aéreas a dosis de 150, 300 y 600 mg/Kg.

El extracto metanólico de las partes aéreas fue sometido a fraccionamiento por partición de CHCl_3 , AcOEt y H_2O y evaluado a dosis de 50 mg/Kg. Finalmente se evaluó el compuesto puro a una dosis de 10 mg/Kg. Los resultados se expresan como porcentaje de la longitud total del intestino desde el píloro al ciego.

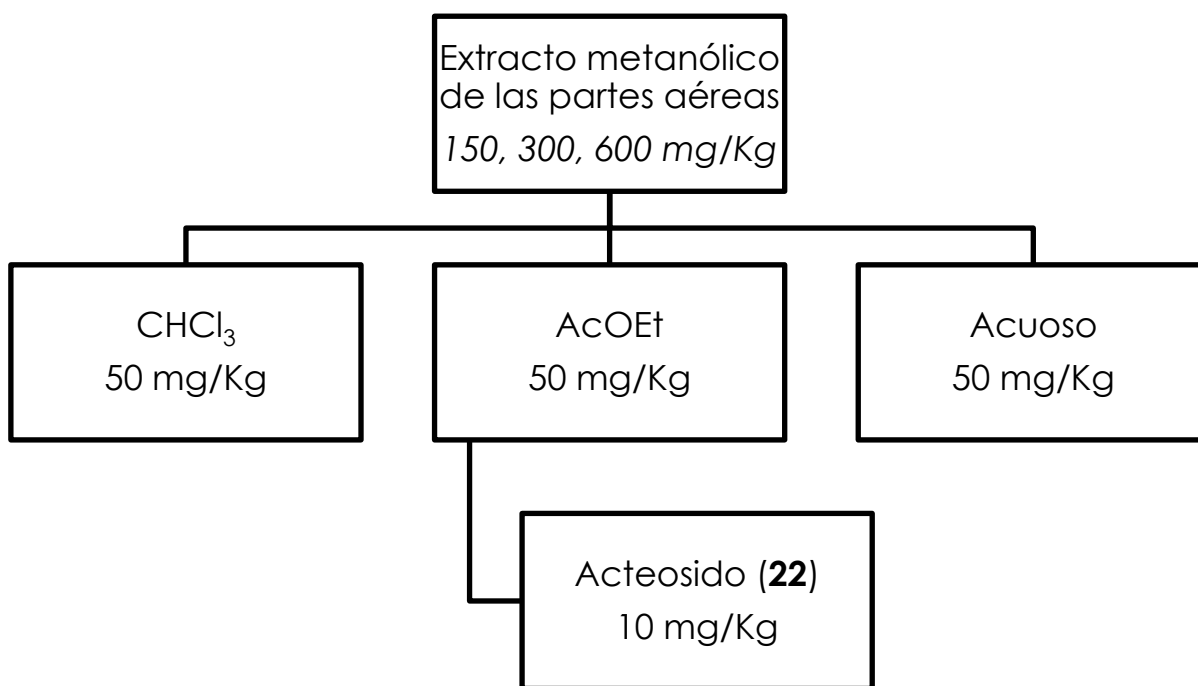


Figura 8. Resumen de las dosis utilizadas para la evaluación biológica del extracto MeOH de las partes aéreas de *Plantago lanceolata*

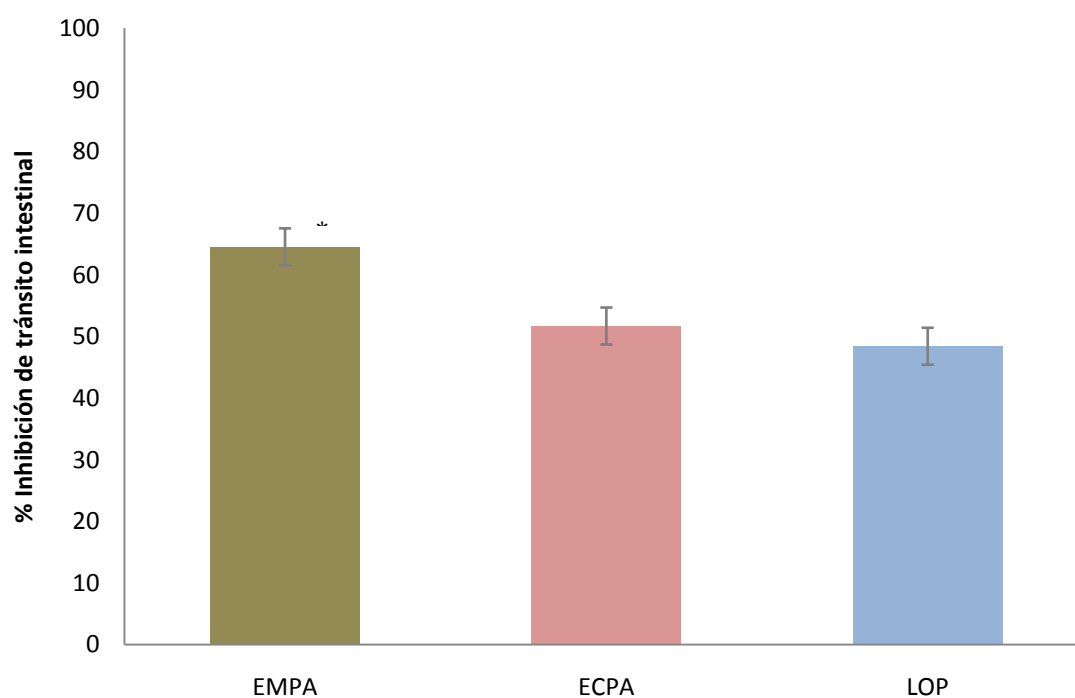
7.10 Análisis estadístico

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

8 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Determinación del extracto biológicamente activo mediante el modelo de motilidad gastrointestinal

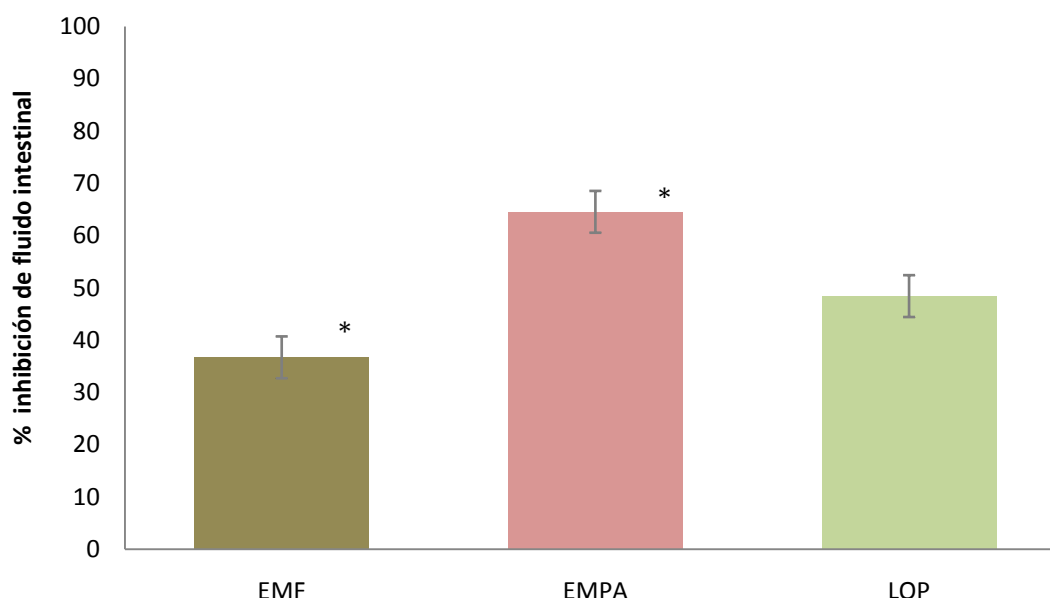
Ambos extractos mostraron inhibición del tránsito intestinal al ser evaluados a dosis de 300 mg/Kg; el extracto metanólico de las partes aéreas mostró la mayor actividad antidiarreica del 64.53 % de inhibición, superior al fármaco control, seguido por el extracto clorofórmico de partes aéreas, con una inhibición del 51.69 %.



Los valores representan el promedio \pm su desviación estándar, $n = 5$ (300 mg/Kg), EMPF = Extracto metanólico de flores, EMPA = Extracto metanólico de partes aéreas, LOP =loperamida (2.5 mg/Kg). $p < 0.05$

Gráfica 2. Porcentaje de inhibición del tránsito intestinal de los extractos CHCl_3 y MeOH de las partes aéreas de *Plantago lanceolata*

Debido a que el extracto metanólico de las partes aéreas mostró mayor inhibición del tránsito intestinal, se evaluó junto con el extracto metanólico de las flores a la misma dosis y se observó que las partes aéreas conservan su actividad antidiarreica mientras que el extracto de las flores muestra una actividad menor a la del fármaco control, siendo su porcentaje de inhibición 36.70 %. Debido a que el extracto metanólico de partes aéreas presentó mayor actividad antidiarreica, se procedió a su evaluación a diferentes dosis.

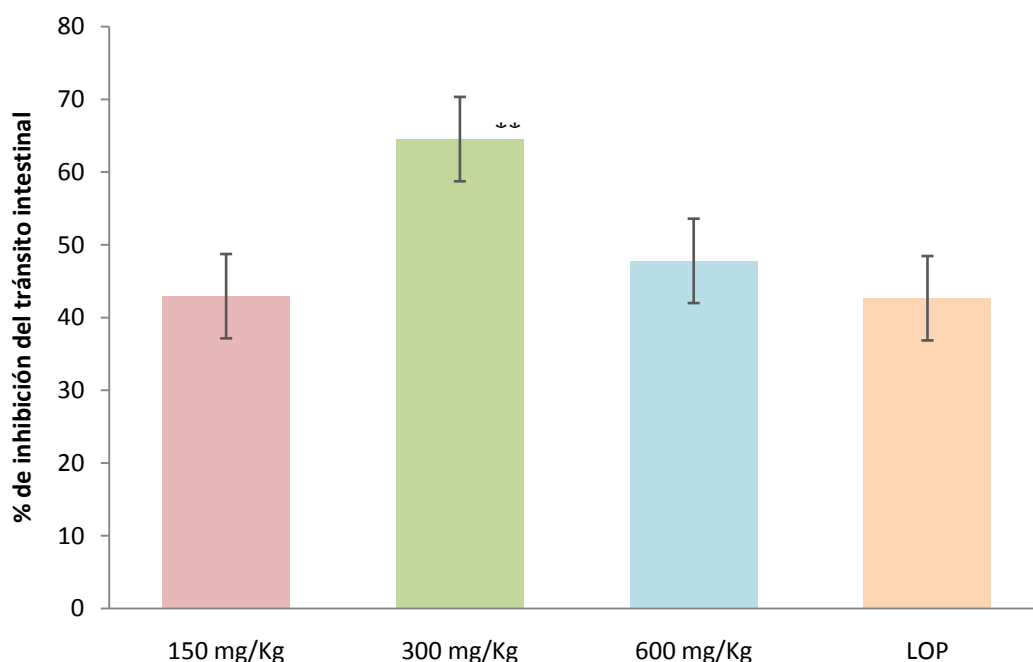


Los valores representan el promedio \pm su desviación estándar, $n = 5$ (300 mg/Kg), EMF = Extracto metanólico de flores, EMPA = Extracto metanólico de partes aéreas, LOP =loperamida (2.5 mg/Kg). $p < 0.05$

Gráfica 3. Porcentaje de inhibición del tránsito intestinal de los extractos metanólicos de las flores y partes aéreas

Al evaluar la actividad antidiarreica del extracto metanólico de las partes aéreas de *Plantago lanceolata* a dosis de 150, 300 y 600 mg/Kg se observó un fenómeno de

hormesis, ya que su actividad biológica no tiene relación con la dosis; es importante destacar que su actividad antidiarreica es similar a la de la loperamida (6) a dosis de 150 mg/Kg (42.93 %) y 600 mg/Kg (47.78 %), observándose que a 300 mg/Kg la actividad antidiarreica es superior a la mostrada por el fármaco control.

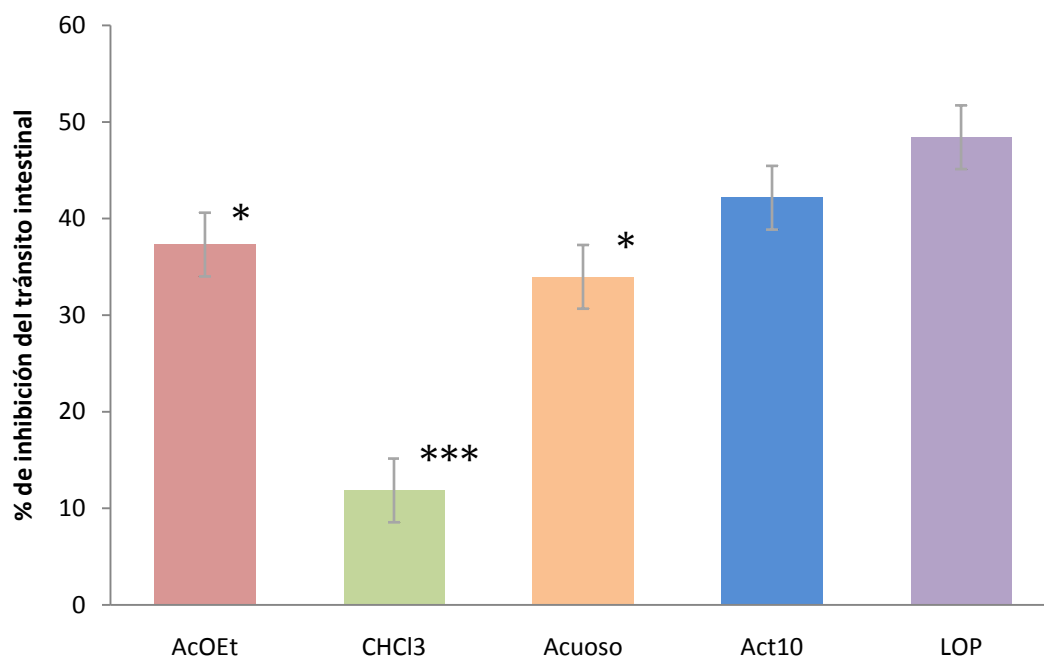


Los valores representan el promedio \pm su desviación estándar, $n = 5$ (150, 300 y 600 mg/Kg). LOP =loperamida (2.5 mg/Kg). $p < 0.05$

Gráfica 4. Porcentaje de inhibición del tránsito intestinal del extracto metanólico de las partes aéreas a diferentes dosis

La evaluación de las fracciones obtenidas de la partición del extracto metanólico de las partes aéreas se realizó a dosis de 50 mg/Kg, observándose que la fracción de acetato de etilo presentó mayor inhibición (37.30 %), seguida por la fracción acuosa con 33.96 % de inhibición; la fracción clorofórmica mostró baja actividad

con 11.84 % de inhibición. La actividad antidiarreica mostrada por acteósido (**22**) a dosis de 10 mg/Kg fue de 42.15 %; es importante destacar que no se observa diferencia significativa con el fármaco control loperamida (**6**).



Los valores representan el promedio \pm su desviación estándar, $n = 5$ ratas (50 mg/Kg) AcOEt = Fracción de acetato de etilo, CHCl₃ = fracción clorofórmica, acuoso = fracción acuosa, Act10 = acteósido a 10 mg/Kg, LOP = loperamida. $p < 0.05$

Gráfica 5. Porcentaje de inhibición del tránsito intestinal de las fracciones y del compuesto puro.

Los resultados demostraron, que ambos extractos, tanto el metanólico como el clorofórmico, disminuyen el tránsito intestinal. El extracto metanólico de las partes aéreas fue el extracto con mejor actividad antidiarreica; en base a lo reportado por Backhouse y colaboradores, respecto a la importante actividad antinociceptiva del acteósido (**22**) (67.3 %) que comparada con el ibuprofeno (31.2 %) es mayor a dosis similares para la prueba de Writhing, mientras que en la prueba de tail-flick a

una dosis de 137.6 mg/Kg presenta un porcentaje de actividad de 27.5 %, muy similar a la del ibuprofeno a 45.4 mg/Kg (25.0 %) (Backhouse, N., *et al.*, 2008), podemos suponer que podría contribuir en el tratamiento del dolor de estómago, justificándose así, el uso que tradicionalmente se le da a *Plantago lanceolata* para el tratamiento de trastornos gastrointestinales como es la diarrea y el dolor de estómago.

8.2 Elucidación estructural del acteósido (22)

8.2.1 Resonancia magnética nuclear de ^1H a 400 MHz en $\text{DMSO}-d_6$

La estructura del acteósido (22) fue elucidada mediante el espectro de RMH ^1H a 400 MHz en $\text{DMSO}-d_6$ (figura 9). Se observaron dos señales dobles a δ_{H} 7.45 ($J=15.8$, H7) y δ_{H} 6.19 ($J=15.8$, H8), correspondientes al doble enlace *trans*, así como la presencia de dos señales dobles en δ_{H} 7.02 ($J=1.7$, H2) y 6.75 ($J=8.1$, H5) para el anillo bencénico y una señal doble de dobles en δ_{H} 6.97 ($J=8.1$, 1.7, H6) atribuidas a la presencia un residuo cafeico. Se estableció la presencia de otro anillo aromático *orto*-sustituido por las tres señales aromáticas a δ_{H} 6.62 (s, H2') y 6.62 (d, $J=8.3$, H5'), y una tercera doble de dobles a δ_{H} 6.49 ($J=8.2$, 1.77, H6') así como dos multipletes correspondientes al etileno, a δ_{H} 2.69 (m, H7') y 3.59 (m, H8') (figura 10) atribuidas al feniletanoide.

Las señales en la región de δ_{H} 3.10-3.7 sugieren la presencia de azúcares; la señal doble a δ_{H} 0.95 ($J=6.1$) permite determinar la presencia de una unidad de ramnosa; la señal simple a δ_{H} 5.01 se asignó al H anomérico de la ramnosa, lo que nos indica que se encuentra unido en posición α a otra unidad de azúcar. En δ_{H}

4.34, se observa una señal doble ($J=7.8$) asignada al H anomérico de la glucosa en posición β (Abd El-Mawla et al., 2005; Akdemir, et al., 2004).

En la tabla 8, se muestra el desplazamiento de cada señal, la multiplicidad y sus respectivas constantes de acoplamiento, así como la referencia con la cual fueron comparadas.

Tabla 5. Datos de RMN ^1H (400 MHz) en DMSO- d_6 de acteósido (22)

Posición	δ (ppm), multiplicidad y J en Hz	Referencia ^{1,2}
2	7.02 d (1.7)	7.02 d (1.8)
5	6.75 d (8.1)	6.75 d (8.2)
6	6.97 dd (8.1, 1.7)	6.97 dd (8.2, 1.8)
7	7.45 d (15.8)	7.46 d (15.8)
8	6.19 d (15.8)	6.19 d (15.8)
2'	6.62 s	6.66 s
5'	6.62 d (8.3)	6.66 d (7.6)
6'	6.49 dd (8.2, 1.8)	6.50 dd (8.07, 1.9)
7'	2.69 m	2.69 m
8'	3.59 m	3.60 m
1''	4.34 d (7.8)	4.33 d (7.8)
2''	3.21 dd (8.7, 8.2)	3.24 dd (8.8, 7.6)
3''	3.60 m	3.68 m
4''	4.71 t (9.6)	4.75 t (9.4)
5''	3.47 m	3.47 m
6''	3.45 m	3.38 m
1'''	5.02 s	5.01 s
2'''	3.67 m	3.69 m
3'''	3.26 m	3.27 m
4'''	3.10 t (9.6)	3.14 t (9.4)
5'''	3.40 m	3.34 m
6'''	0.95 d (6.1)	0.95 d (6.1)

¹Abd El-Mawla, et al., 2005; ² Akdemir, et al., 2004.

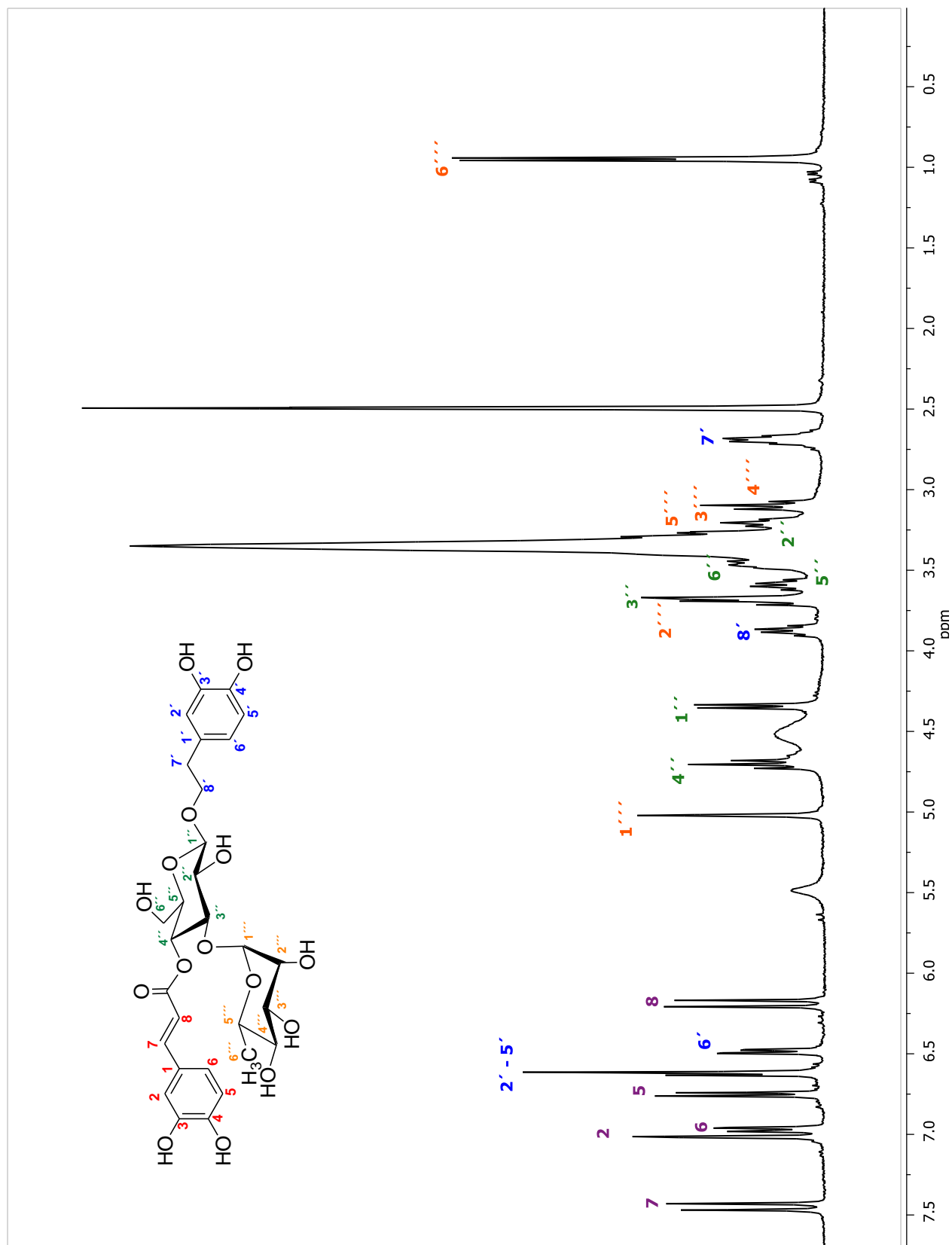


Figura 9. Espectro de RMN ^1H del acteósido (**22**) a 400 MHz en $\text{DMSO}-d_6$

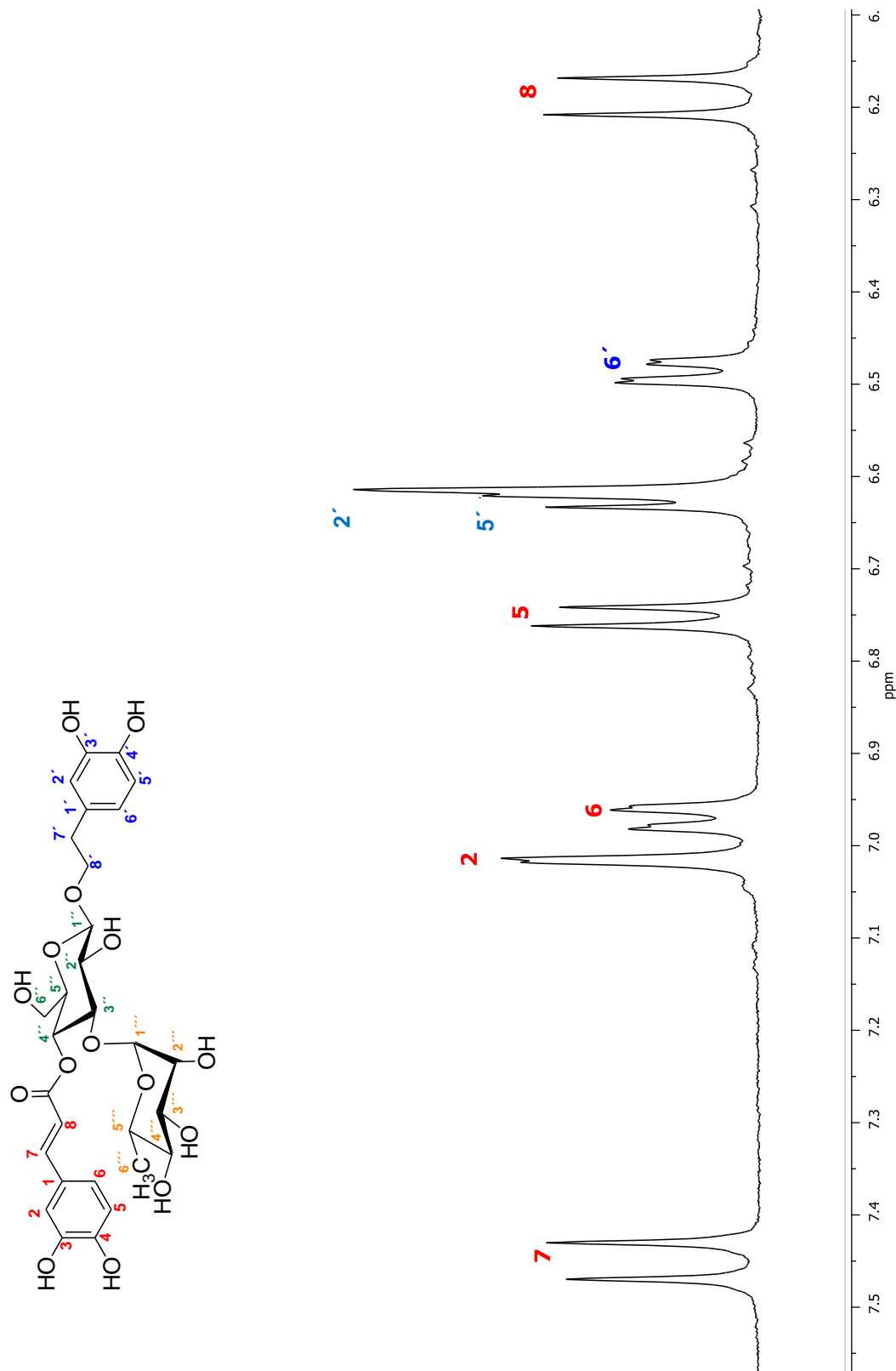


Figura 10. Ampliación de la región aromática del espectro de RMN ^1H del acteósido (22) a 400 MHz en DMSO- d_6

8.2.2 Resonancia magnética nuclear de ^{13}C a 100 MHz en DMSO- d_6

Se realizó el espectro de RMH ^{13}C a 100 MHz en DMSO- d_6 (figura 11); El espectro indicó la presencia de 12 señales aromáticas correspondientes a los anillos bencénicos: las señales correspondientes al anillo aromático del residuo de feniletanoide se encuentran a δ_c 129.3 (1'), 116.5 (2'), 145.2 (3'), 143.7 (4'), 116.7 (5') y 119.7 (6') así como dos señales para un grupo etileno con enlace O-glicosídico a δ_c 35.2 (7') y 70.5 (8'). Las otras señales son las correspondientes al anillo aromático del residuo cafeico a δ_c 125.7 (1), 114.8 (2), 148.6 (3), 145.7 (4), 116.0 (5) y 121.7 (6) junto con las señales del doble enlace a δ_c 145.7 (9) y 113.6 (8) y la señal para carbonilo a δ_c 165.8.

Se observaron señales correspondientes a las unidades de ramnosa y glucosa en la región de δ_c 60.9 a 74.6, así como la señal en δ_c 101.3 correspondiente a la posición 1''' de la ramnosa y su señal en a δ_c 18.2 de la posición 6'''. Para la glucosa se observó una señal a δ_c 102.4 correspondiente a la posición 1'' (Abd El-Mawla et al., 2005). En la tabla 6 se muestran los desplazamientos químicos en partes por millón y su referencia.

Tabla 6. Datos de RMN ^{13}C (100 MHz) en DMSO- d_6 de acteósido (22)

Posición	δ (ppm)	Referencias ¹
1	125.7	125.6
2	114.8	114.7
3	148.6	148.5
4	145.7	145.7
5	115.9	115.9
6	121.7	121.6
7	145.7	145.6
8	113.7	113.6
C = O	165.9	165.8
1'	129.3	129.2
2'	116.5	116.4
3'	145.1	144.9
4'	143.7	143.7
5'	115.7	115.6
6'	119.7	119.6
7'	35.2	35.1
8'	70.5	70.4
1''	102.4	102.4
2''	74.6	74.1
3''	79.3	79.3
4''	69.2	69.2
5''	74.7	74.5
6''	60.9	60.8
1'''	101.5	101.3
2'''	70.7	70.7
3'''	70.5	70.4
4'''	71.8	71.7
5'''	68.9	68.8
6'''	18.4	18.2

¹Abd El-Mawla, A. M. A., *et al.*, 2005.

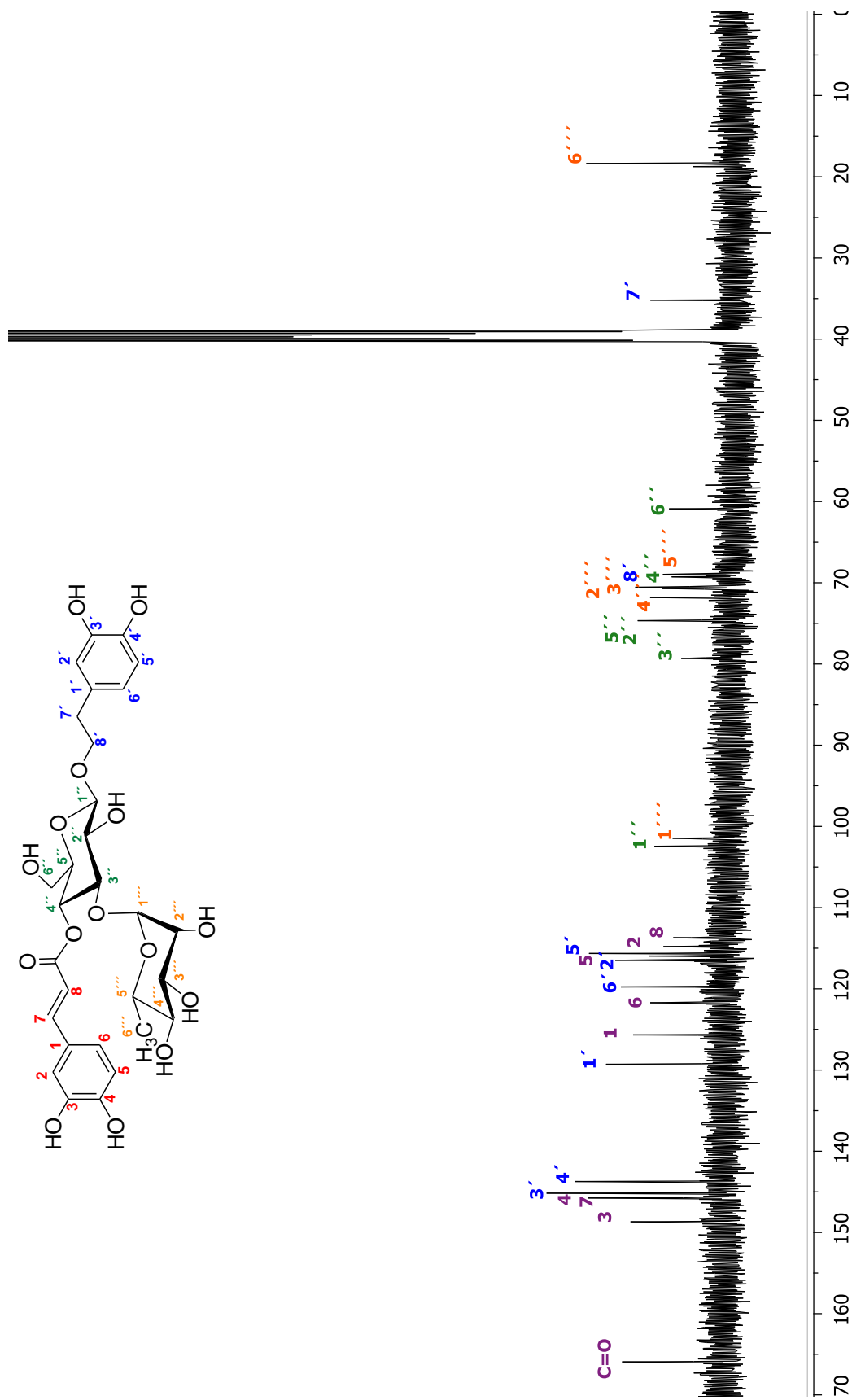


Figura 11. Espectro de RMN ^{13}C del actósido (**22**) a 100 MHz en $\text{DMSO}-d_6$

9 CONCLUSIONES

- 9.1 Los extractos metanólico y clorofórmico de las partes aéreas de *Plantago lanceolata* presentaron actividad antidiarreica en el modelo de motilidad intestinal a dosis de 300 mg/Kg.
- 9.2 El estudio fitoquímico biodirigido de las partes aéreas del extracto metanólico de *P. lanceolata* condujo al aislamiento de acteósido (**22**).
- 9.3 El acteósido (**22**), además de ser el compuesto mayoritario, contribuye a la actividad antidiarreica mostrada por *P. lanceolata*.
- 9.4 Los resultados obtenidos, proporcionan un soporte científico sobre el empleo tradicional que se hace de *P. lanceolata* en el tratamiento de trastornos gastrointestinales.
- 9.5 Este trabajo de investigación es una contribución al conocimiento farmacológico y fitoquímico de la especie *P. lanceolata*.

10 PERSPECTIVAS

- 10.1 Continuar el estudio fitoquímico y farmacológico de *Plantago lanceolata*.
- 10.2 Aislar mayor cantidad de acteósido (**22**) para evaluarlo farmacológicamente en cuanto a su actividad neuroprotectora.
- 10.3 Debido a la importancia farmacológica de la especie vegetal, y para evitar su depredación, podrían emplearse técnicas de biotecnología que nos permitan obtener mayor cantidad de acteósido (**22**).

11 REFERENCIAS

- Abd El-Mawla, A.M.A., Ahmed, A.S., Ibraheim, Z.Z., Ernst, L. (2005). Phenylethanoid glycosides from *Barleria cristata* L. callus cultures. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences Assiut University*. **28**, 199-204.
- Agbor, G., Léopold, T., Jeanne, N.Y. (2004). The antidiarrhoeal activity of *Alchornea cordifolia* leaf extract. *Phytotherapy Research*. **18**, 873-876.
- Akdemir, Z.S., Tatli, I.I., Bedir, E., Khan, I.A. (2004). Iridoid and phenylethanoid Glycosides from *Verbascum lasianthum*. *Turkish Journal Chemistry*. **28**, 227-234.
- Allen, D.E, Hatfield, G. (2004). Medicinal plants in folk tradition: an ethnobotany of Britain and Ireland. Timber Press. Portland, Oregon. Pp. 246-248
- Ara Roldán, A. (1997). 100 Plantas medicinales escogidas. Editorial EDAF. Madrid, España. Pp. 27-30
- Aronson, J.K. (2009). Meyler's side effects of herbal medicines. Elsevier. San Diego, California. Pp. 142-143.
- Backhouse, N., Delporte, C., Apablaza, C., Farías, M., Goity, L., Arrau, S., Negrete, R., Castro, C., Miranda, H. (2008). Antinociceptive activity of *Buddleja globosa* (matico) in several models of pain. *Journal of Ethnopharmacology* (119). 160-165.
- Behrman, R.E, Kliegman, R.M., Jenson, H.B. (2004). Nelson tratado de pediatría. Elsevier España. Madrid, España. Pp. 1266-12667, 1276-1280.
- Bräutigam, M., Franz, G. (1985). Structural features of *Plantago lanceolata* mucilage. *Planta Medica*. **51**, 293-297
- Bruneton, J. (1991). Elementos de fitoquímica y farmacognosia. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. Pp. 131-133

- Cabello-Romero, R., Herrera-Benavente, I.F. (2002). Síndrome diarreico infeccioso. Editorial Médica Panamericana. México, D.F. Pp. 1-7
- Cardinali, A., Pati, S., Minervini, F., D'Antuano, I., Linsalata, V., Lattanzio, V. (2012). Verbascoside, Isoverbascoside and their derivatives recovered from Olive Mill Wastewater as posible food antioxidants. *Journal of agricultural and food chemistry*. **60**, 1822-1829.
- Castells-Molina, S., Hernández-Pérez, M. (2007). Farmacología en enfermería. Elsevier España. Madrid, España. Pp. 134-139.
- Castillo-García, E., Martínez-Solís, I. (2007). Manual de fitoterapia. Elsevier Masson. Barcelona, España. Pp. 122-123
- Cheshire, E., Long, M.E. (2004). Lo esencial en aparato digestivo. Elsevier España. Madrid, España. Pp. 159-161
- De Castro, S., Arellano, J.L. (2006). Manual de patología general. Masson, S.A. Barcelona, España. Pp. 297-321.
- Fons, F., Rapior, S., Gargadennec, A., Andary, C., Bessière, J.M. (1998). Volatile components of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae). *Acta Botanica Gallica*. **145**, 265-269
- Gálvez, M., Martín-Cordero, C., Houghton, P.J., Ayuso, M.J. (2005). "Antioxidant Activity of Methanol Extracts Obtained from *Plantago* Species". *Journal of agricultural and food chemistry*. **53**, 1927-1933.
- Gennaro, A.R. (2003). Remington farmacia (Tomo II). Editorial médica panamericana. Buenos Aires, Argentina. Pp. 1456-1457.
- Georgiev, M., Alipieva, K., Orhan, I., Abrashev, R., Denev, P., Angelova, M. (2011). Antioxidant and cholinesterases inhibitory activities of *Verbascum xanthophaeniceum* Griseb and its phenylethanoid glycosides. *Food Chemistry* **128**, 100-105.

- Graber, M.A., Lanternier, M.L. (2002). Manual medicina de familia. Elsevier España. Madrid, España. Pp.180-184.
- Gómez-Aguirre, Y.A., Zamilpa, A., González-Cortazar, M., Trejo-Tapia, G. (2012). Adventitious root cultures of *Castilleja tenuiflora* Benth. As a source of phenylethanoid glycosides. *Industrial crops and products*. **36**, 188-195.
- Hai-Xeu, K., Yong-Gang, X., Bing-You, Y., Jun, L., Qing-Bo, Z., Guo-Yu, L. (2009). A new caffeoyl phenylethanoid glycoside from the unripe fruits of *Forsythia suspens*. *Chinese Journal of Natural Medicines*. **7**, 278-282.
- Harbone, J., Mabry, T. (1982). The flavonoids; Advances in Research. Chapman and Hall LTD. Londres. Pp. 420.
- Herbert, R. (1985). The biosynthesis of secondary metabolites. Chapman & Hall. USA.
- Inarejos-García, M., Caure-López I. (2009). Enfermería pediátrica. Elsevier Masson. Barcelona, España. Pp. 235-241.
- Kawashty, S.A., Gamal, E.D., Abdalla, M.F., Saleh, N.A. (1994). Flavonoids of *Plantago* species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*. **22**, 729-733.
- Kuklinski, C. (2000). Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona, España. Omega. Pp. 171-175.
- Li, L., Ming-Lu, C., Qiang-Liu, Z., Wang, J. (2008). Isolation and purification of phenylethanoid glycosides from plant extract of *Plantago asiatica* by high performance centrifugal partition chromatography. *Chinese Chemical Letters* **19**. 1349-1352.
- Lozoya-Legorreta, X. (1997). Plantas, medicina y poder: Breve historia de la herbolaria mexicana. Editorial Pax México. México, D.F. Pp. 97-101

- López-Munguía, A., Hernández-Romero, Y., Pedraza-Chaverri, J., Miranda-Molina, A., Regla, I., Martínez, A., Castillo, E. (2011). Phenylpropanoid Glycoside Analogues: Enzymatic Synthesis, Antioxidant Activity and Theoretical Study of their Free radical scavenger mechanism. *Public Library of Science (PLOS) ONE*. 6, e20115
- Markham, K. (1982). Introduction to the flavonoids. Techniques of flavonoid identification. Academic Press. Inglaterra. Pp. 1-3, 52
- Matar, R., Rivero, F. (2000). Curso teórico de farmacognosia. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF. Pp. 63.
- Mendoza-Patiño, N. (2008). Farmacología médica. Editorial médica Panamericana: UNAM, Facultad de medicina. México, D.F. Pp. 924-928.
- Merriman-Kirkpatrick, Z. (1992). Wildflowers of the Western Plains. University of Texas Press. Austin, TX. Pp. 182.
- Muñeton-Pérez, P. (2009). Plantas medicinales: un complemento vital para la salud de los mexicanos. Entrevista con el Mtro. Erick Estrada Lugo. Revista digital Universitaria. Vol. 10, No. 9. Fecha de consulta: 12 de enero del 2012 Disponible en internet: <http://www.revista.unam.mx/vol.10/num9/art58/int58.htm>.
- Muñoz, O., Montes, M., Wilkomirsky, T. (1999). Plantas medicinales de uso en Chile. Química y farmacología. Editorial Universitaria. Santiago de Chile. Pp. 227-232
- Nabi-Qazi, G., Parkash-Suri, O., Avtar, K., Datt-Gupta, B., Singh-Jaggi, B., Kumar-Satti, N., Amina, M., Krishan-Chandan, B., Sharma, N., Singh, G. (2006). Hepatoprotective agent of plant origin and a process thereof. United States Patent.
- Olaya-Flórez, J. M., Méndez-Alzamora, J. (2003). Guía de plantas y productos medicinales. Bogotá, Colombia. CAB, Ciencia y Tecnología. Pp. 5-8.

- Olivier, D.K., Shikanga, E.A., Combrinck, S., Krause, R.W.M., Regnier, T., Dlamini, T.P. (2010). Phenylethanoid glycosides from *Lippia javanica*. South African Journal of Botany. **76**, 58-63.
- OMS. (2008). Diarrhoea: Why children are still dying and what can be done. The United Nations Children's Fund (UNICEF)/World Health Organization.
- OMS. (2010). Boletín informativo, tasas de mortalidad y causales; estadísticas de enfermedades diarreicas. Fecha de consulta: 16 de abril del 2012. Disponible en internet: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets.html>
- 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. Publicacions i edicions de la Universitat de Barcelona. Barcelona, España. Pp. 9.
- Pamplona Roger, J.D. (2006). Salud por las plantas medicinales. Editorial Safeliz, S.L. Madrid, España. Pp. 5
- Perea-Quesada, R. (2004). Educación para la salud: Reto de nuestro tiempo. Ediciones Días de Santos, S.A. Madrid, España. Pp. 1-4.
- Pérez-Escandón, B. E., Villavicencio-Nieto, M. A., Aguirre-Ramírez A. (2003). Listado de las plantas útiles del estado de Hidalgo. Pachuca, Hidalgo, México. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pp. 3-12, 54-85
- Pérez, S., Pérez, C., Zavala, M. (2005). A study of the antidiarrheal properties of *Loeselia Mexicana* on mice and rats. *Phytomedicine*. **12**, 670-674.
- Ponz, E., Carpio, G., Meo, S. (2005). La medicina tradicional de los tacana y machineri. Fundación PIEB. La Paz, Bolivia. Pp. 2-3.
- Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., Flower, R.J. (2008). Farmacología. Elsevier, S.L. Barcelona, España. Pp. 783.

- Ringbom, T., Segura, L., Noreen Y., Perera, P., Bohlin, L. (1998). "Ursolic Acid from *Plantago major*, a Selective Inhibitor of Cyclooxygenase-2-Catalyzed Prostaglandin Biosynthesis". *Journal of Natural Products*. **61**, 1212-1215.
- Rodés, J., Carné, X., Trilla, A. (2002). Manual de terapéutica médica. Elsevier España. Madrid, España. Pp. 457-485.
- SAGARPA. (2009). Norma oficial Mexicana: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. NOM-062-ZOO-1999.
- Samuelsen, A. B. (2000). The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *Journal of Ethnopharmacology*. **71**, 1-21.
- Schmidgall, J., Schnetz, E., Hensel, A. (2000). Evidence for bioadhesive effects of polysaccharides and polysaccharide containing herbs in an *ex vivo* bioadhesion assay on buccal membranes. *Planta Medica*. **66**, 48-53.
- Segarra, E. (2006). Fisiología de los aparatos y sistemas. Imprenta de la Facultad de Ciencias Médicas. Universidad de la Cuenca. Pp. 49-52, 54-55, 122-124, 145-146.
- Silverman, R.B. (2004). The organic chemistry of drug design and drug action. Estados Unidos. Elsevier academic press. Pp. 2-3.
- SSH. Secretaría de salud del estado de Hidalgo. (2012). Estadísticas de salud pública y estudios demográficos estatales.
- Talley, N.J., Segal, I., Weltman, M.D. (2010). Manual clínico de gastroenterología y hepatología. Elsevier España. Barcelona, España. Pp. 236-246.
- Tangpu, V., Yadav, A. (2004). Antidiarrhoeal activity of *Rhus javanica* ripen fruit extract in albino mice. *Fitoterapia*. **75**, 39-44.

- Ucrós-Rodríguez, S., Mejía-Gaviria, N. (2009). Guías de pediatría práctica basadas en la evidencia. Editorial Médica Internacional. Bogotá, Colombia. Pp. 247-263.
- Vanaclocha-Vanaclocha, B., Cañigüeral-Folcara S. (2003). Fitoterapia. Vademécum de prescripción. Editorial Masson. Barcelona, España. Pp. 29-30.
- Van-Wyk, B.E., Wink, M. (2004). Medicinal plants of the world. USA. Timber Press. Pp. 232-234.
- Verotta, L., Appendino, G., Jakupovic, J., Bombardelli, E. (2000). Hyperforin analogues from St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). *Journal of Natural Products*. **63**, 412-415.
- Vargas, W.E. (2002). Guía ilustrada de las plantas de las montañas del Quindío y los andes centrales. Editorial Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. Pp. 510-511.
- Vertuani, S., Beghelli, E., Scalambra, E., Malisardi, G., Copetti, S., Dal Toso, R., Baldisserotto, A., Manfredini, S. (2011). Activity and Stability studies of Verbascoside, a Novel antioxidant, in Dermo-Cosmetic and Pharmaceutical topical formulations. *Molecules*. **16**, 7068-7080.
- Wang, H., Xu, Y., Yan, J., Zhao, X., Sun, X. Zhang, Y., Guo, J., Zh, C. (2009). Acteoside protects human neuroblastoma SH-SY5Y cells against β -amyloid-induced cell injury. *Brain Research*. **1283**, 139-147.
- Yun-Lee, J., Gun-Lee, J., Soo-Sin, S., Whang, W.K., Jang-Kim, C. (2011). Anti-asthmatic effects of phenylpropanoid glycosides from *Clerodendron trichotomum* leaves and *Rumex gmelini* herbes in conscious guinea-pigs challenged with aerosolized ovalbumin. *Phytomedicine*. **18**, 134-142.

12. APÉNDICE: CONGRESOS

12.1 XLII Congreso Nacional del Ciencias Farmacéuticas, 2009



“ACTIVIDAD ANTIDIARREICA DE LOS EXTRACTOS METANÓLICO Y CLOROFÓRMICO DE LAS PARTES AÉREAS DE *PLANTAGO LANCEOLATA*”



Montiel Gabriela^a, Villagomez Roberto^a, Santos Jorge^a, Osti Rosario^a, Lopez Alejandro^a y Velázquez Claudia^{a,b}

^aCentro de Investigaciones Químicas, Km. 4.5 carr. Pachuca-Tulancingo Ciudad Universitaria, ^bInstituto de Ciencias de la Salud, Carretera Pachuca-Tlaxiaca, S/N Municipio San Agustín Tlaxiaca, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca Hgo, México. cv909@yahoo.com, gaby_jarillo@hotmail.com

Introducción

Las enfermedades diarreicas continúan siendo un problema de salud pública que afecta generalmente a los países en desarrollo. Principalmente a menores de 5 años de edad y adultos mayores, se estima que cada año mueren alrededor de 1.5 millones de niños a nivel mundial por esta causa. En México esta dentro de las diez principales causas de mortalidad, aumentando la morbilidad en un 20 % en las temporadas de calor.

En México, existen mas de 4 mil especies de flora con uso medicinal, de las cuales la mayoría son utilizadas en el tratamiento de trastornos gastrointestinales entre los que se incluye la diarrea.



Descripción: 10-30 cm de altura con flores amarillas en forma de roseta.

Uso: En medicina tradicional es utilizado como antiinflamatorio, antidiarreico, diurético, emoliente y cicatrizante.

Recolección: Acaxochitlán, Hidalgo

Fig 1. *Plantago lanceolata*.



Materiales y métodos

Extracción: 40 g de partes aéreas y flores, secas y molidas fueron extraídas por maceración con metanol y clorofórmico (300 mL) durante una semana tres veces, el disolvente se evaporó a presión reducida

Animales: Ratas Wistar de ambos sexos (100-150 g).

Método de motilidad gastrointestinal



Método de Acumulación de Fluido Intestinal



Resultados

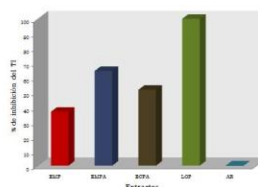


Fig 2. Efecto de los extractos metanólico y clorofórmico de *Plantago lanceolata* en el tránsito intestinal de ratas Wistar.

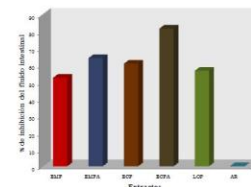


Fig 3. Efecto de los extractos metanólico y clorofórmico de *Plantago lanceolata* en la acumulación de fluido intestinal de ratas Wistar.

Discusión

El extracto metanólico de las partes aéreas de *Plantago lanceolata* presentó actividad antidiarreica en el modelo de motilidad intestinal, con inhibición de 64.53 % y para el extracto clorofórmico de las partes aéreas fue de 51.69 %. La acumulación de fluido intestinal fue inhibida de manera importante por el extracto clorofórmico de las partes aéreas, (81.66 %). En base a los resultados obtenidos, el extracto metanólico y clorofórmico de las partes aéreas disminuye el tránsito intestinal y facilita la absorción de fluidos y tal vez por estas vías puede ayudar a disminuir la diarrea.

A partir de las pruebas fitoquímicas, se determinó la presencia de

alcaloides, aminas, terpenos, flavonoides, saponinas, cianógenos, cumarinas en la planta estudiada.

Conclusión

El estudio farmacológico de las partes aéreas de *Plantago lanceolata* proporciona un soporte científico para el uso que se le da para el tratamiento de la diarrea en México. Los resultados obtenidos permiten proponer el estudio fitoquímico biodirigido de los extractos, con la finalidad de aislar e identificar los principios activos. Este estudio, aporta un conocimiento farmacológico para el uso de las plantas medicinales Mexicanas en particular del estado de Hidalgo.

12.2 II Congreso Nacional de innovación en salud y química médica, 2011



“Actividad antisecretora de *Plantago lanceolata*, especie utilizada en la medicina tradicional de Hidalgo para el tratamiento de la diarrea”



Montiel J. Gabriela^a, Villagomez I. Roberto^a, Santos L. Jorge^a, López Alejandro Velázquez G. Claudia^b

^a Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Pachuca Hidalgo, México ^b Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca Hidalgo, México.

Introducción

La diarrea es un problema de salud que afecta generalmente a países en vías de desarrollo; a nivel mundial representa la segunda causa de muerte en niños menores de 5 años y personas mayores. En México, es la segunda causa de muerte en niños, aumentando su morbilidad en épocas de calor.

Se estima que el síndrome diarreico, es el responsable de la muerte de alrededor de 1.5 millones de niños a nivel mundial



México posee una gran riqueza en biodiversidad vegetal y en el estado de Hidalgo las plantas utilizadas en el tratamiento de trastornos gastrointestinales ocupan el primer lugar en uso

Objetivo: evaluar el efecto antidiarreicos de los extractos metanólico y clorofórmico obtenidos de *Plantago lanceolata*.

Recolección: Acaxochitlán, Hidalgo

Descripción: 10-30 cm de altura con flores amarillas en forma de roseta.

Uso: tradicionalmente es utilizada como antiinflamatorio, diurético, emoliente y cicatrizante



Fig 1. *Plantago lanceolata*.



Materiales y métodos

Material vegetal: las partes aéreas y flores, se secaron a temperatura ambiente y se molieron

Extracción: 40 g secos de partes aéreas y flores, se maceraron con metanol y cloroformo durante una semana por triplicado; el disolvente se evaporó a presión reducida hasta la obtención del extracto crudo.

Modelo biológico: acumulación de fluido intestinal

Animales: ratas Wistar macho (180-240 g).

Método de acumulación de fluido intestinal



Resultados

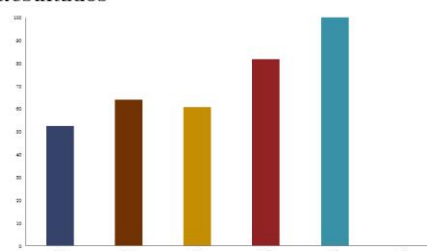


Fig 2. Efecto de los extractos metanólico y clorofórmico de *Plantago lanceolata* en la acumulación de fluido intestinal de ratas Wistar.

Discusión

El extracto metanólico de las partes aéreas de *Plantago lanceolata* presentó actividad antidiarreica, inhibiendo la acumulación de fluido intestinal de manera importante. El extracto con el mayor porcentaje de inhibición, fue el extracto clorofórmico de partes aéreas con un 81.66%. En base a los resultados obtenidos, las partes aéreas facilitan la absorción de fluidos y tal vez por esta vía ayuda a disminuir la diarrea. Mediante pruebas fotoquímicas, se determinó la presencia de alcaloides, taninos, Triterpenos, flavonoides, esteroides y Cumarinas en la planta estudiada.

Conclusión

La evaluación preclínica de los extractos metanólico y clorofórmico de *Plantago lanceolata*, de la cual se reporta su uso como antidiarreicos, brinda un conocimiento sustentado en la experimentación e investigación científica acerca del uso de la biodiversidad vegetal en el tratamiento de enfermedades gastrointestinales.

En base a los resultados, se propone el estudio fitoquímico biodirigido de los extractos para aislar e identificar los principios activos.