

Universidad Autónoma de Querétaro

**Facultad de Ciencias Naturales
Licenciatura en Nutrición**

**POTENCIAL DEL EMPLEO DE *SOLANUM
ROSTRATUM* DUNAL (ABROJO), COMO ALIMENTO
NUTRACEUTICO.**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el título de

LICENCIADO EN NUTRICION

Presenta

ANA ANGELICA FEREGRINO PEREZ

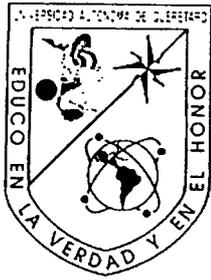
Dirigida por

M en C. JUANA ISELA ROJAS MOLINA

**CENTRO UNIVERSITARIO
QUERETARO, QRO. MEXICO 2001**

BIBLIOTECA CENTRAL UAQ
"ROBERTO RUIZ OBREGON"

No Adq. H65777
No. Título _____
Clas. TS
582.13
F249.0



**Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Licenciatura en Nutrición**

**POTENCIAL DEL EMPLEO DE *SOLANUM ROSTRATUM*
DUNAL (ABROJO), COMO ALIMENTO NUTRACEUTICO.**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el título de

LICENCIADO EN NUTRICION

Presenta:

ANA ANGELICA FERREGRINO PEREZ.

Dirigida por:

M en C. JUANA ISELA ROJAS MOLINA.

**DRA. MARIA ALEJANDRA ROJAS MOLINA
ASESOR DE LA PARTE FARMACOLOGICA.**

Alejandra Rojas M.

SINODALES

DRA. HILDA ROMERO ZEPEDA

Hilda Romero Zepeda

LIC. NUT. CARMEN SALAZAR PIÑON

Carmen Salazar Piñon

DR. RICARDO AMADOR DEL PRADO

**M en C. OFELIA PUGA SANCHEZ
COORDINADOR DE LA LIC.
EN NUTRICION.**

**M en C RUBEN PINEDA LOPEZ
DIRECTOR DE LA FAC. DE
CIENCIAS NATURALES.**

Centro Universitario.
Querétaro, Qro.
2001

Este trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Bromatología de la Lic. En Nutrición y en el Laboratorio de Química y Farmacología de Productos Naturales en la Fac. De Química, de la Universidad Autónoma de Querétaro; bajo la dirección de la M en C Juana Isela Rojas Molina y bajo la Asesoría de la Dra. Alejandra Rojas Molina

MI MAS SINCERO AGRADECIMIENTO A LA M EN C. JUANA ISELA ROJAS MOLINA Y A LA DRA. ALEJANDRA ROJAS MOLINA, POR SU DIRECCION Y ASESORIA, A TODOS LOS DOCTORES DEL DEPARTAMENTO Y A TODOS LOS MAESTROS QUE HICIERON POSIBLE ESTE TRABAJO, POR SU APOYO Y POR SU INVALUABLE APORTE DE CONOCIMIENTOS, ASI COMO A LA CONFIANZA QUE DEPOSITARON EN MI.

AGRADECIMIENTOS.

A TODAS Y CADA UNA DE LAS PERSONAS QUE ME APOYARON, ESCUCHARON, COMPRENDIERON Y SOBRE TODO GUIARON DURANTE TODA MI CARRERA Y QUE ADEMAS HICIERON POSIBLE QUE ESTE DIA LLEGARA PARA TODOS USTEDES MI GRATITUD Y AFECTO POR SIEMPRE.

EL TITULO DE UNA CARRERA AL FIN CONCLUIDA NO TIENE IMPORTANCIA, SI NO SE TIENE CON QUIEN COMPARTIRLO.

INDICE

	Pag.
INDICE GENERAL	I
INDICE DE CUADROS.....	II
INDICE DE FIGURAS.....	III
ABREVIATURAS.....	IV
1. RESUMEN	1-4
2. MARCO TEORICO	5
2.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	5
3. JUSTIFICACIÓN	6-14
4. ANTECEDENTES	14
4.1 DEFINICIÓN DE ALIMENTO FUNCIONAL Y NUTRACEUTICO.....	14-16
4.2 ESPECIES VEGETALES EN MÉXICO.....	17-22
4.3 FRECUENCIA DE EMPLEO DE PLANTAS MEDICINALES EN MÉXICO.....	22-26
4.4 DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE SOLANUM ROSTRATUM DUNAL.....	26-27
4.5 ESTUDIO FARMACOLOGICO E IMPORTANCIA DEL ENSAYO DE ILEO AISLADO DE COBAYO.....	27-30
5. OBJETIVOS	32
5.1 OBJETIVO GENERAL.....	32
5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	32
6. HIPÓTESIS	33
7. METODOLOGÍA	34
7.1 MATERIAL Y EQUIPO.....	34
7.1.1 MATERIAL.....	34-35
7.1.2 EQUIPO.....	35-36
7.2 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL.....	36
7.2.1 RECOLECCION DE MATERIAL.....	36
7.2.2 DETERMINACIÓN DE MATERIAL MINERAL O CENIZAS.....	37
7.2.3 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.....	38
7.2.4 DETERMINACIÓN DE GRASA POR EL METODO DE SOXHLET.....	39-40

7.2.5 DETERMINACIÓN DE PROTEINA TOTAL POR EL METODO KJELDHAL.....	40-42
7.2.6 DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA O FIBRA TOTAL.....	42-44
7.2.7 DETERMINACIÓN DE DIGESTIBILIDAD.....	44-45
7.2.8 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACION DE CLOROFILINA.....	45-46
7.3 ESTUDIO FARMACOLÓGICO.....	47
7.3.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO PRELIMINAR DE LA ESPECIE OBJETO DE ESTUDIO.....	47
7.3.2 EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA PRELIMINAR DE LA ESPECIE VEGETAL PROPUESTA.....	47-48
7.3.3 ANÁLISIS DE LOS DATOS FARMACOLÓGICOS.....	48
7.3.4 PREPARACIÓN A GRAN ESCALA DEL EXTRACTO ACTIVO.....	49
7.3.5 FRACCIONAMIENTO BIODIRIGIDO DEL EXTRACTO ACTIVO.....	49
7.3.6 ANÁLISIS DE LAS FRACCIONES ACTIVAS.....	49
7.3.7 CROMATOGRAFÍA DE LIQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN	50
7.3.8 CARACTERIZACION FARMACOLÓGICA PRELIMINAR DEL MECANISMO DE ACCION DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS.....	51
8. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	52-77
8.1. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL.....	53-59
8.2. ESTUDIO FARMACOLÓGICO.....	60-77
9. CONCLUSIONES.....	78-79
10. BIBLIOGRAFÍA.....	80-94

INDICE DE CUADROS.

Cuadro1.	Vitaminas y las enfermedades carenciales relacionadas.....	12
Cuadro2.	Ejemplos de componentes en los alimentos que actúan como nutraceuticos	16
Cuadro 3 a-b	Especies vegetales empleadas para el tratamiento de trastornos gastrointestinales en la Medicina Tradicional Mexicana.....	18-21
Cuadro 4.	Géneros mejor representados en la flora medicinal de la región.....	23
Cuadro5.	Enfermedades y frecuencia de uso de las plantas Medicinales usadas en su tratamiento	24-25
Cuadro 6.	Análisis Químico Proximal de la especie vegetal <i>Solanum rostratum</i> Dunal.....	53
Cuadro 7.	Valores de concentración inhibitoria media, efecto máximo y potencia de las especies vegetales <i>D. lanosa</i> y <i>S. rostratum</i>	61
Cuadro 8.	Porcentajes de Actividad para las fracciones primarias de <i>S. rostratum</i>	64
Cuadro 9.	Porcentajes de Actividad para las fracciones secundarias de la fracción FV, del extracto de <i>S. rostratum</i>	67

INDICE DE FIGURAS.

Figura 1.	
La desnutrición y sus consecuencias.....	9
Figura 2.	
Incidencia de consulta comunitaria por enfermedades gastrointestinales en la población mexicana.....	10
Figura 3.	
Especie vegetal <i>S. rostratum</i> Dunal, localizada en las comunidades de Amealco y Tolimán, en el estado de Querétaro.....	31
Figura 4.	
Barrido espectral del contenido de clorofilina y del standar.....	59
Figura 5.	
Registro de la contracción espontanea de la concentració inhibitoria media del extracto clorofórmico-metanólico (1:1), de <i>S. rostratum</i>	61
Figura 6.	
Curvas concentración-respuesta de los extractos de <i>D. lanosa</i> y <i>S. rostratum</i>	62
Figura 7.	
Porcentajes de actividad para las fracciones primarias del extracto de <i>S. rostraum</i> Dunal.....	65
Figura 8.	
Porcentajes de actividad de las fracciones secundarias obtenidas de la fracción FV del extracto clorofórmico-metanólico de <i>S. rostratum</i>	68
Figura 9.	
Cromatograma de la Fracción FV-5, del extracto clorofórmico- metanólico (1:1) de la especie vegetal <i>S. rostratum</i> Dunal.....	69

Figura 10.	
	Cromatograma de la Fracción FV-5-B, de la especie vegetal <i>S. rostratum</i> Dunal.....70
Figura 11.	
	Efecto de los antagonistas sobre el extracto de <i>S. rostratum</i> Dunal, en el íleo aislado de cobayo.....75
Figura 12.	
A	Registro de los antagonistas (Acetilcolina e Histamina), sobre el íleo aislado de cobayo.....50
Figura 13.	
	Registro de los antagonistas (BaCl ₂ y KCl), sobre el íleo aislado de cobayo.....51

ABREVIATURAS.

Abreviatura	Significado
(1:1)	Relación volumen / volumen
Ac.	Acido
Ach	Acetil colina
ATP	Trifosfato de adenosina
E _{max}	Efecto máximo
HPLC	Cromatografía de Líquidos de alta resolución.
IC ₅₀	Concentración Inhibitoria Media
N=	Número de repeticiones
S.D.	Desviación Estándar
SNA	Sistema Nervioso Autónomo
SNC	Sistema Nervioso Central
SNE	Sistema Nervioso Entérico
Vit.	Vitamina

RESUMEN.

La medicina moderna, pese a los alcances que ha tenido, ha comenzado a ser insuficiente ya que el hombre ha desarrollado cierta resistencia a tratamientos con base de compuestos químicos puros. Es por eso que las plantas medicinales han vuelto a surgir como medio natural de curación. En el país se cuenta con un número considerable de especies vegetales de las cuales no solo se les ha atribuido un uso efectivo para el tratamiento de diversos padecimientos entre los que destacan las enfermedades relacionadas con el aparato digestivo, considerándolos como fuentes naturales de compuestos nutraceuticos. Los productos nutraceuticos se definen como cualquier sustancia que pueda establecerse como alimento o parte de un alimento y que sea capaz de aportar un beneficio médico o sanitario incluyendo la prevención y el tratamiento de enfermedades. Dichas especies aún en nuestros días siguen siendo utilizadas ampliamente por la población mexicana sobre todo en aquellas en los recursos económicos son escasos. Desafortunadamente, en México el porcentaje de las especies vegetales medicinales estudiadas desde el punto de vista farmacológico es relativamente bajo y actualmente se considera que todas las especies en uso, menos del 5% de ellas son conocidas con criterios de carácter experimental y científico; incluyendo sus propiedades farmacológicas. En consecuencia es importante realizar estudios regionales sobre estas plantas medicinales, ya que además de formar parte de la medicina tradicional, algunas de ellas son parte de la dieta habitual de la población y actúan como preventivos de las enfermedades modernas del siglo. Además se les ha considerado como alimentos nutraceuticos.

En el estado de Querétaro, principalmente en las comunidades de Amealco y Tolimán, es donde se aplica con mayor frecuencia este tipo de medicina tradicional. En las entrevistas realizadas, así como en los acercamientos con curanderos, parteras y personas que utilizan las plantas como parte de la cura se encontró que los géneros que mas se utilizan son: **Bursera, Solanum, Ficus y Acacia**. Dentro del género de **Solanum**, se encuentra la **S. rostratum**, la cual es empleada para tratar trastornos gastrointestinales en diferentes regiones del país.

En base a estos antecedentes, se consideró que esta especie podría constituir un candidato idóneo para realizar un estudio fitoquímico biodirigido con el objetos de caracterizar y aislar el efecto antiespasmódico que presenta la planta. Así mismo se consideró importante realizar un análisis químico proximal de la especie vegetal para conocer los aportes nutricios que puede representar al organismo considerando que en nuestro país se consume como agua de uso durante la temporada de calor, sin embargo en países de América del sur esta incluida dentro de su dieta diaria.

Los resultados obtenidos a partir del análisis químico proximal sobre la especie vegetal **S. rostratum**, indican un alto contenido de proteína siendo de 12.95% aún por arriba del porcentaje reportado para el nopal (8.05%) en base seca. La cantidad de fibra también es considerable ya que representa el 14.25% y el contenido de clorofilina (sales de sodio y cobre de la clorofila) fue de 794.65

mg/Kg, si bien es poca la cantidad que aporta esta planta es importante considerarla ya que es proporcional al contenido de Vitamina K.

En el análisis farmacológico se encontró que el extracto de la especie vegetal *S. rostratum* inhibe de una manera dependiente de la concentración las contracciones espontáneas del íleo obteniéndose una concentración inhibitoria media de $9.56 \pm 2.17 \mu\text{g/ml.}$, el cual es comparable con el observado para *Datura lanosa* ($10.59 \pm 3.20 \mu\text{g/ml}$) utilizado como control positivo debido a su alto contenido de alcaloides espasmolíticos atropina y escopolamina. Este extracto clorofórmico-metanólico se llevó a varios fraccionamientos cromatográficos en columna de sílica gel y cromatografía de líquidos lo cual arrojó como resultado el análisis de la fracción FV-5-B, en el cual se considera como un compuesto mayoritario a un esteroide glicosídico, el cual sin duda constituye uno de los principios activos de *S. rostratum*.

Otra serie de experimentos en los cuales se caracterizó los mecanismos de acción involucrados en el efecto relajante de la musculatura lisa, sugieren que el extracto de *S. rostratum* actúa en un paso común en el mecanismo de contracción mediado por los espasmógenos de prueba (Acetilcolina, Histamina, KCl y BaCl₂).

En base a estos datos se puede concluir que los resultados en cuanto a la composición nutricional y propiedades farmacológicas de la especie *S. rostratum*

constituyen una evidencia para considerar su potencial como alimento nutracéutico y emplearse en la prevención y tratamiento de diversos padecimientos.

2. MARCO TEORICO.

2.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.

En México, varios factores han limitado la investigación de especies vegetales apreciados hoy en día como alimentos nutraceuticos, por que se consideran fuentes potenciales de principios activos o fármacos. Los productos nutraceuticos se definen como cualquier sustancia que pueda establecerse como alimento o parte de un alimento y que sea capaz de aportar un beneficio medico o sanitario, incluyendo la prevención y el tratamiento de enfermedades (Scott *et al*, 1996; Cockbill, 1994).

Actualmente algunos grupos de científicos mexicanos se encuentran estudiando la flora medicinal de México, desde el punto de vista químico y biológico (Mata 1993, Reynolds, 1995, Delgado 1996, Navarrete y Hong 1996, Martínez *et al* 1996, Meckes *et al*, 1996), sin embargo, estos estudios son aislados y muy escasos por lo que resulta de gran importancia establecer un estudio sistemático de la flora del país y principalmente del estado de Querétaro, con el objeto de validar científicamente el uso de estos recursos como alimentos nutraceuticos, empleados repetidamente por la población para tratar diversos padecimientos.

3. JUSTIFICACION.

Actualmente México se enfrenta a dos situaciones que son la principal preocupación del sector salud por constituir un problema de salud pública: Las enfermedades crónico degenerativas y las infecciones (respiratorias y gastrointestinales) (UNICEF, 1997).

Muchas de estas son la causa principal de defunciones en el país, por lo cual México se encuentra en una encrucijada por una parte, afrontando los problemas de salud de los países del primer mundo y por otra, con las enfermedades infecciosas que no logran superar los países en vías de desarrollo. Las principales causas de las enfermedades crónico degenerativas entre la población mexicana, son las malas conductas alimentarias, las cuales han propiciado lo que se conoce como enfermedades del siglo XX, que incluyen enfermedades cardiovasculares, hipertensión, diabetes y los trastornos gastrointestinales dentro de los cuales encontramos enfermedades recurrentes (vómito, diarrea, cólicos, etc.) y que constituyen una fuente importante de infecciones que debilitan el sistema inmune del cuerpo, provocando con ello debilidad, cansancio y foco de contaminación por falta de higiene, desnutrición y malos hábitos alimenticios. Los trastornos gastrointestinales abarcan desde las intoxicaciones alimentarias, las intolerancias del organismo a ciertos alimentos, el desequilibrio en la ingesta de nutrimentos como proteínas, carbohidratos, lípidos, etc. La desnutrición y las condiciones de vida insalubres potencializan las enfermedades gastrointestinales, las cuales se ven agravadas por la estacases de nutrimentos o bien el mal aprovechamiento

estos, y aunque estas enfermedades son previsibles y son curables con la medicina moderna, esta no siempre es accesible a gran parte de la población, principalmente la de escasos recursos (Estrada, 1992).

En 1977 la Organización Mundial de la Salud (OMS) comenzó a plantear la necesidad de apoyar a los gobiernos de los distintos países para propiciar la integración de la Medicina Tradicional en los sistemas generales de asistencia sanitaria de cada país (OMS, 1978) esto debido a que han empezado a proliferar escritos en donde se manifiesta la preocupación acerca de la aparición de las enfermedades del siglo, es decir, enfermedades derivadas del desarrollo vertiginoso de la tecnología actual y que están relacionadas en gran parte con una mala conducta alimentaria que envuelve a numerosas poblaciones principalmente las grandes urbes.

La medicina moderna, pese a los alcances que ha tenido, ha comenzado a ser insuficiente ya que el hombre ha desarrollado cierta resistencia a tratamientos con base de compuestos químicos puros. Es por eso que las plantas medicinales han resurgido como medio natural de curación, además de que el empleo de las plantas medicinales tiene un arraigo cultural en algunos países (México, China, etc.), esto también representa una disminución en el costo de adquisición de la cura, lo cual representa mayor beneficio para la gran parte de la población, principalmente la de escasos recursos, considerando de que se justifica su empleo ya que tanto a nivel nacional como internacional, se han realizado estudios sobre plantas medicinales. A niveles regionales poco es lo que se ha hecho al respecto

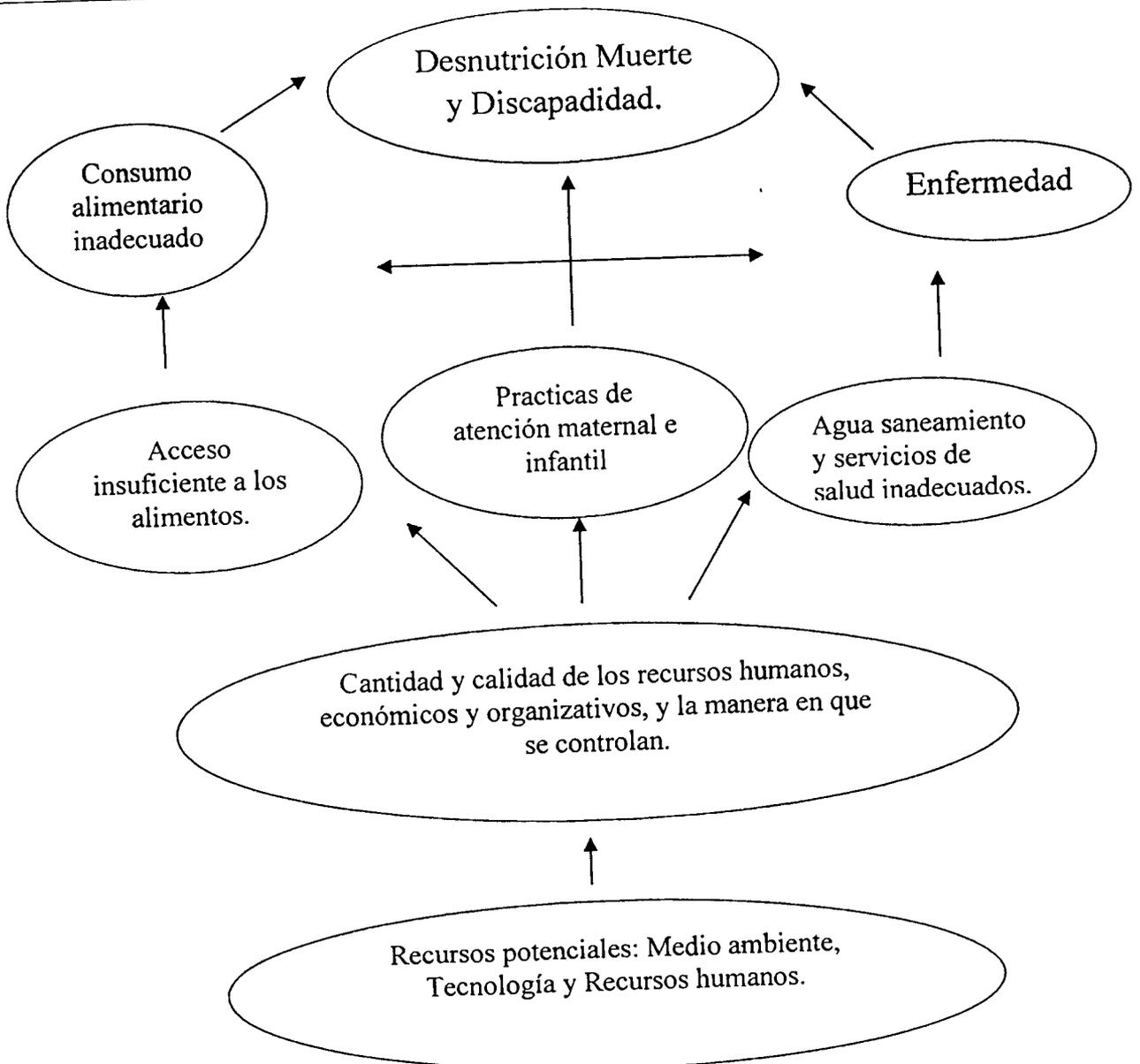
(Senties, 1995). Es por ello que es importante realizar estudios regionales sobre estas plantas medicinales, ya que no solo forman parte de la medicina tradicional, algunas de ellas son parte de la dieta habitual de la población y actúan como preventivos de las enfermedades modernas del siglo (Linares, 1990). Además se les ha considerado como alimentos nutraceuticos, ya que la mayoría de estas especies se emplean con fines de cura (Pascal, 1996).

Por lo anterior, también es importante enfatizar que la tendencia es lo natural y no solo para las poblaciones de bajos recursos, si no para la población en general, es decir, la medicina tradicional se incluye de manera importante como una alternativa de primera instancia; por otra parte a medida que se incrementa el peso de la evidencia científica en que se apoyen los efectos fisiológicos de los beneficios para la salud y la seguridad de los alimentos nutraceuticos, aumenta el interés de los consumidores, la industria y los legisladores por estos alimentos (Pascal, 1996).

Dentro de los padecimientos gastrointestinales que se consideran de mayor incidencia a nivel Nacional, se encuentran los llamados "trastornos gastrointestinales", los cuales incluyen vómito, disenterías, dolor abdominal, diarreas, postraciones, etc., y que a nivel comunitario lo definen como calígula tomando por consiguiente como definición de calígula a los síntomas (vómitos, diarreas, disenterías, postraciones, etc) que presenta las personas principalmente en la temporada de calor, mismos que se agravan por el estado nutricional tan deficiente en este tipo de población (UNICEF 1997). La **Figura 1** muestra la

desnutrición y las consecuencias que conlleva al combinarse con las enfermedades gastrointestinales las cuales como se puede observar en la **Figura 2**, representan una de las primeras causas de consulta sanitaria principalmente en las zonas rurales (Aguilar y Camacho 1984).

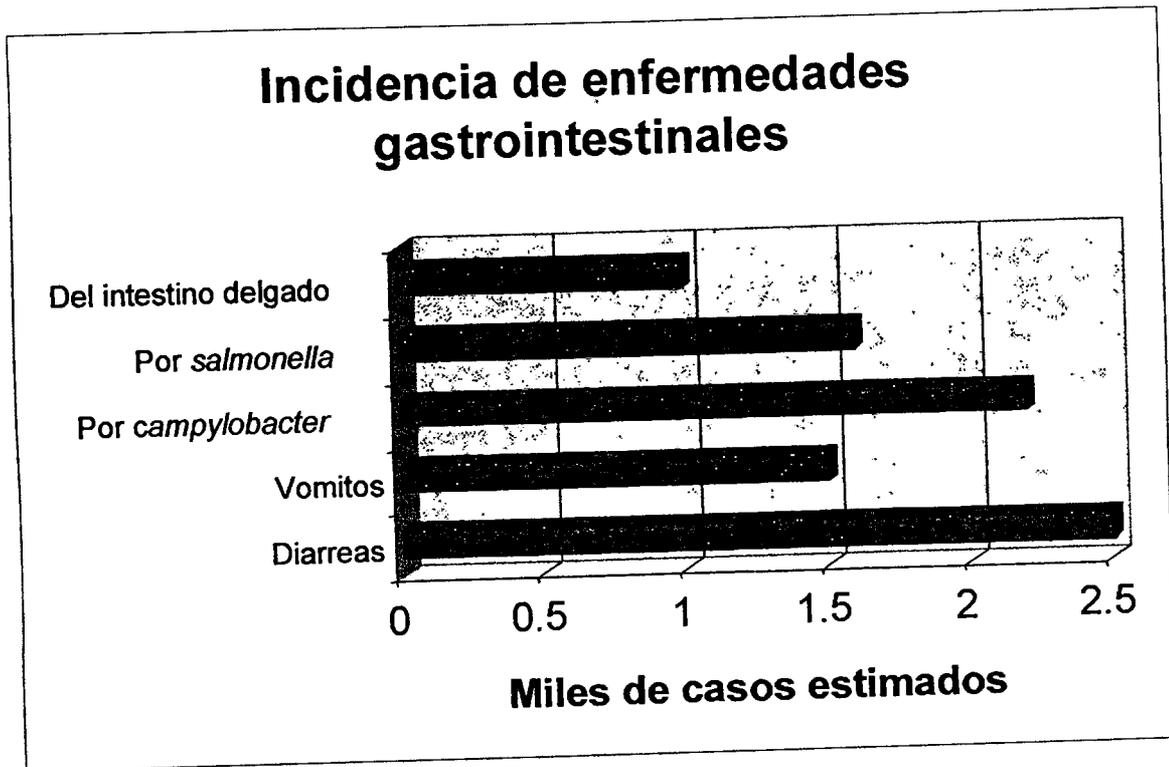
Figura 1
LA DESNUTRICIÓN Y SUS CAUSAS.



Fuente: UNICEF. , 1997.

Figura 2

INCIDENCIA DE CONSULTA COMUNITARIA POR ENFERMEDADES GASTROINTESTINALES EN LA POBLACION MEXICANA.



Se consideran a la Diarrea y el Vómito como parte de los trastornos gastrointestinales los cuales se encuentran dentro de los primeros cuatro lugares de consulta comunitaria

Fuente: National Food Review. , 1989.

Desde hace más de 50 años se hacía evidente el problema nutricional de la población del mundo en desarrollo. (Cole *et al*, 1989; Solomons *et al*, 1989). El conocimiento de la composición química de los alimentos se hizo indispensable, para poder comprender e interpretar los datos obtenidos en cuanto a la ingestión de alimentos y adecuación de la dieta, de esa forma, se analizaron muchos alimentos autóctonos y hacia 1953 la información se comenzó a publicar en revistas científicas. (Cravioto *et al*, 1951; Olascoaga, 1961; INCAP-INCNND, 1961; USDA, 1962; Hernández *et al*, 1983; Bourges *et al*, 1993).

La evolución de los conceptos relativos a nutrición durante este siglo iniciaron esencialmente con las vitaminas, ya que recibieron mayor atención por parte de la comunidad científica en el campo de la nutrición (Hasler, 1996). Se menciona que el período que va desde 1910 hasta 1950 ha sido la primera edad de oro de la nutrición, que se ha caracterizado por el descubrimiento de 13 vitaminas esenciales, por el papel que desempeñan en la caracterización y tratamiento de enfermedades como se muestra en el **Cuadro 1**.

Cuadro 1

VITAMINAS Y LAS ENFERMEDADES CARENCIALES RELACIONADAS CON ELLAS.

VITAMINAS	CARENCIA.
Vit. A (Retinol)	Nictalopía, fotofobia, xeroftalmía, conjuntivitis queratomalacia
Vit. B1. (Tiamina)	Beriberi, encefalopatía de Wernicke
Vit. B2 (Riboflavina)	Arriboflavinosis, disminución del crecimiento, visión borrosa
Niacina	Pelagra
Folacina	Anemia megaloblástica
Vit. B6 (Piridoxina)	Irritabilidad, anemia hipocrómica, neuritis periférica, convulsiones
Vit. B12 (Cobalamina)	Anemia perniciosa juvenil, aciduria metilmalónica
Biotina	Dermatitis, seborrea
Vit. C (Ac. Ascorbico)	Escorbuto y mala cicatrización
Vit. D (Calciferol)	Raquitismo, tetania infantil, crecimiento escaso osteomalacia
Vit. E (Tocoferol)	Hemolisis eritrocitarias, pérdida de la integridad neural
Vit. K	Manifestaciones hemorrágicas, metabolismo óseo
Ac. Pantotenico	No se tiene conocimiento de su carencia.

Fuente: Krause, 1995.

Durante este período, la principal preocupación sobre los alimentos era que deberían ser abundantes, sin contaminación ni adulteración, *sanos y nutritivos* para reducir la prevalencia de enfermedades carenciales (Glinsmann, 1996).

Durante el período siguiente, hasta la década de los 80's, los hábitos dietéticos que incrementaban el riesgo de ciertas enfermedades degenerativas y de otra índole (principalmente enfermedades cardiovasculares, cáncer y obesidad a causa de un consumo excesivo de alimentos ricos en grasas saturadas) se convirtieron en la principal preocupación de la salud pública. Así durante este período, la investigación científica sobre la relación entre alimentos y salud se centró en los efectos negativos sobre la salud o en los alimentos desencadenantes de enfermedades. Por ejemplo la revisión exhaustiva de las causas del cáncer realizada por Doll y Peto en 1981, que estimaron que hasta el 70% de algunos cánceres eran atribuibles a la dieta. Por lo anterior se establecía la posibilidad de conseguir un efecto preventivo sobre la salud al modificar la dieta.

En los últimos años, este enfoque científico ha cambiado considerablemente. Euragri (un grupo informal de universidades y organismos de investigación agronómica de la Unión Europea) propone en "Agriculture and Human health", las posibilidades de modificar la composición de los productos agrícolas, no sólo reduciendo las sustancias indeseables, sino también enriqueciéndolos con sustancias deseables, esto ha creado que la opinión de los consumidores también cambie, tan solo en Francia, el 87% de los consumidores considera que una dieta equilibrada es prioritaria para mantener la salud. Por lo que es de vital importancia

el estudiar los alimentos nutraceuticos ya que con su investigación, se pueden conocer los aportes de estos alimentos generando un mejor aprovechamiento de ellos (Levy *et al*, 1996., National Institute of Nutrition, 1996., Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, 1996).

4. ANTECEDENTES

4.1 DEFINICION DE ALIMENTO FUNCIONAL Y NUTRACEUTICO.

Aunque no existe un acuerdo general sobre qué son los *alimentos funcionales*, en Europa se acepta la definición del término propuesta por Robertfroid (1996), de la Universidad Católica de Lovaina: "un alimento se le considera funcional si contiene un componente alimenticio (sea un nutrimento o no) con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, cuyos efectos positivos justifican que pueda reivindicarse que es funcional (fisiológico) o incluso saludable. En la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos los han definido alimentos que "engloban productos potencialmente saludables" en los que se incluye "cualquier alimento o ingrediente alimenticio modificado que pueda proporcionar un beneficio para la salud además de los nutrimentos tradicionales que contiene (Thomas *et al*, 1994., Stephen, 1996).

Los *alimentos nutraceuticos* son otro concepto y se refiere a cualquier sustancia que pueda considerarse alimento o parte de un alimento y que tenga beneficios médicos o sanitarios, incluyendo la prevención y el tratamiento de enfermedades

(Foundation for Innovation in Medicine). Sin embargo, parece que existe un acuerdo internacional bastante extendido en que no se va a permitir que ningún alimento lleve reivindicación alguna referente a tratamiento de enfermedades (reivindicaciones médicas)(Cockbill, 1994 y National Institute of Nutrition, 1996., Scott *et al*, 1996).

En algunos casos, la relación entre un componente alimentario (por ejemplo, el calcio) y su efecto preventivo de un estado patológico (por ejemplo, la osteoporosis) es bastante clara. En otros casos se ha observado que el consumo de ciertas especies vegetales contribuye a la prevención o tratamiento de enfermedades como los llamados "trastornos gastrointestinales" y que sin darnos cuenta constituyen un alimento nutracéutico preventivo para la población de escasos recursos principalmente (**Cuadro 2**). Dado que las especies vegetales contienen pigmentos, es recomendable hacer algunas pruebas para conocer el contenido de estos compuestos en las especies y reforzar con ello su propiedad nutracéutica (Shaw *et al*, 1995).

Cuadro 2.

EJEMPLOS DE COMPONENTES EN LOS ALIMENTOS QUE ACTUAN COMO NUTRACEUTICOS.

COMPUESTO	FUNCION
Cloruros	Presión osmótica, equilibrio ácido-base, ácido clorhídrico en jugo gástrico.
Cromo	Regulación de la glucemia y metabolismo de la insulina
Flúor	Estructura ósea y dental
Yodo	Constituyente de la tiroxina y la triyodotironina
Hierro	Estructura de la hemoglobina y la mioglobina para el transporte de O ₂ y CO ₂
Tocoferoles	Antioxidante, anticancerígenos
Alfa, Beta y Gamma carotenos	Visión nocturna, desarrollo óseo y dental, formación y maduración de epitelios. anticancerígenos
Naftoquinonas	Formación de protombina
Clorofilina	Conjugado da propiedades antimutagénicas, proporcional al contenido de vitamina K., por consiguiente anticuagulante.

Fuente: International Food Focus Limited, 1995., Stavric, 1994

4.2 ESPECIES VEGETALES EN MÉXICO.

México cuenta con un número considerable de especies vegetales de las cuales no solo se les ha atribuido un uso efectivo para el tratamiento de diversos padecimientos entre los que destacan las enfermedades relacionadas con el aparato digestivo, considerándolos como fuentes naturales de compuestos nutraceuticos (Rojas *et al*, 1996).

La flora mexicana, con su gran diversidad y riqueza, constituye indudablemente el principal recurso terapéutico empleado en la Medicina tradicional. Estudios recientes indican que en México existen siete mil especies vegetales, botánicamente clasificadas, que son utilizadas, por la población mexicana con fines curativos (Lozoya, 1993). Estas especies incluyen un "grupo básico de 1000 plantas", mismo que ha sido empleado en la Medicina Tradicional de México durante casi 400 años. La gran mayoría de estos vegetales son utilizados para el tratamiento de enfermedades comunes tales como infecciones respiratorias y de la piel, desórdenes gastrointestinales, hipertensión, dolor y diabetes o para inducir el sueño o el parto algunas de estas enfermedades asociadas con una mala nutrición en los individuos (Lozoya, 1994).

Dichas especies aún en nuestros días siguen siendo utilizadas ampliamente por la población mexicana sobre todo en aquellas en las que los recursos económicos son escasos. Por lo tanto, es importante relacionar el efecto de estas especies vegetales con el estado nutricional de la persona que los consume, debido a que los

llamados “trastornos gastrointestinales” afectan en forma diferente en cuanto a la edad, sexo y el estado nutricional de cada paciente., en el **Cuadro 3a,b.**, se señalan las plantas más utilizadas en la Medicina Tradicional Mexicana para tratar los “trastornos gastrointestinales”.

Cuadro 3- a.

ESPECIES EMPLEADAS PARA EL TRATAMIENTO DE TRASTORNOS GASTROINTESTINALES EN LA MEDICINA TRADICIONAL MEXICANA.

NOMBRE BOTANICO	NOMBRE COMÚN	DESORDEN GASTRO INTESTINAL	REFERENCIA.
<i>Allium sativum</i>	Ajo	Antihelmintica	Martínez, M., 1969.
<i>Ambrosia artemisiaefolia</i>	Altamisa	Antihelmintos, digestivo	Martínez, M., 1969
<i>Argemone mexicana</i>	Chicalote	Diarreas	Hernández, R., 1989
<i>Atropa belladonna</i>	Belladona	Hipertensión gástrica y cólicos intestinales	García, H., 1991.
<i>Bixa orellana</i>	Aciote	Purgante	Martínez, M., 1969.
<i>Brickellia canillesi</i>	Atanasia amarga	combatir la atonía secretora y matriz del aparato gastrointestinal	Martínez, M., 1969.
<i>Cacalia descomposita</i>	Matarique	Diarrea.	García, H., 1991.
<i>Castela toriuosa</i>	Chaparro amargo	Contra disentería	Martínez, M. 1969
<i>Chenopodium</i>	Chenopodio	Diarreas rebeldes	García, H., 1991.

<i>bonus euricus</i>			
<i>Cipressus semprevivirens</i>	Cipres	Calma diarreas	Hernández, R., 1989.
<i>Conyza filaginoides</i>	Comolxochitl	Desordenes gastrointestinales	Martínez, M., 1969.
<i>Coroonopus didymus</i>	Mastuerzo	Diarrea crónica	García, H., 1991.
<i>Coriandrum sativum</i>	Cilantro	Previene gases intestinales	Hernández, R., 1989.
<i>Coutareu latiflora</i>	Copalchi	Diarrea	Hernández, R., 1989.
<i>Croton fragilis</i>	Tanché	Desordenes gastrointestinales	Martínez, M., 1969.
<i>Cucurbita maxima</i>	Calabaza	Contra Tenia y lombrices.	Martínez, M., 1969.
<i>Dioscorea mexicana</i>	Barbasco	Cólicos, Diarrea crónica.	García, H., 1991.
<i>Dononaea viscosa.</i>	Chapuliztli.	Cólicos	Martínez, M., 1969.
<i>Eupatonium collinum</i>	Hierva del angel	Para afecciones del aparato digestivo.	Martínez, M., 1969.
<i>Eupatonium prostata</i>	Hierva de la golondrina	Diarreas y evacuaciones líquidas	Martínez, M., 1969.
<i>Garrya lanfolia</i>	Cuahuchichic	Contra diarreas crónicas.	Martínez, M., 1969.
<i>Gymnosperma glutinosum</i>	Escobilla	Desordenes gastrointestinales	Martínez, M., 1969.
<i>Haematoxylum campecluonum</i>	Campeche	Contra diarreas crónicas	García, H., 1991.
<i>Joeniculum vulgare</i>	Hinojo	Contra gases del estómago e intestino	García, H., 1991.

Cuadro 2-b.
ESPECIES EMPLEADAS PARA EL TRATAMIENTO DE TRASTORNOS
GASTROINTESTINALES EN LA MEDICINA TRADICIONAL MEXICANA

<i>Laurus nobilis</i>	Laurel	Contra flatulencias y gases	García, H., 1991.
<i>Laxodium mucronatum</i>	Ahuehute	Diarrea	Hernández, R., 1989.
<i>Matricaria chamorrilla</i>	Manzanilla	Contra cólicos gaseosos flatos	García, H., 1991.
<i>Mentha piperita</i>	Hiervabuena	Flatulencia y cólicos	Martínez, M., 1969.
<i>Monarda didyma</i>	Melisa	Diarrea, cólicos y flatulencias	García, H., 1991.
<i>Myntus comunis</i>	Arrayan	Diarrea y cólicos	Hernández, R., 1989.
<i>Myristica moshcatella</i>	Nuez moscada	Diarrea	García, H., 1991.
<i>Opuntia vulgaris.</i>	Nopal	Diarrea	García, H., 1991.
<i>Parthenium tomentosum</i>		Desordenes gastrointestinales	Martínez, M., 1969.
<i>Persea americana</i>	Aguacate	Antigelmicos	Martínez, M., 1969.
<i>Physalis costomatl</i>	Costomate	Antidiarreica	Martínez, M., 1969.
<i>Pimpinella anisum</i>	Anis	Contra gases intestinales y cólicos.	Martínez, M., 1969.
<i>Plantago majus</i>	Llantén	Contra flujos intestinales	García, H., 1991.
<i>Potentilla thurberi</i>	Hierva colorada	Desordenes gastrointestinales	Martínez, M., 1969.
<i>Pterogonum atrorubens</i>	Hierva colorada	Desordenes gastrointestinales.	Martínez, M., 1969.
<i>Rumex hymenosepalus</i>	Canagria	Contiene las diarreas	Martínez, M., 1969.

<i>Sempervivum tectorum</i>	Siempre viva	Cólicos ventosos y flatos	García, H., 1991.
<i>Solanum rostratum</i>	Abrojo, Mala mujer, duraznillo	Caligula	García, H., 1991.
<i>Tagetis erecta</i>	Cempazuchil	Contra cólicos ventosos	Martínez, M., 1969.
<i>Zornia dyphilla</i>	Hierva de la víbora	Desordenes gastrointestinales.	Martínez, M., 1969.

Las encuestas nacionales realizadas por investigadores del Instituto Mexicano del Seguro Social durante la última década, sobre el uso de remedios vegetales en la Medicina Tradicional mexicana, indican que aproximadamente el 78% de las plantas que prescriben los médicos tradicionales se emplean para el tratamiento de padecimientos digestivos, respiratorios y de la piel (Aguilar y Camacho, 1984; Lozoya *et al*, 1987; Aguilar, 1994). Resulta interesante señalar que el mayor porcentaje de estas especies vegetales (38%) se utiliza para tratar diversos desórdenes gastrointestinales e incluyen plantas a las que se les atribuyen efectos antiparasitarios, espasmolíticos, laxantes, antidiarreicos y coléricos (Aguilar y Camacho, 1984; Lozoya *et al*, 1987). También cabe hacer notar que esta información corrobora el hecho de que las enfermedades gastrointestinales constituyen uno de los padecimientos más difundidos en el país y que de alguna manera están asociados al el estado nutricional de la población creando complicaciones y por consiguiente una descompensación nutricional, lo que demuestra que la Medicina Tradicional contribuye de manera importante a la solución de los problemas de salud más básicos de la población mexicana.

En México el porcentaje de las especies vegetales medicinales estudiadas desde el punto de vista farmacológico es relativamente bajo y actualmente se considera que de todas las especies en uso, menos del 5% de ellas son conocidas con criterios de carácter experimental y científico; incluyendo sus propiedades farmacológicas (Bye, 1995).

En el caso particular de las plantas utilizadas para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales, las cinco especies de mayor uso en nuestro país son las siguientes: ***Mentha piperita*** (espasmolítico y digestivo), ***Matricaria chamomilla*** (espasmolítico, antiinflamatorio y digestivo), ***Artemisia mexicana*** (desparasitante y espasmolítico), ***Teloxys ambrosioides*** (desparasitante y espasmolítico) y ***Psidium guajava*** (antidiarreico) (Lozoya *et al*, 1987). Es importante señalar que estas plantas ya han sido objeto de estudios fitoquímicos y farmacológicos que de alguna manera permiten explicar, parcial o totalmente, su uso medicinal. Sin embargo, cabe mencionar que estos estudios, realizados en gran parte por investigadores extranjeros, no fueron el resultado de investigaciones interdisciplinarias sistemáticas, sino más bien el producto de trabajos aislados.

4.3 FRECUENCIA DE EMPLEO DE PLANTAS MEDICINALES EN MEXICO.

En algunos estados de la Republica Mexicana (Puebla, Oaxaca, Sonora y Querétaro), se llevaron a cabo estudios donde se recopiló la frecuencia de uso medicinal de algunas plantas destacando por su importancia los géneros:

Bursera, Solanum, Chamaesyce, Ficus, Heliocarpus y Lantar, todos ellos con mas de cinco especies con uso medicinal registrado. **Cuadro 4.**

Cuadro 4.

GENEROS MEJOR REPRESENTADOS EN LA FLORA MEDICINAL DE LA REGION.

GENERO	FAMILIA	NUMERO DE ESPECIES
<i>Bursera</i>	Burseraceae	9
<i>Solanum</i>	Solanaceae	7
<i>Quercur</i>	Fagaceae	6
<i>Acacia</i>	Leguminosae	5
<i>Chamaesyce</i>	Euphorbiaceae	5
<i>Ficus</i>	Moraceae	5
<i>Heliocarpus</i>	Tiliaceae	5
<i>Lantana</i>	Verbenaceae	5
<i>Mentha</i>	Labiatae	5
<i>Pinus</i>	pinaceae	5

Fuente: Soto y Sausa, 1995.

Por otra parte, estos datos pueden también indicar que clase de enfermedades se combaten con mayor frecuencia, lo que a la vez nos señala las enfermedades que

presentan mayor incidencia entre la población que las usa. El **Cuadro 5**, muestra el porcentaje de informes que corresponden a las enfermedades mas reportadas en estas regiones, en la cual las que corresponden al aparato digestivo o gastrointestinal representan el 16.4% del total de usos registrados (Soto y Sausa, 1995).

Cuadro 5.

ENFERMEDADES Y FRECUENCIA DE USO DE LAS PLANTAS MEDICINALES USADAS EN SU TRATAMIENTO.

ENFERMEDADES	No. DE ESPECIES	FRECUENCIA DE USO	% DE INFORMES
Aparato Digestivo	106	89	16.39
Aparato Respiratorio	54	48	8.83
Piel y Tejido subcútaneo	48	48	8.83
Daños y Lesiones	44	41	7.55
Síntomas y estados Morbosos	38	34	6.26
Parto y Puerperio	39	34	6.26
Problemas Odontológicos	38	34	6.26
Sistema Nervioso	32	33	6.07
Aparato Genitourinario	35	31	5.70
Nutrición y Metabolismo	38	30	5.50
Tejido conjuntivo y Osteomuscular	34	28	5.10

Infecciones y Parasitosis	32	28	5.10
Circulación	23	24	4.40
Urticarias y Envenenamiento	25	20	3.60
Tumores	14	11	2.02
Infecciones y Parasitosis externas.	11	10	1.80

Fuente: Soto y Sausa, 1995.

En base a los antecedentes antes mencionados se retomo el estudio de plantas medicinales en el Estado de Querétaro, principalmente en las comunidades de Amealco y Tolimán, que de acuerdo a estudios previos es donde se aplica con mayor frecuencia este tipo de medicina tradicional. En las entrevistas realizadas, así como en los acercamientos con curanderos, parteras y personas que utilizan las plantas como parte de la cura se encontró que los géneros que mas utilizan son: **Bursera, Solanum, Ficus y Acacia** (Pelz y Serrano, 1999).

Es importante mencionar que no importa la parte de la planta que se este estudiando ya que cualquiera de ellas forma parte de la cura (Furness, 1982). En el caso de la **Solanum rostratum**, es una planta que pertenece a la familia de los tubérculos los cuales se caracterizan por aportar gran parte de los carbohidratos consumibles vegetalmente en nuestro país (papa, camote, yuca), este género se caracteriza por una forma cilíndrica irregular que se encuentra enterrada o semi

enterrada en la tierra de la cual se extrae y se lleva a un proceso de cocción para poder ser consumido (Borlaug, 1995), en el caso particular de la ***Solanum rostratum*** es importante señalar que no se consume en la forma tradicional como en el caso de la papa o el camote, debido a que su consumo radica principalmente en forma de agua de uso durante la temporada de calor (Marzo-Junio), ya que es en este periodo donde se manifiesta con mayor frecuencia los “trastornos gastrointestinales”, sin embargo considerando que pertenece al mismo género de la papa, yuca y del camote no se descarta la posibilidad de su consumo como fuente de carbohidratos (Hevia, 1988).

Además es una planta originaria de México de la cual no se encuentran muchas referencias históricas de los usos, ni se han realizado estudios farmacológicos y toxicológicos que determinen con precisión las acciones biológicas de esta planta y la seguridad de su uso.

4.4 DESCRIPCION DE LA ESPECIE *SOLANUM ROSTRATUM* DUNAL.

Dentro del género de ***Solanum***, se encuentra la ***S. rostratum*** Dunal, la cual es empleada para tratar problemas gastrointestinales en diferentes regiones del país (Williams, 1981).

Es una planta anual de 70 cm de altura, provista de pelillos y con espinas lisas en toda la planta. Las hojas están divididas o partidas y un poco ásperas. Las flores las encontramos en racimos y son amarillas. Los frutos son espinosos manchaditos con abundantes semillas café-negruzcas (**Figura 3**). Es originaria de

México, y está presente en climas cálido, semicálido, semiseco y templado desde el nivel del mar hasta los 2450 metros de altitud (Argueta y Cano, 1994).

A inicios del siglo XVIII Juan de Esteyneffer hace referencia a esta planta sin indicar ningún uso medicinal. Es hasta el siglo XX que Maximino Martínez la señala como antitusígena. Se encontró que se le usa principalmente para los riñones, empleando las hojas y las flores hervidas junto con flores de cinco llagas y aceitilla, tomada como agua de uso. Para el empacho, se hierve con chía china y chía morada, y se aplica en lavado intestinal, además es empleada en trastornos digestivos, utilizando la infusión de las hojas como purgante. Un té preparado con las flores se recomienda para el dolor de estómago. Mezclado con ramas de chía y epazote de zorrillo, tomado como agua de tiempo, sirve cuando hay diarrea (Baytelman, 1993).

4.5 ESTUDIO FARMACOLOGICO E IMPORTANCIA DEL ENSAYO EN EL ILEO AISLADO DE COBAYO.

El estudio farmacológico confirma, si la planta presenta alguna acción que contribuya al alivio de los síntomas de las enfermedades gastrointestinales, como por ejemplo, reduciendo la motilidad de la musculatura lisa intestinal. En estudios farmacológicos previamente realizados por Rojas *et al*, (1999) se utilizó el modelo de íleo aislado de rata para evaluar el efecto del extracto de la planta objeto de estudio. Sin embargo, cabe hacer notar que el modelo de íleo aislado de cobayo es utilizado mas ampliamente que el de rata en estudios farmacológicos

generales, así que existe mas información bibliográfica disponible sobre íleo aislado de cobayo, lo cual permitiría comparar mas fácilmente nuestros resultados con los resultados obtenidos en otras investigaciones, decidimos utilizar el íleo de cobayo como modelo farmacológico para realizar el presente trabajo (Wagner, 1979; Achterrath-Tuckermann, 1980; Hagos, 1989; Abadia, 1989; Capasso, 1990; Capasso, 1991; Sammuelson, 1991; Morales, 1994; Lozoya, 1994). En este punto resulta conveniente hacer algunas consideraciones generales con relación a la preparación del íleo aislado y su aplicación como herramienta farmacológica para la detección de fármacos con efecto sobre el Sistema Nervioso y/o la musculatura lisa (Rojas *et al*, 1999).

El tracto gastrointestinal esta inervado por lo que se considera la tercera división del sistema nervioso autónomo (SNA), conocida como sistema nervioso entérico (SNE). Conjuntamente con el SNE, las otras divisiones del SNA (simpático y parasimpático), son las responsables del control de las secreciones y motilidad del tracto gastrointestinal (Gershon, 1981).

Se han encontrado evidencias que indican la presencia en el SNE de numerosos neurotransmisores que incluyen: la Acetilcolina (Ach), la noradrenalina, la serotonina, el ácido γ -aminobutírico (GABA), el trifosfato de adenosina (ATP), péptidos endógenos (encefalinas, dinorfinas y endorfinas), la sustancia P y el polipeptido vasoactivo intestinal (Furnes, 1982). La presencia de sustancias neurotransmisoras adicionales a la Ach y a la noradrenalina, indican una semejanza entre el SNE y el SNC (Gershon, 1981). De tal forma que la

musculatura lisa gastrointestinal constituye un tejido adecuado para la caracterización de compuestos con actividad farmacológica.

La presencia en el SNE de diversas terminales nerviosas, con diferentes neurotransmisores y varios tipos de receptores, le proporciona una gran versatilidad a la preparación de íleo aislado. Además la relativa facilidad del bioensayo y el requerimiento de pequeñas cantidades de sustancia para inducir el efecto en el íleo, hacen que este modelo sea muy apropiado para la evaluación preliminar de los efectos farmacológicos del extracto de plantas y para el monitoreo de la actividad biológica durante el proceso de aislamiento de los principios activos (Samuelsson, 1991).

Todos los estudios químicos y farmacológicos de cualquier especie tienen como objetivo el aislamiento y caracterización de sus principios activos entendiéndose como tal al compuesto químico que le da la caracterización biológica que se le atribuye y que constituye la base para la síntesis de nuevos fármacos que puedan ser aplicados para el tratamiento de diversos padecimientos (Cave, 1986; International Food Focus Limited, 1995).

En base a estos antecedentes y tomando en cuenta que la especie vegetal *S. rostratum* se encuentra dentro del consumo de la población de las comunidades de Amealco y Tolimán, pertenecientes al estado de Querétaro, tanto en forma de agua de uso o como parte de la dieta para tratar trastornos gastrointestinales y considerando que no se tienen estudios sobre esta especie, es de gran

importancia conocer los aportes tanto nutricios como farmacológicos que justifiquen su empleo dentro de la Medicina Tradicional Mexicana como alimento nutraceutico.



Figura 3
ESPECIE VEGETAL *SOLANUM ROSTRATUM* DUNAL, RECOLECTADA EN AMEALCO Y TOLIMAN,
QUERÉTARO.

5. OBJETIVOS.

5.1.- OBJETIVO GENERAL.

Determinar mediante modelos *in vitro*, el potencial de empleo de la especie vegetal ***Solanum rostratum* Dunal (Abrojo)**, como alimento nutracéutico, utilizada para el tratamiento de las enfermedades gastrointestinales.

5.2.- OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- a) Determinar la composición química de la especie vegetal ***Solanum rostratum* Dunal (Abrojo)** y su aporte nutrimental.
- b) Elucidar los mecanismos de acción del efecto farmacológico atribuido a la especie vegetal ***Solanum rostratum* (Abrojo)**.

6. HIPÓTESIS.

Con base a conocimientos científicos y empíricos en complemento a prácticas de la Medicina Tradicional en respecto al tratamiento de los “trastornos gastrointestinales”, la especie vegetal *Solanum rostratum* Dunal (Abrojo) puede mostrar un efecto farmacológico sobre el íleo aislado de cobayo que justifique su empleo como alimento nutracéutico.

7. METODOLOGIA.

La metodología, el material, el equipo y los procedimientos generales incluidos en el presente estudio son los siguientes:

7.1. MATERIALES Y EQUIPO

7.1.1 MATERIAL Y REACTIVOS DE LABORATORIO.

Material de laboratorio cristalería (matraces, pipetas, vasos, cápsulas, etc.)

Equipo Soxhlet, cristalería.

Reactivos diversos para detectar la presencia de determinados tipos de metabolitos secundarios, así como la preparación de derivados químicos útiles en el proceso de identificación.

Disolventes orgánicos grado reactivo utilizados para la separación, extracción y purificación: hexano, cloroformo, acetona, acetato de etilo y metanol.

Cámaras de vidrio para el mantenimiento de tejidos aislados durante la determinación del efecto farmacológico de los principios activos.

Tanque de oxígeno-dióxido de carbono 95:5 para la oxigenación de los tejidos aislados durante la determinación del efecto farmacológico de los principios activos.

Micropipetas (diferentes volúmenes).

Soporte para titulación

Cobayos raza Harley (300-400g)

Estuche de disección.

Jaulas de acrílico con tapa y recipiente de alimento.

Alimento Harlan para cobayos

Columnas para Cromatografía de fase inversa C-18

Columna fase móvil de gradiente en gel

7.1.2. EQUIPO.

1 Polígrafo Grass Modelo 7-8P con tres canales y tres transductores de fuerza FT03

1 Bomba recicladora de agua

1 Osciloscopio digital Tektronix modelo TDS410 de dos canales 200 MHz de ancho de banda.

1 Rotaevaporador Büchi de alto vacío versión estándar con baño, soporte y elevador, con sistema digital y display.

1 Rotaevaporador Büchi, versión estándar, con baño, soporte y elevador.

1 Bomba de vacío y aire FE-1410, 21 litros

1 Bomba de alto vacío para Rotaevaporador 0.1 micro Hg. Motor ¼ HP.

1 Baño de control de temperatura.

4 Transductores de fases.

6 Cámaras aisladas de cristal marca Pyres.

1 Estufa para secado

1 Mufla eléctrica

1 Equipo para digestión y destilación para la determinación de proteína marca

Labenco

1 Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) marca Waters

1 Detector de UV- visible programable 486

Bioterio

1 Desecador

1 Espectrofotómetro UV/VIS Beckman Modelo DU-65.

1 Balanza analítica.

1 Computadora con impresora y tarjeta Poliveum

1 Guillotina

7.2 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL

7.2.1.- RECOLECTA DEL MATERIAL VEGETAL.

Esta práctica se realizó en la localidad donde fue previamente identificada y colectada la especie seleccionada. Se depositaron muestras de referencia de la especie en el herbario de Querétaro (QMEX). Para esta etapa se contó con la colaboración y participación de la M en C. Valentina Serrano y del M. en A. Ricardo Pelz, etnobotánicos del herbario de Querétaro.

El material se seco exponiéndolo al aire y posteriormente se pulverizó.

7.2.2.- DETERMINACIÓN DE MATERIA MINERAL O CENIZAS.

El método cuantifica la materia mineral total de alimentos

Pesar aproximadamente 2g de muestra en un crisol de porcelana y calcinar durante 3 horas en una mufla precalentada a 550-600°C.

Enfriar el crisol en desecador y pesar rápidamente calculando porcentaje de cenizas hasta la primera cifra decimal.

Se sugiere aumentar una hora más si no se ha eliminado todas las partículas de carbón.

Evitar sobrecargar la mufla y no abrir durante las 3 horas de calcinación de la muestra, para evitar pérdidas de la misma (AOAC, 1990).

CALCULOS:

$$(W1 + M1) - (M2 - W1) * 100 = \% \text{Cenizas.}$$

W1 = Peso del crisol

M1 = Peso de la muestra

M2 = Peso de la muestra calcinada.

7.2.3. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Debe tenerse cuidado en aquellas muestras que han sido suavizadas o fundidas, donde la humedad se sedimenta por lo que la muestra debe mezclarse en forma cuidadosa para distribuir bien el agua.

Determinación:

Se pesan exactamente 5 g de muestra, en una cápsula de humedad previamente colocada a peso constante, es decir, la cápsula se debe colocar y secar en un estufa a 101°C. Y enfriando en un desecador. Posteriormente se pesa hasta que la variación del peso no exceda 0.05% de peso.

Colocar la muestra en la estufa por 30 minutos a 101°C sacar y enfriar en un desecador a temperatura ambiente y pesar.

Repita el procedimiento anterior hasta que la pérdida de peso no exceda 0.05% en un periodo de 30 minutos de secado (AOAC, 1990).

Cálculos:

$\% \text{ DE HUMEDAD Y MATERIA VOLATIL} = \frac{W2 - W1}{W \text{ MUESTRA}} \times 100$

W2 = peso de cápsula (Constante) + muestra.

W1 = peso de cápsula + muestra (después de secado)

7.2.4. DETERMINACION DE GRASA POR EL METODO SOXHLET A. O. A. C.

Se pesan 5 g de muestra en la balanza analítica, previamente molida y homogenizada en un molino, de tal manera que el tamaño de la partícula que se obtenga logre pasar a través de una criba del No. 20 ó 30.

La muestra de alimento con alto contenido de grasa no se muelen ni se pesan directamente.

La muestra se coloca en un papel filtro y se envuelve en un segundo papel filtro, doblando de tal manera que prevenga la salida de la muestra de acuerdo al siguiente dibujo.

Se coloca el cartucho con la muestra en el tubo de extracción que se ensambla con el matraz y el refrigerante, este último se coloca previamente a peso constante, en él se depositara el éter para iniciar la extracción.

Se calienta la muestra en la parrilla eléctrica de tal manera que la velocidad del solvente al caer del condensador en el centro del cartucho sea de 150 gotas por minuto, es decir, a una velocidad de 2-3 por segundo

Mantener el volumen del solvente adicionando suficiente cantidad para evitar cualquier pérdida debido a la evaporación, continuar la extracción por 4 hrs.

Enfriar y desconectar el vaso de extracción y evaporar o recuperar el solvente.

Evaporar el agua destilada a baño María hasta que ningún olor de éter permanezca una corriente suave de aire se puede utilizar para facilitar la eliminación del solvente, eliminar cuidadosamente cualquier resto de humedad o suciedad exterior del vaso, poner a peso constante (101°C por ½ hora) y colocar en un desecador, enfriar a temperatura ambiente y pesar (AOAC,1990).

Calculo:

$$\% \text{ DE GRASA} = \frac{W2 - W1 \times 100}{W \text{ MUESTRA}}$$

W2 = Peso inicial (matraz y muestra)

W1 = Peso del matraz a peso constante

7.2.5. DETERMINACION DE PROTEÍNA TOTAL POR EL MÉTODO KJELDHAL

Método modificado de la A.O.A.C. Se pesan 1-2 g de muestra a analizar y se pasa a un matraz de digestión Kjeldhal de 500 ml perfectamente seco, procurando que la muestra no quede adherida a las paredes y cuello (se puede hacer uso de un embudo de pata larga se añade 8g de muestra catalítica y 20-25 ml de ácido sulfúrico concentrado y se mezcla por agitación.

Se calienta el matraz provisto de una trampa, en posición inclinada acondicionada para poder impedir la salida de gases hacia el exterior.

Se calienta suavemente al principio y en cuanto no se forme espuma, se aplica gradualmente más calor hasta que el líquido hierva moderadamente.

De vez en cuando se hace girar el matraz con el fin de recoger cualquier material carbonizado adherido a la pared.

Una vez aclarado el líquido (color verde agua cristalino), se continúa calentando por una hora más.

Se deja enfriar el matraz y se diluye la muestra con 200 ml de agua destilada y se traspasa a un matraz de destilación de un litro.

A parte se coloca un matraz con vaso colector de 50 ml de HCl 0.1 molar y se añade el matraz de destilación 1g de granalla de zinc y se conecta al aparato al tubo de salida, el cual se introduce a la solución de ácido.

Se comprueba que todas las condiciones estén bien ajustadas y se añade el matraz de destilación de 50 ml de NaOH al 50%, se tapa el matraz de destilación y se hierve la solución cuidando de que no se forme excesiva espuma y se destila hasta un volumen de 300 ml.

Posteriormente el destilado se valora con NaOH 0.1 molar

Se determina N total de multiplicado por un factor de conversión se hace equivalente al % de proteína presente en el alimento (AOAC, 1990).

Cálculos:

$$\% N = (A - B) \times C \times D \times 100$$

A = ml solución gastados en la muestra problema

B = ml solución gastados del blanco

C = meq. N₂ 0.014

D = Normalidad ácido

M = peso de muestra.

7.2.6. DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA O FIBRA TOTAL.

W RESIDUO INICIAL - W RESIDUO DESPUÉS DE INCINERAR.

Se pesan 2 g de muestra desgrasada con hexano y se añaden 200 ml de ácido sulfúrico al 1.25%, en un vaso de precipitado de 400 ml, agítelo para ácido sulfúrico al 1.25%, en un vaso de precipitado de 400 ml agítelo para desintegrar los grumos.

Cubrir el vaso con un vidrio de reloj y hervir 30 minutos, se reponen las pérdidas de volumen que se produzcan durante la ebullición con agua destilada.

Se filtra la solución a través de un papel filtro y se lava el residuo con agua destilada.

Se lava y arrastra el residuo a un vaso de precipitado con ayuda de un total de 100 ml de agua destilada caliente.

Añadir 100 ml de hidróxido de sodio al 2.5%

Hervir por 30 minutos y reponga las perdidas de volumen con agua destilada.

Previamente se coloca un papel filtro a peso constante y lavar hacia el papel filtro los residuos que puedan quedar adheridos alas paredes del vaso.

Dejar drenar el líquido a través del papel y páselo a la cápsula desecar por 3 hrs a 105°C y pesar.

Vuelva a desecar por 15 minutos y pesar de nuevo para comprobar si el peso es constante (AOAC, 1990).

Cálculos:

$$\% \text{FIBRA TOTAL} = \frac{W4 - (W1 + W2 + W3)}{W3} \times 100$$

W1 = Cápsula 115°C

W2 = papel filtro a peso constante.

W3 = muestra

W4 = crisol + muestra + papel después de la calcinación.

7.2.7 ENSAYO ENZIMÁTICO *IN VITRO* CON CUATRO ENZIMAS PARA DETERMINAR LA DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA.

Moler las mezclas hasta obtener un polvo fino que pasará a través de una malla del número 80. Agregar 10 ml de agua destilada a la muestra en polvo (la cantidad de muestra agregada es la suficiente para contener 6.25 mg de proteína /ml).

Se deja que la muestra se hidrate por lo menos una hora, pero no más de 24 horas, a una temperatura de 5°C. Posteriormente se ajusta a un pH de 8.0 a 37°C una solución de tres enzimas que contenga 1.6 mg de tripsina, 3.1mg de quimotripsina y 1.3 mg de peptidasa por ml de agua destilada.

La muestra también se ajusta a un pH de 8.0 a 37°C, una vez que se ajustó a un pH 8.0 a 37°C, se agrega un ml de solución de las tres enzimas a la muestra en suspensión, y la mezcla resultante se agita mientras se mantiene a 37°C.

Exactamente a los 10 minutos del momento en que agregó la solución enzimática de tripsina-quimotripsina-peptidasa a la muestra de proteína que se está agitando en un baño de agua a 37°C, se le agrega 1ml de una solución de proteasa bacteriana (7.95 mg enzima / ml). Se transfiere la solución inmediatamente a un baño de agua a 55°C.

Nueve minutos después de agregar la solución de proteasa bacteriana a la muestra, se transfiere la muestra del baño de agua a 55°C al de 37°C.

Exactamente a los diez minutos que la muestra recibió la enzima bacteriana proteasa, se toma el pH del hidrolizado enzimático. El pH medido se anota como el pH a los 20 minutos.

La digestibilidad de la proteína *in vitro* de la muestra se calcula entonces por medio de la ecuación siguiente:

$$\% \text{ digestibilidad} = 234.84 - 22.56x$$

x es el pH tomado después de 20 minutos de incubación.

7.2.8. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CLOROFILINA EN PULVERIZADO DE *Solanum rostratum*.

La extracción de clorofilina (sal de sodio y cobre de la corofila), se realiza siguiendo el método de la AOAC (1990), a partir de 1g de pulverizado de *Solanum rostratum* y reextractando con acetona al 85% en 3-4 ocasiones con volúmenes de 40 ml en cada ocasión, se tendrá como indicador la disminución del color en

cada fracción de la mezcla que se extraiga, el extracto se recolectara por filtración en un matraz aforado de 100ml y diluido con acetona al 85%, se tomara una alícuota de 25 ml, la cual se vierte en un embudo de separación con 50 ml éter; posteriormente se efectuaran 10 lavados con agua destilada, para favorecer el paso del pigmento extraído en acetona a la fase de éter, los lavados requieren de dos embudos colocados verticalmente en un soporte de tal manera que el tubo de salida del embudo superior y que contiene la mezcla éter - acetona al 85%, quedará dentro del embudo inferior el cual contiene agua, de este modo la mezcla se lavara gota a gota a través del agua. Una vez terminado el lavado, se transfiere a una solución de éter, en un matraz de 100ml, aforando el volumen con éter.

La identificación del pigmento y su cuantificación se realiza espectrofotométricamente mediante un barrido (300-700 nm) y lecturas directas a 660nm y 642nm respectivamente en espectrofotómetro UV/VIS (Beckman Modelo DU-65).

$$\text{CLOROFILINA (mg/Kg)} = (9.93 * A_{660} - 0.77 * A_{642.5}) * 1000$$

A= Absorbancia

7.3 ESTUDIO FARMACOLÓGICO.

7.3.1. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO PRELIMINAR DE LA ESPECIE OBJETO DE ESTUDIO.

Para la realización de la evaluación farmacológica preliminar se prepara el extracto a partir de pequeñas cantidades del material vegetal (50g). Para la obtención del extracto se seleccionó como disolvente una mezcla de cloroformo-metanol 1:1.

7.3.2. EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA PRELIMINAR DE LA ESPECIE VEGETAL PROPUESTA.

Para el registro de íleo aislado se utilizan cobayos cepa Harley con un peso aproximado entre 300 y 400 g. Se sacrifican los animales por decapitación y el intestino delgado disectado, se coloca en solución Krebs-Henseleit (mM): NaCl 119, KCl 4.6, NaHCO₃ 20, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.2, CaCl₂ 1.5 y glucosa 11.4 (pH 7.4), burbujeando constantemente con una mezcla gaseosa 5% de CO₂ en O₂.

Se separará la porción correspondiente al íleo y se harán cortes transversales para obtener anillos de aproximadamente 1 cm de longitud. Estos se colocarán posteriormente en cámaras de incubación con solución Krebs-Henseleit a 37°C y con el burbujeo constante de la mezcla de CO₂-O₂. Las contracciones mecánicas se registrarán isométricamente por medio de transductores de fuerza Grass Modelo FT03 acoplados a un polígrafo Grass de 4 canales Modelo 7D.

La actividad espontánea del íleo se mantendrá a una tensión de (1 g), después de un periodo de estabilización de 30 minutos se registrará la actividad espontánea durante 10 minutos; estos registros se utilizarán como control. Al cabo de este periodo, se evaluarán los efectos a diferentes concentraciones del extractos durante 10 minutos. Los resultados obtenidos se compararán con el control (Rojas, 1995).

7.3.3. ANÁLISIS DE LOS DATOS FARMACOLÓGICOS.

El efecto del extracto se determina comparando el área bajo la curva obtenida a partir del registro gráfico de la frecuencia y la amplitud de las contracciones del íleo, antes y después de la aplicación del extracto. Las áreas de los registros gráficos obtenidos a partir del polígrafo se calculan mediante el empleo de una tarjeta analógica-digital (CPLAB-10) y un programa de computo diseñado especialmente. Los valores se expresan como el porcentaje de inhibición de la respuesta contráctil, calculado a partir de 6 experimentos \pm la desviación estándar. Las diferencias entre las medias de dos grupos se estimarán mediante una prueba de t de Student.

Las curvas concentración-respuesta inhibitoria obtenidas para el extractos se grafican y los datos experimentales se ajustan mediante un programa de ajuste no lineal (ORIGIN 4.1) y se calculan las IC_{50} (Concentración a la cual se obtiene el 50% de inhibición máxima)(Schwinghammer y Kroboth, 1988).

7.3.4. PREPARACIÓN A GRAN ESCALA DEL EXTRACTO ACTIVO.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la evaluación farmacológica preliminar se procede a la obtención a gran escala del extracto activo, para lo cual se emplean las técnicas fitoquímicas convencionales de extracción, utilizando aproximadamente 4 Kg de material vegetal.

7.3.5. FRACCIONAMIENTO BIODIRIGIDO DEL EXTRACTO ACTIVO.

Dependiendo de la complejidad y solubilidad del extracto activo, se emplean técnicas de fraccionamiento que incluyen básicamente procesos cromatográficos. Con el fin de aislar los principios activos, se evalúa la actividad antiespasmódica de cada una de las fracciones obtenidas. El empleo del ensayo farmacológico de íleo aislado para el monitoreo de la actividad antiespasmódica a lo largo de los procesos de fraccionamiento y separación, constituye una práctica rutinaria.

7.3.6. ANÁLISIS QUÍMICO DE LAS FRACCIONES ACTIVAS.

Todas las fracciones se analizan mediante cromatografía en capa fina y se unen considerando la homogeneidad cromatográfica y la actividad biológica.

7.3.7. CROMATOGRAFIA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCION.

Para determinar los tiempos de retención de el extracto de *S. rostratum*, se procedió a inyectar el extracto de la fracción mas activa cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC), para determinar su perfil y aislar el o los principios activos.

En este análisis se utilizó un sistema cromatográfico marca Waters integrado por una bomba cuaternaria 600 provisto de un inyector manual Rheodyne 7725i, un detector de UV-visible programable 486. Se empleó una columna de fase inversa C-18 y una fase móvil formada por CH₃CN-H₂O, entregado al flujo de 10 ml/min en forma de gradiente como se indica a continuación:

T	(%) CH ₃ CN	(%) H ₂ O
0	3	97
10	20	80
23	20	80
25	3	97

7.3.8. CARACTERIZACIÓN FARMACOLÓGICA PRELIMINAR DEL MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS.

Con la finalidad de iniciar la caracterización farmacológica del mecanismo de acción de los principios activos, se investiga su efecto sobre las contracciones del íleo inducidas por diferentes agentes espasmógenos (Acetilcolina, Histamina, KCl 30 mM y BaCl₂). En estas evaluaciones se realiza el mismo proceso metodológico descrito en la sección 7.3.3, con las siguientes modificaciones: después del período de estabilización de 30 minutos, se agregan los principios activos a las IC₅₀ obtenidas a partir de las gráficas concentración-efecto inhibitorio de las contracciones espontáneas. Se deja que las sustancias actúen en el íleo durante un período de 10 minutos y posteriormente se agregan los espasmógenos a sus respectivas concentraciones mínimas que producen un máximo efecto excitatorio. La respuesta del extracto clorofórmico-metanólico (1:1 v/v) de *S. rostratum* sobre las contracciones inducidas por los diferentes agonistas se registra durante 10 minutos y el efecto se determina comparando las áreas bajo la curva de los registros obtenidos en presencia y en ausencia de la sustancia de prueba (Granger, 1986).

El efecto de los compuestos se determina comparando el área bajo la curva de los registros correspondientes a la respuestas control, con las áreas de los registros obtenidos de la adición de las sustancias de prueba.

8. RESULTADOS Y DISCUSIONES.

Los resultados obtenidos a partir de un estudio farmacológico previamente realizado con 10 plantas utilizadas en la Medicina Tradicional Mexicana para tratar desordenes gastrointestinales, demostraron que la especie vegetal ***Solanum rostratum*** presenta un efecto relajante de la musculatura lisa intestinal. El extracto clorofórmico-metanólico (1:1) de ***S. rostratum*** produjo una inhibición, dependiente de la concentración, de las contracciones espontáneas del íleo aislado con una $IC_{50} = 9.56 \pm 2.17 \mu\text{g/ml}$. Dicho extracto resultó ser menos potente que el extracto de *Datura lanosa*, que se empleo como control positivo debido a su alto contenido de escopolaminas (Rojas *et al*, 1999). Con base en la actividad farmacológica presentada por el extracto clorofórmico-metanólico (1:1) de ***S. rostratum***, se consideró que esta especie podría constituir un candidato idóneo para realizar un estudio fitoquímico biodirigido con el objeto de aislar y caracterizar los principios activos responsables del efecto antiespasmódico que presenta la planta. La presente disertación comprende la evaluación farmacológica del extracto de ***S. rostratum*** y de las fracciones obtenidas a partir del fraccionamiento cromatográfico del extracto. Así mismo, considerando que la planta es utilizada como alimento para preparar guarniciones en algunas regiones de América del Sur (Alvarez, 1989), en este trabajo también se realizó un análisis bromatológico de la planta con el fin de determinar su valor nutrimental.

En primer lugar se describen los resultados obtenidos en el estudio químico proximal. Estos análisis se realizaron en base seca.

8.1. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL.

CUADRO 6.

ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE LA ESPECIE VEGETAL *SOLANUM ROSTRATUM* (g/100 en base seca).

ANÁLISIS	% REPORTADO
Humedad	7.0 ± 0.5
Cenizas	18.565 ± 0.9029
Proteína	12.95 ± 0.4949
Extracto etéreo	2.10456 ± 0.05
Fibra cruda	14.2524 ± 1.25
Carbohidratos totales	55.4 ± 1.1015
Digestibilidad	70.904 ± 1.24
Clorofilina	74.96

Los datos referidos en este cuadro representan una $n=3 \pm S.D$

En el **Cuadro 6**, se observa claramente que la especie *S. rostratum* tiene un alto contenido de proteína siendo de 12.95%, aún por arriba del porcentaje registrado para nopal (*Opuntia ficus indica*) deshidratado siendo de 8.05%, de acuerdo a lo reportado por Cárdenas, Serna y Velazco (1998). Se menciona esta referencia por el consumo tan frecuente del nopal y por ser una especie vegetal a la que se le

atribuyen efectos terapéuticos entre las que se pueden mencionar el tratamiento de hiperglucemia, hipercolesterolemia, aterosclerosis, úlcera gástrica, disnea y como adelgazante, aun cuando se siguen efectuando investigaciones al respecto para confirmar lo anterior (Story and Kritchevsky, 1976; Anderson y Chen, 1979; Lopez, 1988). Además el nopal (*Opuntia ficus indica*) es un vegetal que se ha utilizado en México como alimento desde tiempos prehispánicos. El contenido de proteína de *S. rostratum* es comparable al de algunos cereales como el amaranto (*Amarantus hypochondriacus*) cuyo contenido de proteína se reporta entre un 14 y 18%, la quinona (*Chenopodium quinoa*), con un contenido de 11 y 15% y la harina de maíz nixtamalizada con un valor de entre un 8.5 a 34% (Betschart *et al*, 1981; Coulter y Lorenz, 1990; Trejo *et al*, 1990; Lehmann, 1996).

Es importante señalar, que el valor para la digestibilidad de la proteína presente en *S. rostratum* fue de $70.904 \pm 1.24\%$, la cual puede compararse al de los valores de digestibilidad obtenidos por Saundes *et al*, (1973) para el concentrado de proteína de alfalfa quienes mencionan valores en un rango del 80 al 90%. Marques *et al*, (1993), indican valores de digestibilidad en un rango de 60 al 66% para la proteína del frijol común (*Phaseolus vulgaris*), del 79.23% para la del garbanzo y de 78% para la de la lenteja. En este punto cabe aclarar que los valores de digestibilidad para las proteínas de origen vegetal es variable dependiendo de la metodología empleada para tal fin, por tal motivo se compara con la digestibilidad obtenida para la caseína que se considera una proteína de

alta calidad siendo del 96.24% lo que reportan estos mismos autores, mientras que en esta investigación resulto del $92.02 \pm 0.42\%$.

Lo anterior sugiere la posibilidad de emplear y promover la preparación de alimentos deshidratados de origen vegetal para consumo humano, aunque ello implique llevar a cabo estudios de evaluación sensorial para determinar su grado de aceptación entre los consumidores potenciales y efectuar las modificaciones en cuanto a sabor y olor si los resultados obtenidos así lo ameritaran. Es un hecho que las posibilidades de producir proteínas para el consumo humano a partir de hojas verdes se han investigado de tiempo atrás, en las que se puede utilizar cualquier clase de hojas como materia prima, ya que la técnica de extracción es básicamente la misma y esto no implicaría un obstáculo para explorar nuevas fuentes de proteína para la población (López, 1988; Blumberg, 1994).

El contenido de fibra de la especie *S. rostratum* fue de 14.778% también superior al que presenta el nopal deshidratado estudiado por los autores anteriormente señalados, esto permite sugerir a la *S. rostratum* como una fuente importante de fibra para nuestro país, ya que como sabemos la fibra es importante dentro de la ingesta diaria cuyo requerimiento para una dieta de 1000 Kcal es de 10 a 13 g. Esta cantidad diaria ayuda a aumentar el tránsito intestinal, a la formación de las heces, así como a la absorción de nutrimentos. La fibra también actúa en la interacción y excreción de ácidos biliares y carcinógenos, aumenta la excreción de nutrimentos inorgánicos y disminuye el pH, la flatulencia etc., con lo anterior y

tomando en cuenta el alto contenido de fibra en la especie *S. rostratum*, se puede sugerir su empleo como alimento nutracéutico (López *et al*, 1997).

El contenido de cenizas es muy alto (18.565%), pero es importante mencionar que este análisis se llevó a cabo en base seca del material vegetal, lo cual contribuye a que su contenido en minerales sea muy elevado con respecto a otros alimentos cuyo contenido de cenizas se reporta en base húmeda. Sin embargo estos resultados de cenizas son semejantes a lo reportado por Fernández (1949) quien detectó un contenido del 13.67 al 21.05% para el nopal deshidratado, lo cuál reafirma que en base seca los alimentos incrementan el porcentaje de minerales, considerando que para el nopal el porcentaje de cenizas en muestra humedad es de 13.68% (Cárdenas *et al*, 1998). El alto contenido de sales inorgánicas en productos de origen vegetal puede atribuirse a la magnitud de sus raíces, que tienen gran capacidad de absorberlas de la tierra (López, 1988).

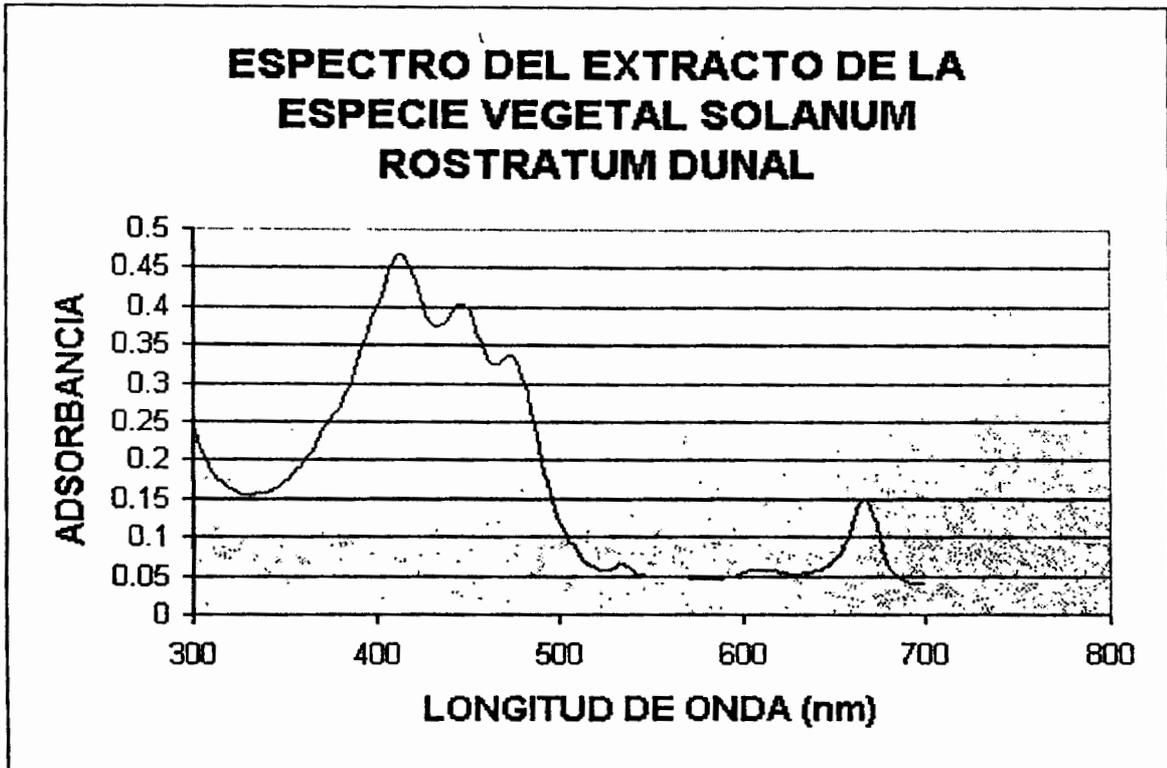
Los carbohidratos totales fueron obtenidos por diferencia a 100% del resto de los componentes, obteniéndose un valor promedio del 55.4% lo que representa el hecho de que se pueda utilizar no solo como fuente de proteína de origen vegetal o bien, como complemento en la dieta baja en fibra, si no que además puede generar un aporte de energía por carbohidratos, ya que el extracto etéreo (2.105%), no proporciona un porcentaje muy alto, el cual tampoco se considera nulo, en comparación con el nopal deshidratado cuyo contenido de lípidos es de 1.25%, este mismo valor disminuye con respecto a los valores reportados en base humedad siendo de 1.81% (Cárdenas *et al*, 1998).

La identificación del extracto de clorofilina se efectuó mediante espectrofotometría, la **Figura 4**, muestra el espectro de absorción obtenido para el extracto de **S. rostratum**, empleando etér etílico como solvente, en ella puede observarse que la longitud de onda máxima se obtuvo a 412 nm lo que confirma su identidad ya que la clorofilina presenta un pico de absorción muy cercano precisamente a esta longitud de onda (404 nm) (AOAC, 1990). Probablemente la longitud de onda máxima en el extracto se hubiese desplazado debido a la presencia de otros pigmentos.

El contenido de clorofilina observado en el extracto de **S. rostratum** fue de 794.6 mg/Kg de material vegetal, por debajo de lo reportado por Paz (1997), quien señala un contenido de clorofilina de $4,739.50 \pm 74.24$ mg/Kg de clorofilina (sal de sodio y cobre de la clorofila), para el alga **Spirulina maxima** en base seca detectando a esta concentración y en presencia de otros pigmentos como β -caroteno, ficocianina y xantofilas la capacidad de inhibir la actividad mutagenica del compuesto ácido de sodio. Cabe destacar que el contenido de clorofilina presente en los vegetales es proporcional al contenido de Vitamina K, la cual es un anticoagulante para la sangre y que su absorción disminuye al ingerir antibióticos, por lo que el extracto de **S. rostratum** podría incluirse como alimento nutracéutico capaz de disminuir las molestias de los trastornos gastrointestinales e inducir la absorción de Vitamina K. Aun cuando el contenido de clorofilina detectado en la especie **S. rostratum** es inferior a lo señalado por Paz en 1997

para *Spirulina máxima*, podría considerarse que el aporte de esta especie vegetal en cuanto a este pigmento es significativo y que en combinación con otros vegetales que también forman parte de la dieta habitual de un individuo, pueden tener un efecto antimutagénico sobre algunos agentes químicos a los que la población está expuesta, ya sea en la misma dieta, al medio ambiente, etc. Lo anterior, puede constituir una evidencia para considerar el potencial de *S. rostratum* como alimento nutraceutico (Steinmetz, 1991; Block *et al*, 1992; Stavric, 1994).

A



B

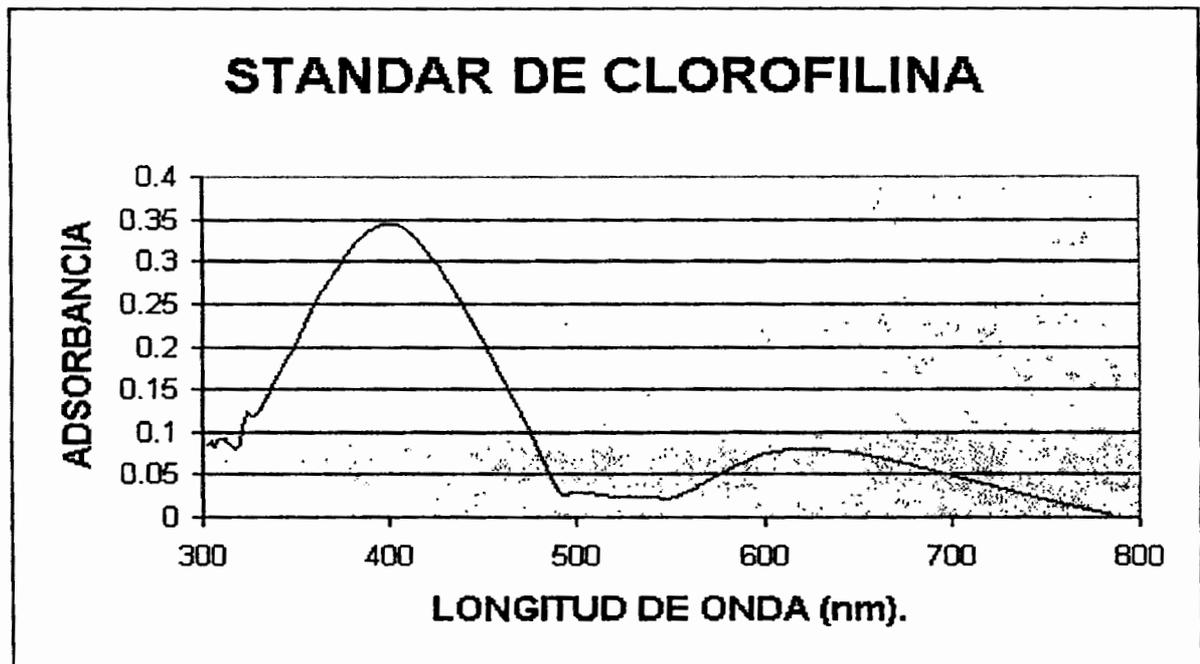


Figura 4.

a) BARRIDO ESPECTRAL DEL CONTENIDO DE CLOROFILINA EN LA ESPECIE VEGETAL *S. rostratum* Dunal. b) BARRIDO ESPECTRAL DEL ESTÁNDAR DE CLOROFILINA.

8.2 ESTUDIO FARMACOLÓGICO.

Se avocó principalmente a confirmar si la planta presenta alguna acción que contribuya al alivio de los síntomas de las enfermedades gastrointestinales, como por ejemplo, reduciendo la motilidad de la musculatura lisa intestinal. Se evaluó el efecto del extracto clorofórmico-metanólico (1:1) de *S. rostratum* sobre las contracciones espontáneas del íleo aislado de cobayo. Esta evaluación demostró que el extracto de la planta inhibe, de una manera dependiente de la concentración, las contracciones espontáneas del íleo (**Figura 5**). La concentración inhibitoria media (IC_{50}) obtenida para el extracto de *S. Rostratum* fue de 9.56 $\mu\text{g/ml}$, en tanto que la IC_{50} obtenida para el extracto metanólico de *Datura lanosa*, empleado como control positivo debido a su alto contenido de alcaloides espasmolíticos apropiada y escopolamina, fue de 10.59 $\mu\text{g/ml}$. Estos datos indican que el efecto relajante de la musculatura lisa inducido por *S. rostratum* es comparable al efecto producido por *D. lanosa*.

La **Figura 6**, muestra las curvas concentración-respuesta obtenida para los extractos de *S. rostratum* y *D. lanosa*. A partir de estas curvas se obtuvieron los valores de IC_{50} y los valores de efectos máximos (E_{max}), los cuales se muestran en el **Cuadro 7**.

Cuadro 7.

VALORES DE CONCENTRACION INHIBITORIA MEDIA, EFECTO MAXIMO Y TENCIA DE LAS ESPECIES VEGETALES *Datura lanosa* Y *Solanum rostratum*.

EXTRACTO	EMAX	IC₅₀ (µg/ml)	Potencia
<i>D. lanosa</i>	85.64 ± 8.10	10.59 ± 3.20	1.00
<i>S. rostratum</i>	77.87 ± 1.98	9.56 ± 2.17	1.04

Los valores representan el promedio ± S.D.; n=6.

Emax indica el porcentaje de máxima inhibición.

Figura 5

REGISTRO DE LA CONTRACCIONN ESPONTANEA DE LA CONCENTRACION INHIBITORIA MEDIA DEL EXTRACTO CLOROFORMICO-METANOLICO(1:1) DE *S. rostratum*



IC₅₀ 9.56 mg/ml

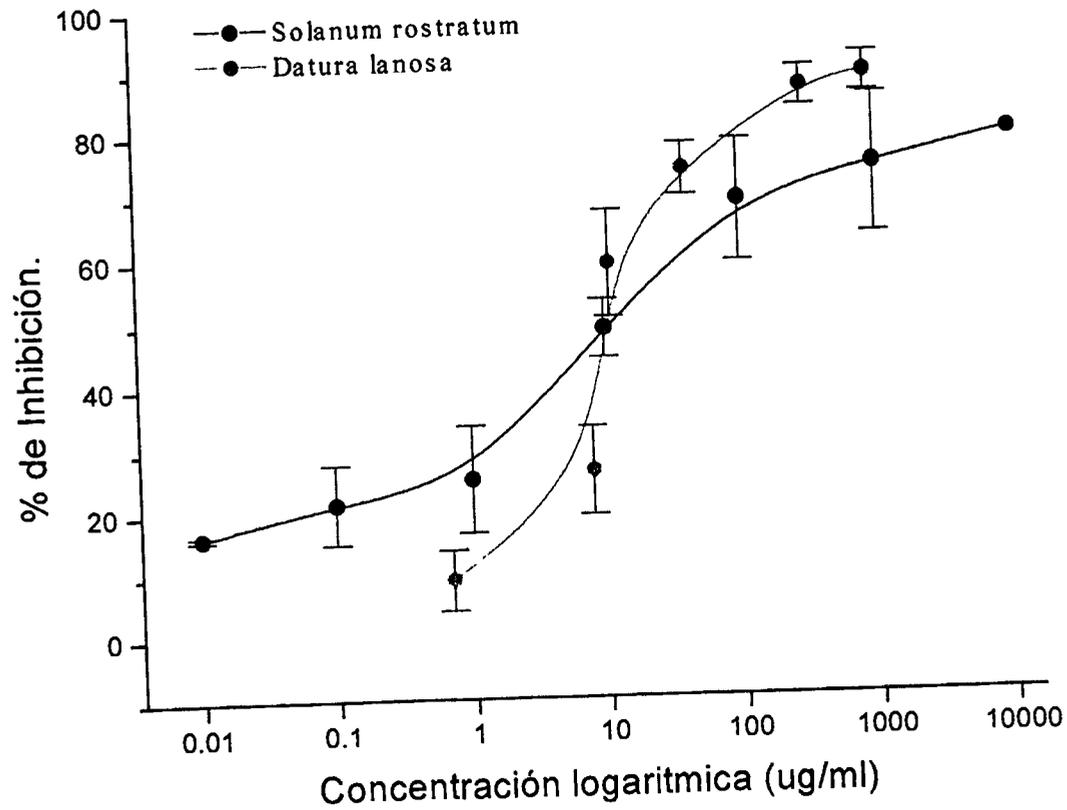


Figura 6
CURVAS CONCENTRACION-RESPUESTA DE LOS EXTRACTOS VEGETALES DE
SOLANUM ROSTRATUM Y DATURA LANOSA

Los resultados obtenidos de la evaluación preliminar permitieron por una parte, corroborar el efecto antiespasmódico que se le atribuye a la planta en la medicina tradicional mexicana. Por otra parte, estos resultados también indican que *S. rostratum* constituye una fuente potencial valiosa de principios activos con efecto relajante de la musculatura lisa. Con base en estas consideraciones, se decidió realizar el estudio fotoquímico biodirigido de esta especie, utilizando para el monitoreo de la actividad biológica, la determinación del efecto inhibitorio de las contracciones espontáneas de íleo aislado de cobayo.

En primer término, el extracto clorofórmico-metanólico (1:1) de *S. rostratum* se fraccionó vía cromatografía en columna de gel de sílice utilizando como eluyentes mezclas de hexano-cloroformo, cloroformo y cloroformo con cantidades crecientes de metanol, lo cual permitió obtener 8 fracciones primarias, las cuales fueron evaluadas sobre la contractilidad espontánea del íleo de cobayo a la IC_{50} del extracto original. Seis de las fracciones cromatográficas provenientes del extracto (FI, FII, FIV, FVII, FVIII) produjeron inhibición de las contracciones espontáneas del íleo. Por otra parte dos fracciones (FIII y FV) indujeron un aumento en las contracciones de la musculatura lisa (ver **Cuadro 8** y **Figura 7**).

Cuadro 8.

PORCENTAJE DE ACTIVIDAD PARA LAS FRACCIONES PRIMARIAS DE *S. rostratum*

FRACCIONES	% ACTIVIDAD	TIPO DE ACTIVIDAD
FI	58.34 ± 9.3833	INHIBICION
FII	79.43 ± 7.2632	INHIBICION
FIII	143.75 ± 8.9918	CONTRACCION
FIV	64.86 ± 6.948	INHIBICION
FV	133.97 ± 14.937	CONTRACCION
FVI	78.571 ± 3.4440	INHIBICION
FVII	77.006 ± 8.3039	INHIBICION
FVIII	72.238 ± 8.056	INHIBICIÓN
Extracto original	77.87 ± 1.249	INHIBICIÓN

Los valores representan el promedio ± S.D.; n=6.

Resulta interesante que dos de las fracciones obtenidas a partir del extracto de *S. rostratum* aumentaran la contractilidad del íleo. Esto sugiere que la planta contiene compuestos que estimulan alguno (s) de los procesos involucrados en el mecanismo de contracción muscular. Sin embargo, el hecho de que la mayoría de las fracciones produjeran una disminución de la contractilidad del íleo con una potencia mayor que la del extracto original, indica que la planta contiene mas de un compuesto capaz de producir relajación de la musculatura lisa. Esto apoya la hipótesis de que el efecto total inducido por el extracto de *S. rostratum* es el resultado de la acción sinérgica de mas de un principio activo.

**Actividad Espasmolítica de las fracciones primarias del extracto
cloroformico-metanólico de *S. rostratum*.**

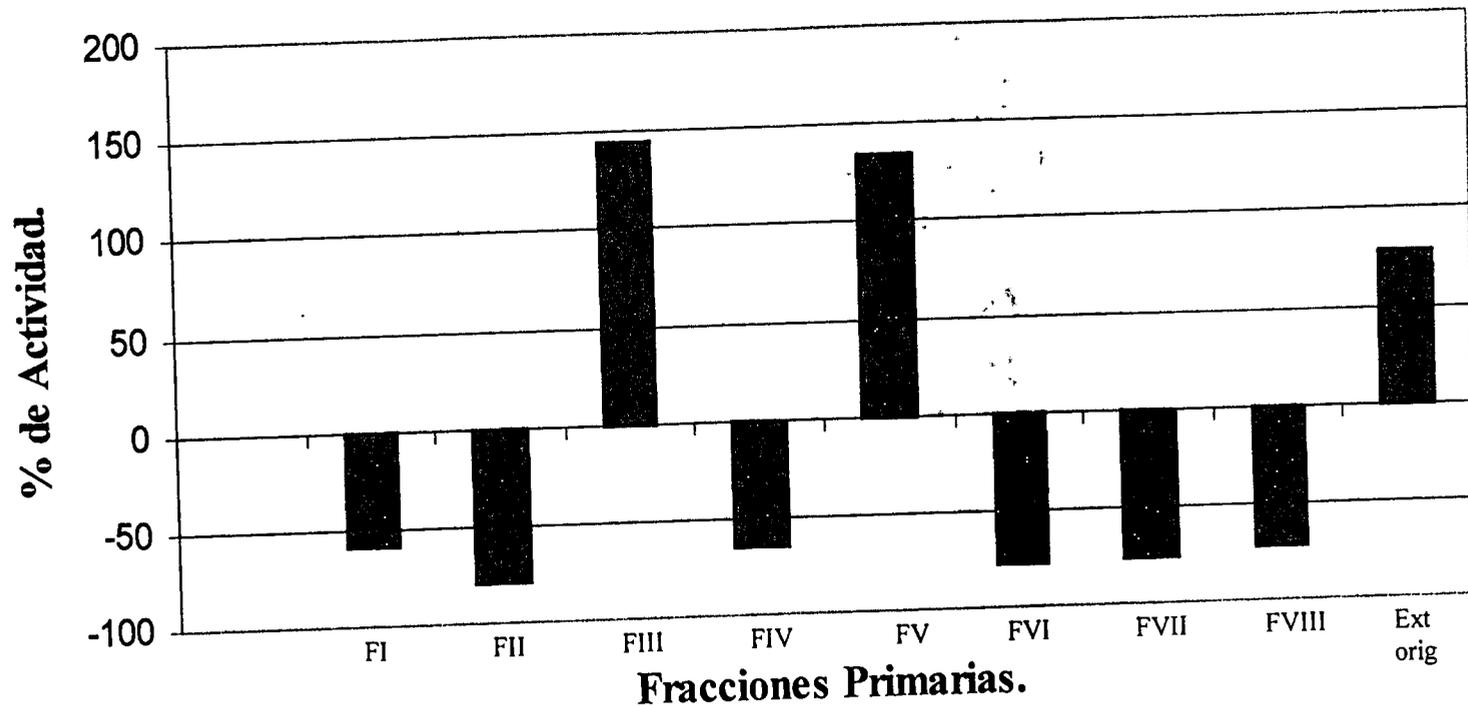


Figura 7

PORCENTAJES DE ACTIVIDAD PARA LAS FRACCIONES PRIMARIAS DEL EXTRACTO DE *S. rostratum* DUNAL

Con el objeto de aislar los principios activos responsables del efecto farmacológico presentado por *S. rostratum*, se decidió en primer lugar estudiar FV, una de las fracciones que aumentaban las contracciones del íleo. FV se sometió a una cromatografía en columna a partir de la cual se obtuvieron seis fracciones secundarias (FV1 a FV6), las cuales fueron evaluadas farmacológicamente (ver **Cuadro 9** y **Figura 8**). Considerando la cantidad de muestra disponible, la FV-5 se seleccionó para continuar con su análisis cromatográfico. El fraccionamiento de FV-5 mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) se efectuó empleando columna de fase reversa C-18 y un sistema de eluyentes una mezcla de acetonitrilo-agua (3 → 20%). A partir de dicho fraccionamiento, se obtuvo el cromatograma que se muestra en la **Figura 9**. Como se puede observar, FV-5 representa una mezcla muy compleja de diferentes metabolitos secundarios. El análisis espectroscópico del pico más grande (b), el cual presentó un tiempo de retención de 18.7 min., indicó que FV-5 contiene como componente mayoritario un esteroide glicosídico que sin duda constituye uno de los principios activos de *S. rostratum* (Bah, 2001 comunicación personal). En la **Figura 10**, se muestra el cromatograma obtenido por HPLC de este compuesto.

Cuadro 9

**ACTIVIDAD ESPASMOLITICA DE LAS FRACCIONES SECUNDARIAS DE FV
DE *Solanum rostratum*.**

FRACCIONES SECUNDARIAS	% DE ACTIVIDAD	TIPO DE ACTIVAD
FV-1	No se evaluó, muy poca cantidad.	-----
FV-2	44.05 ± 1.3435	INHIBICION
FV-3	180.23 ± 8.146	CONTRACCION
FV-4	116.575 ± 3.2456	CONTRACCION
FV-5	70.88 ± 2.3611	INHIBICION
FV-6	57.77 ± 0.7848	INHIBICION
Extracto FV	133.97 ± 14.937	CONTRACCION
Extracto original	77.87 ± 1.249	INHIBICION

Los valores representan ± S.D.; n=6

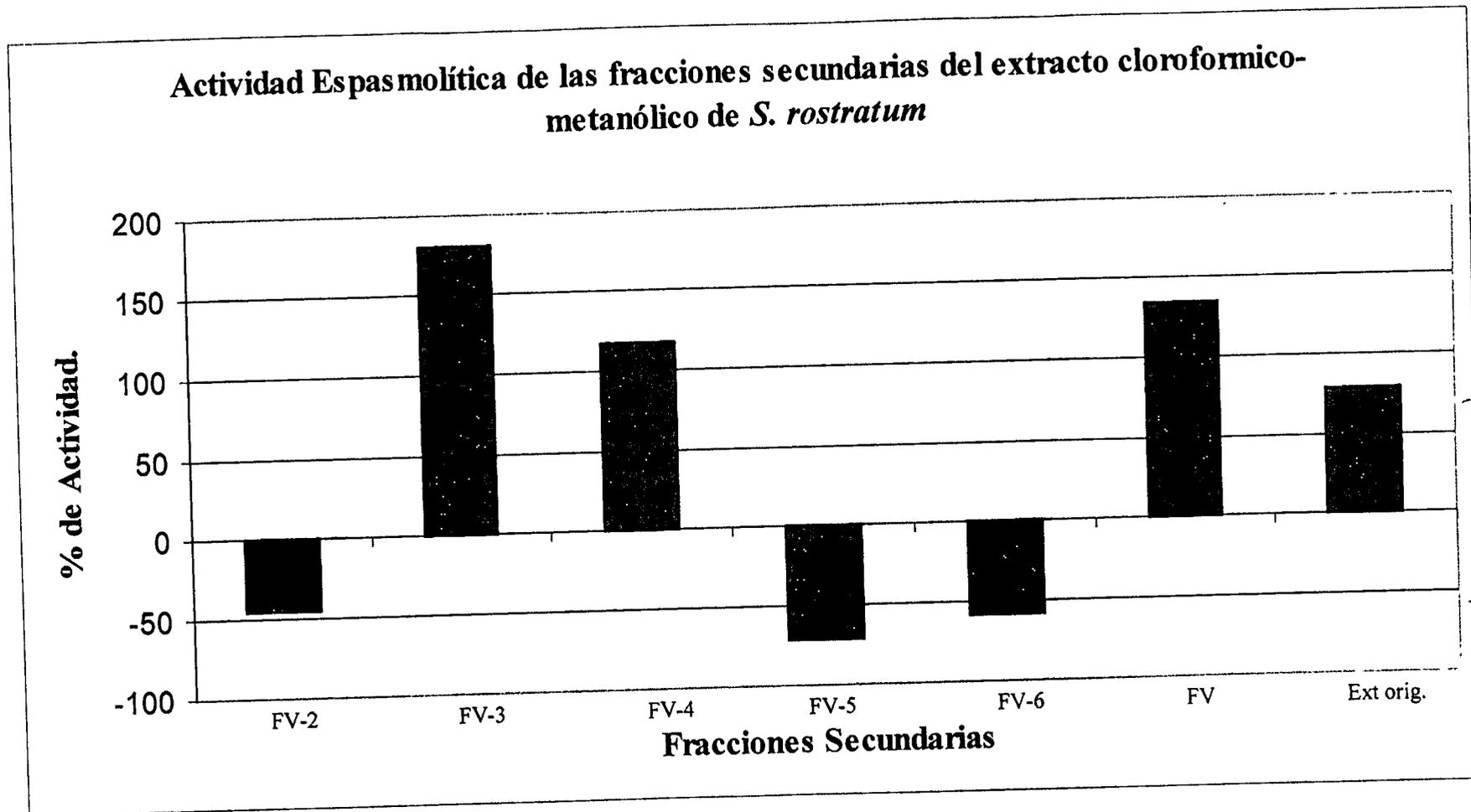


Figura 8

PORCENTAJES DE ACTIVIDAD PARA LAS FRACCIONES SECUNDARIAS OBTENIDAS DE LA FRACCION FV DEL EXTRACTO CLOROFORMICO-METANOLICO DE *S. rostratum*.

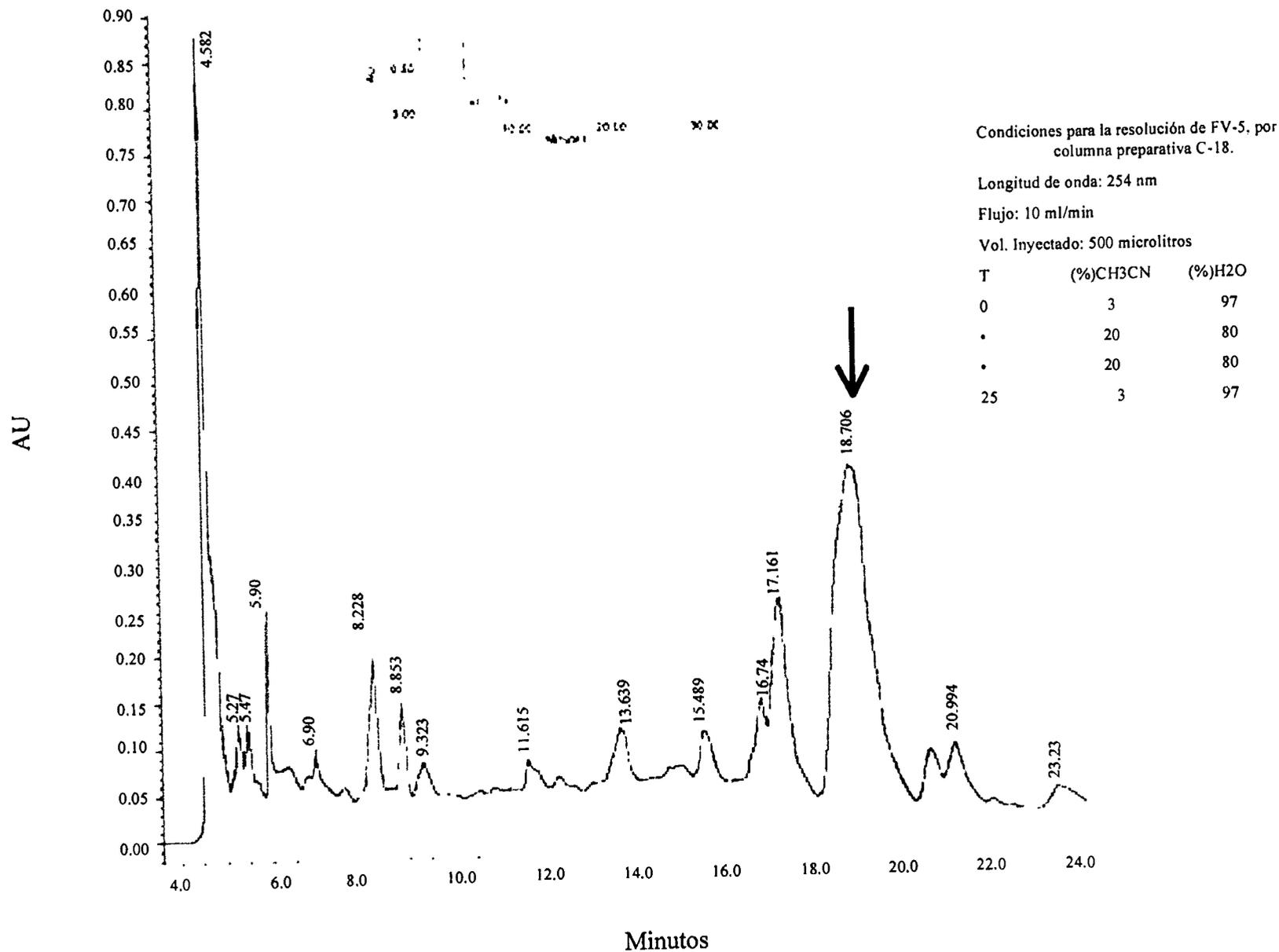
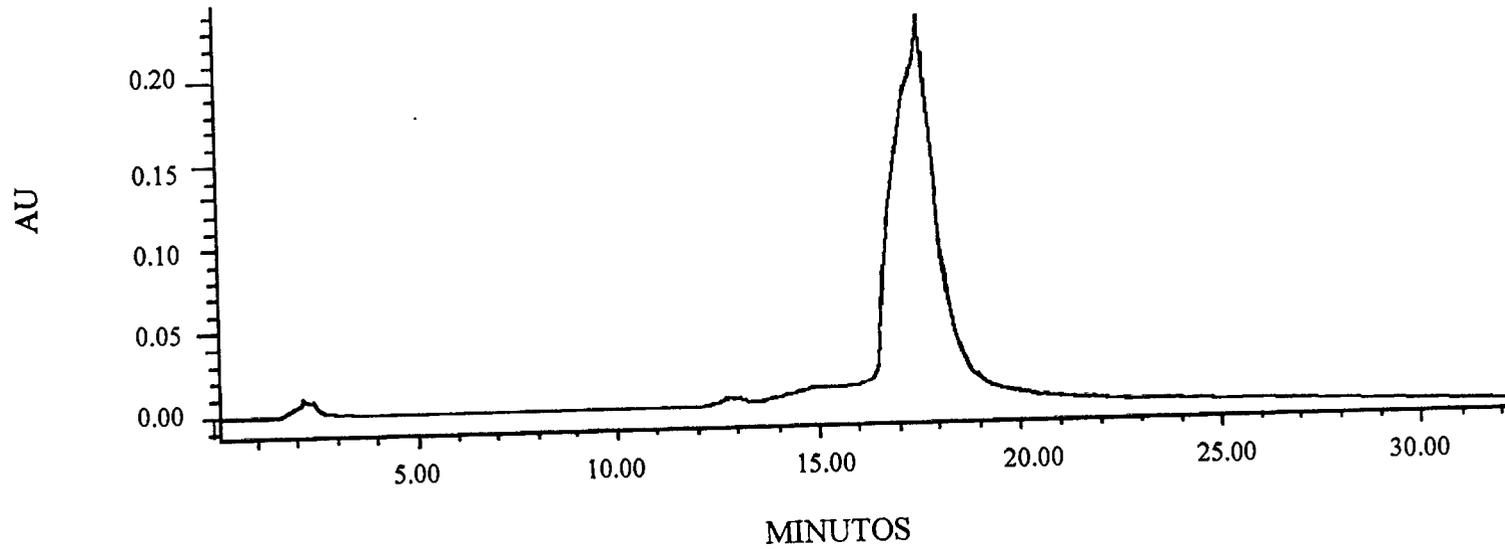


Figura 9

CROMATOGRAMA EN HPLC DE LA FRACCIÓN FV-5 DEL EXTRACTO CLOROFÓRMICO-METANÓLICO (1:1), DE LA ESPECIE VEGETAL SOLANUM ROSTRATUM DUAL.

Figura 10

CROMATOGRAMA EN HPLC DE LA FRACCIONFV-5-B., DEL EXTRACTO CLOROFORMICO-METANOLICO DE LA ESPECIE S. ROSTRATUM.



Peso seco de muestra FV-5-B: 48.5 mg

Análisis de FV-5-B por HPLC, utilizando columna analítica C-18-3

Longitud de onda: 245nm

Vol. Inyectado: 20 microlitros.

T	(%) CH3CN	%H2O
0	3	97
•	20	80
•	20	80
25	3	97

En otra serie de experimentos diseñados para caracterizar de manera preliminar, el mecanismo de acción involucrado en el efecto relajante de la musculatura lisa presentado por el extracto cloroformo-metanólico (1:1) de *S. rostratum*, se investigó su efecto sobre las contracciones del íleo de cobayo inducidas por diferentes espasmógenos (Ach, Histamina, BaCl₂ y KCl).

En el caso de los experimentos en presencia de Ach, el extracto cloroformo-metanólico (1:1), se evaluó a la IC₅₀ requerida para inhibir las contracciones del íleo (9.56 µg/ml). Estas pruebas demostraron que el extracto de *S. rostratum* inhibe las contracciones inducidas por el Ach en un 8.107% con respecto a la actividad de la Ach (ver **Figura 11**).

En otras pruebas, se evaluó el efecto de los principios activos sobre el íleo de cobayo contraído con histamina, utilizando un diseño experimental semejante al empleado con los ensayos con Ach. El empleo de histamina como espasmógeno de prueba se considera conveniente dada la alta población de receptores histaminérgicos en el íleo de cobayo y la importancia de este neurotransmisor en la regulación de los movimientos del músculo liso gastrointestinal (Samuelsson, 1991). Los resultados de estos experimentos se muestran en la **Figura 11**. Como se puede observar, el extracto de *S. rostratum* con histamina no presenta una diferencia significativa con respecto a las contracciones del íleo de cobayo evocadas por la histamina. Estas observaciones sugieren que el principio activo del extracto cloroformo-metanólico (1:1) de *S. rostratum* no interviene en forma

crucial en los pasos de la neurotransmisión histaminérgica y/o en los mecanismos de transducción de señales activados por la histamina.

La siguiente evaluación en la secuencia metodológica planteada para la caracterización farmacológica preliminar de los principios activos, fue la determinación del efecto de los compuestos sobre las contracciones del íleo de cobayo generadas por el BaCl_2 ; en esta ocasión la concentración de prueba empleada para evaluar la acción de las sustancias fue la IC_{50} del extracto original requerida para inhibir las contracciones espontáneas del íleo ($9.565 \mu\text{g/ml}$). Estos experimentos se realizaron con el objeto de evaluar una posible interferencia del principio activo en el transporte y/o el metabolismo del Ca^{2+} en la célula muscular. Se ha determinado, que el bario, de manera semejante al calcio, activa las proteínas contráctiles del músculo. Así mismo, se sabe que el cloruro de bario ocasiona una despolarización en la membrana muscular, originando la activación de canales de Ca^{2+} voltaje-dependientes con el subsecuente aumento en la entrada de Ca^{2+} a partir del retículo sarcoplásmico. En resumen, la actividad de las contracciones musculares provocada por el BaCl_2 , es una consecuencia del aumento de la concentración citoplásmica de Ca^{2+} y de la activación directa de las proteínas contráctiles (Antonio *et al*, 1973; Capasso *et al*, 1991; Van Den Broucke y Lemli, 1982). Por otra parte el KCl (60 mM) provoca una despolarización de la membrana muscular activando canales de calcio voltaje-dependiente, de la misma manera que lo hace el BaCl_2 . De tal forma que los experimentos de KCl y BaCl_2 , proporcionan información de la interacción de los principios activos sobre canales de calcio voltaje-dependientes.

En la **Figura 11**, se presentan los resultados derivados a partir de la evaluación del extracto de *S. rostratum* sobre las contracciones del íleo inducidas por el BaCl₂ y KCl. Estas observaciones parecen indicar que el extracto cloroformo-metanólico (1:1) de *S. rostratum*, interfiere de alguna manera con el transporte del Ca²⁺ y/o con los procesos metabólicos mediados por este catión en las células del músculo liso.

Los resultados de las evaluaciones descritas hasta este punto con relación al comportamiento del extracto de *S. rostratum*, indican que el o los compuestos presentes en el extracto de *S. rostratum* bloquean las contracciones inducidas por estimulación de Ach, KCl y BaCl₂. Estas observaciones conducen a pensar que el mecanismo de acción relajante del extracto de *S. rostratum*, no involucra la interacción con algún receptor membranal en especial y más bien, sugiere que este compuesto o compuestos podrían estar actuando en un paso común en el mecanismo de contracción mediado por los espasmógenos de prueba. Más aún, el bloqueo de las contracciones inducidas por el BaCl₂ y KCl, indican una probable interferencia con el transporte de Ca²⁺ y/o con los procesos metabólicos mediados por el Ca²⁺.

En las **Figuras 12 y 13**, se muestran los registros de las contracciones inducidas por Ach, Histamina, BaCl₂ y KCl, así como el efecto que tiene sobre estos el extracto de *S. rostratum* a la IC₅₀.

Es importante destacar que el estudio fitoquímico de *S. rostratum* se continua realizando y actualmente se encuentra en estudio la Fracción III que produce excitación y la F II la cual produce un alto porcentaje de inhibición y que además se tiene suficiente cantidad para su evaluación (Bah, 2001).

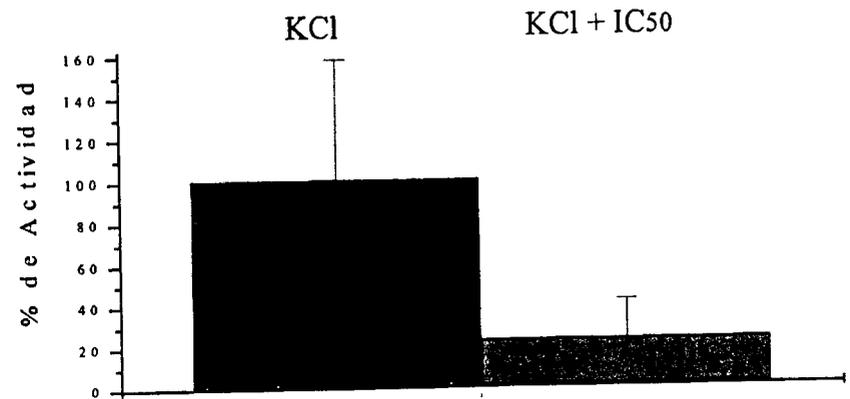
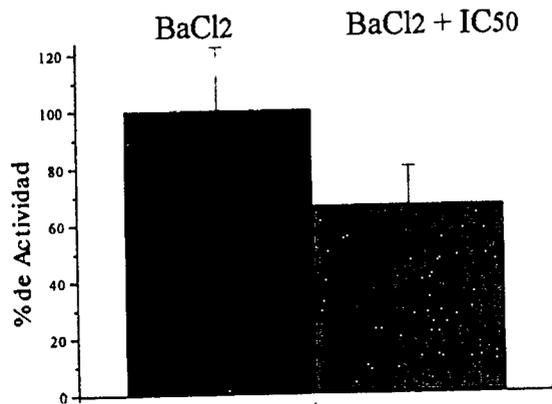
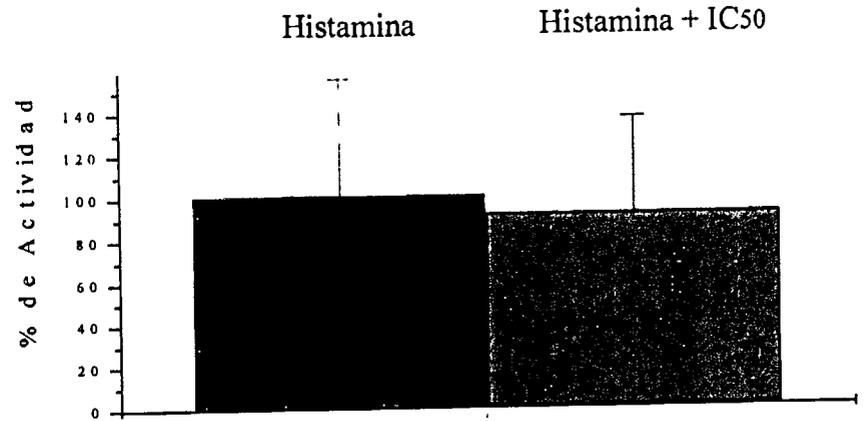
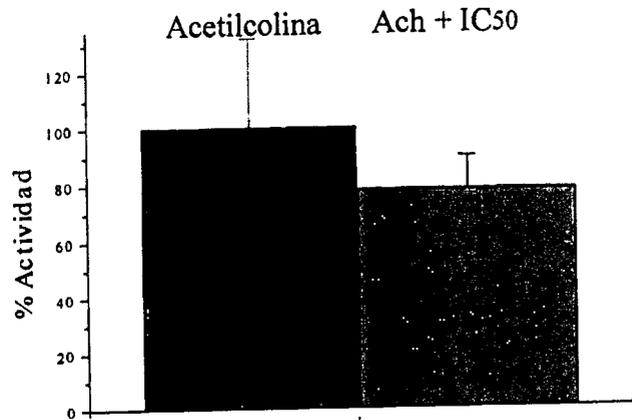


Figura 11

EFFECTO DEL EXTRACTO CLOROFORMICO-METANOLICO DE *S. rostratum* DUNAL, EN LAS CONTRACCIONES INDUCIDAS POR ACH(1×10^{-4} M), HISTAMINA(1×10^{-3} M), BaCl₂(3×10^{-4} M) y KCl(60 mM). EL EXTRACTO DE *S. rostratum* FUE EVALUADO A LA (89.56 μ g/ml). LA CUAL PROVOCA LA INHIBICION EN LA CONTRACCION DEL ILEO DE COBAYO.

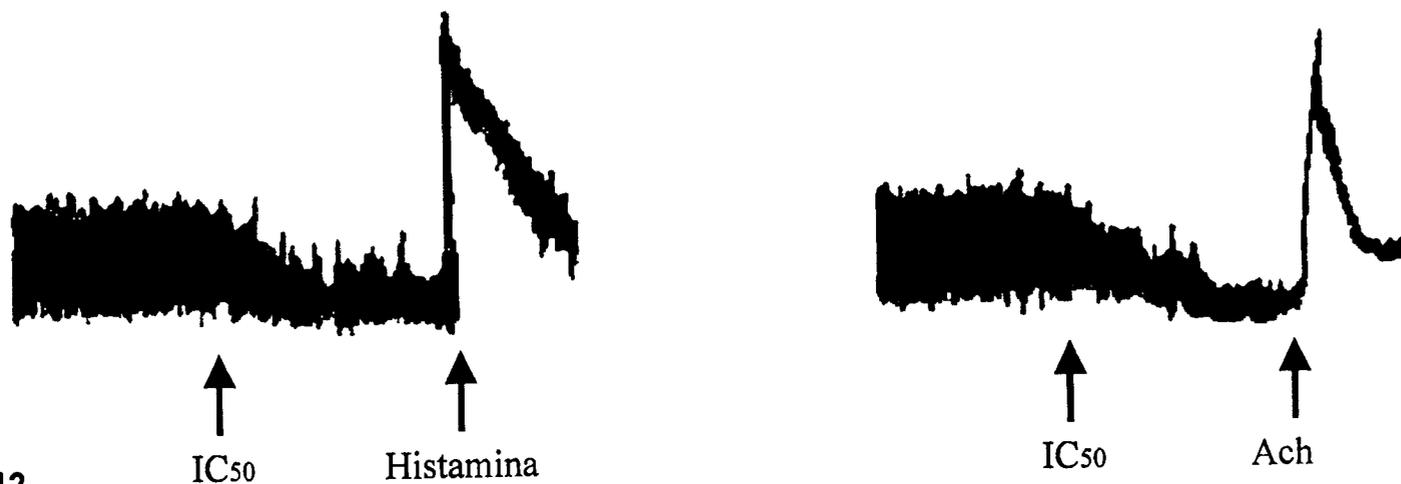
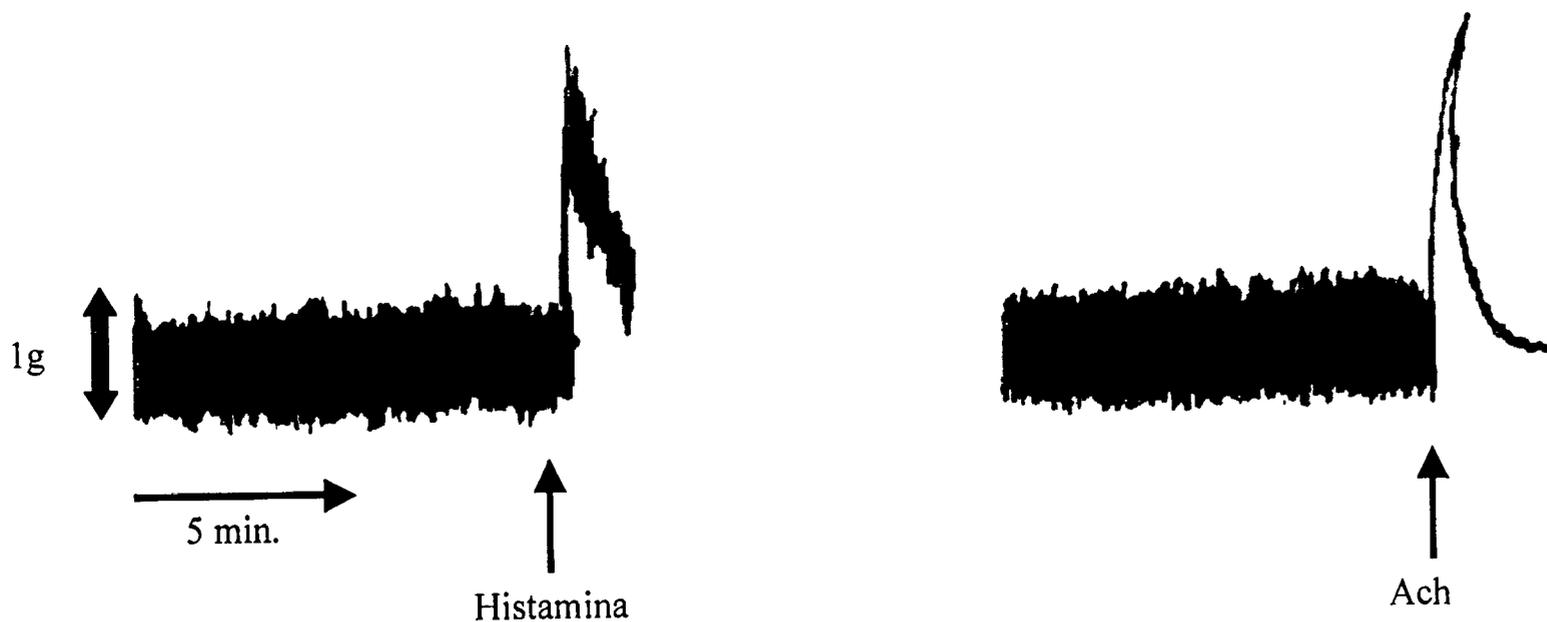


Figura 12

REGISTRO DEL EXTRACTO DE *Solanum rostratum* EN LAS CONTRACCIONES INDUCIDAS POR HISTAMINA (1×10^{-3} M) y ACH (1×10^{-4} M). EL EXTRACTO DES. *rostratum* SE EVALUO A LA IC50 (9.56 ug/ml).

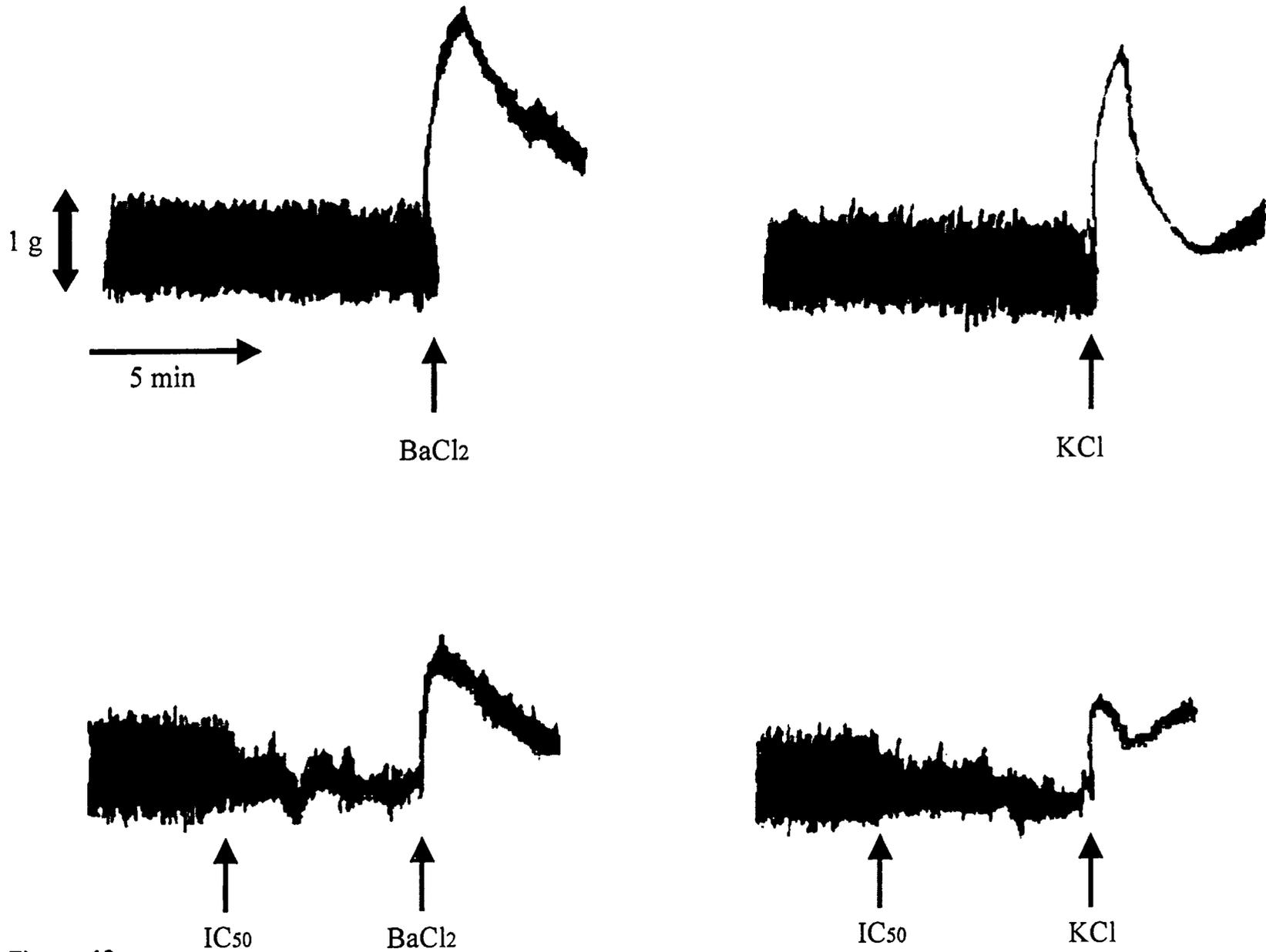


Figura 13

REGISTRO DEL EXTRACTO CLOROFORMICO-METANOLICO DE *S. rostratum* EN LAS CONTRACCIONES INDUCIDAS POR BaCl₂ ($3 \times 10^{-4}M$) y KCl (60 mM). EL EXTRACTO DE *S. rostratum*, FUE EVALUADO A LA IC₅₀ (9.56 ug/ml).

9. CONCLUSIONES.

Las conclusiones que se pueden obtener de este trabajo en base a los resultados anteriormente señalados son las siguientes:

- El contenido de proteína (12.95%), presente en la especie de *S. rostratum* podría sugerir su utilización como materia prima para la obtención de extractos de proteína, constituyendo una fuente potencial de este nutrimento para la población.
- El contenido de fibra y clorofilina en la especie *S. rostratum* (14.25% y 794.6 mg/Kg respectivamente), constituyen una evidencia para considerársele un alimento que pudiera contribuir a prevenir algunas enfermedades tales como la constipación intestinal, o bien incluso como anticancerígeno y anticoagulante, si se le incluye como complemento en la dieta de un individuo.
- En el presente trabajo se comprobó el uso etnomédico como agente antiespasmódico de la especie vegetal *S. rostratum* Dunal, Solanacea, mediante la demostración *in vitro* del efecto relajante de la musculatura lisa intestinal del extracto cloroformo-metanólico (1:1), empleando el modelo de íleo aislado de cobayo.

- La caracterización farmacológica preliminar del extracto cloroformo-metanólico de *S. rostratum*, indico que le mecanismo de acción antiespasmolítica de la planta involucra un bloqueo de la entrada de Ca^{2+} al interior de la célula muscular y/o una interferencia con alguno de los procesos metabólicos mediados por el Ca^{2+} en el proceso de contracción muscular.
- Los resultados en cuanto a la composición nutrimental y propiedades farmacológicas de la especie *S. rostratum* constituyen una evidencia para considerar su potencial como alimento nutracéutico para su empleo en la prevención de diversos padecimientos.

10. BIBLIOGRAFIA.

- Abdalla, S. y Zarga, M. A. (1987). Effects of cirsimaritin, a flavone isolated from *Artemisia judaica*, on isolated guinea pig ileum. *Planta Med.* 53, 322-324.
- Abdalla, S., Zarga, M. A., Afifi, F., Al-Khalil, S., Mahasneh, A. Y Sabri, S. (1989). Effects of 3, 3'-di-O-methylquercetin on guinea-pig isolated smooth muscle. *J. Pharmacol.* 41, 138.
- Achterrath-Tuckerman, U., Kunde, R., Flaskamp, E., Issac, O. Y Thiemer, K. (1980). Investigations on the spasmolytic effect of compounds of chamomile and kamillosan on the isolated guinea-pig ileum. *Planta Med.* 39, 38-50.
- Aguilar, A. y Camacho, J. R. (1984). La herbolaria como recurso básico. Estadísticas Nacionales. En: Medicina Tradicional y Herbolaria. Materiales para su estudio. Publicación del IMSS, México, pp. 89-92.
- Aguilar, A., Camacho, J. R., Chino, S. Jacquez, P. Y López, M. E. (1994). Información Etnobotánica. En: Herbario Medicinal del IMSS. Publicación del IMSS, México, pp. 10-12.
- Altamirano, G.A.A., Morales, D.J. (1995). Verduras y derivados. En: Manual de Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos. Departamento de ciencia y tecnología de los alimentos. División de nutrición experimental y ciencia de los alimentos, INNSZ, México: 66-67.
- Alvarez, A. H. (1989). Diccionario de Herbolaria. 4ª. Edición. Ed. Posada. México: 28-29.

- Anderson, J. W. y Chen W. J. (1979). Plant fiber. Carbohydrate and lipid metabolism. *Am J Clin Nutr.* 32: 1729-1733.
- Antonio, A., Rocha e Silva, m. y Yashuda, Y. (1973). The tachyphylactic effect of barium on intestinal smooth muscle. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 204, 206-267.
- AOAC.(1990). Official methods of analysis. K.Herlich. Ed. Association of Official Analytical Chemists Inc., Virginia (U.S.A.) 1:62-63, 2:1048-1049.
- Argueta, A., Cano, L., Rodarte, E. (1994). Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Ed. Instituto Nacional Indigenista. Mexico: 580.
- Argueta, V. A., Cano, A. L. (1994). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista. México. (1): 580-581.
- Arriaga-Giner, F., Wollenweber, E., Shoher, I., Dostal, P., Braun, S. (1986). 2-B-Hydroxyhauthriwaic acid, a clerodane type diterpenoid and other terpenoids from three *Baccharis* species. *Phytochemistry*, **25**, 719-721.
- Bah, M. (2001). Comunicación Personal.
- Baumgarten, H. G. (1981). *Journal of Physiology.* 50. 34-36.
- Baytelman, B. (1993). "Etnobotánica y antropología médica en el estado de Morelos". Acerca de plantas y de Curanderos. 1ª. Edición. México. D.F.
- Betschart, A. A., Irving, D. W., Shepherd, A. D. and Saunders, M. R. (1981). *Amaranthus cruentus*: milling characteristics, distribution of nutrients within seed components, and the effect of temperature on nutritional quality. *J. Food Sci.* 46: 1181-1186.

- Block, G., Patterson, B. and Subar, A. (1992). Fruit, vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiology evidence. *Nutr. Cancer*, 18:1-19.
- Blumberg, J. B. (1994). Nutrient control of immune function. *Functional Foods Designer Foods, Pharmafoods, and Nutraceuticals*, Goldberg, I., London. UK: Chapman & Hall. Pp. 87-108.
- Bohlmann, F. y Zdero, C. (1976). Naturally occurring terpene derivatives, 58. Constituents of the genus *Brickellia*. *Chem. Ber.* 109, 1436-1445.
- Borlaug, N. Y Enkerlin, E. Agricultura y Alimentación. En: *Ciencia Ambiental y Desarrollo sostenible*. E. Enkerlin, G. Cano, R. Garza y E. Vogel Eds. International Thompson Editores. México, D. F. México: 457-472
- Bourges, H., Mensoza, E., Morales de León, J., Peralta, L., Ruiz, S. (1993). *Composición de alimentos industrializados: tablas de uso práctico*. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. México, D.F. México.
- Burks, T. F. (1987). *Physiology of the gastrointestinal tract.*, 730.
- Bye, R., Mata, R. Y Pimentel, J. (1995). Botany, ethnobotany and chemistry. In: *Phytochemistry of Medicinal Plants. Recent Advances in Phytochemistry*. Vol. 29 (Eds. J. T. Arnason, J. T. Romeo and R. Mata), Plenum press, New York, pp. 65-82.
- Caceres, A., Cano O., Samayoa B. Y Aguilar L. (1990). Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. *J. Ethnopharmacol.* 30, 55-73.

- Caceres, A., López, BR., Giron, MA. Y Logemann H. (1991). Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. *J. Ethnopharmacol.* 31, 263-276.
- Calderón, J., Muñoz, J., Quijano, L. Y Rios, T. (1976). Chemical study of *T. lunulata*. *Rev. Latinoam. Quim*, 7, 114-118.
- Calderón, J., Rios, T. Y Muñoz, J. (1983). Labdane diterpenes from *B. veronicaefolia*. *Phytochemistry*, 22, 1783-1785.
- Cantoral, R., Fernández-Quintela, A., Martínez, J. A. y Macarulla, M. T. (1995). Estudio comparativo de la composición y el valor nutritivo de semillas y concentrados de proteína de leguminosas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Vol. 45(5): 242-248.
- Capasso, A., Pinto, A., Mascolo, N., Autore, G. y Capasso, F. (1991). Reduction of agonista-induced contractions of guinea-pig isolated ileum by flavonoids. *Phytother. Res.* 5, 85-87.
- Capasso, A., Pinto, A., Sorrentino, R. y Capasso, f. (1990). Inhibitory effects of quercetin and other flavonoids on electrically-induced contractions of guinea pig isolated ileum. *J. Ethnopharmacology* 34, 279-281.
- Cardenas, M. ML., Serna, S. S. y Velazco, G. J. (1998). Efecto de la ingestión de nopal crudo y cocido (*Opuntia ficus indica*) en el crecimiento y perfil de colesterol total, lipoproteína y glucosa en sangre de ratas. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*. 48 (4): 316-323.

- Cave, A. (1986). Methodology of research on medicinal plants. *Advances in Medicinal Phytochemistry*, D. Barton and W. D. Ollis, eds., London: John Libbey.
- Cave, A. (1986). Methodology of research on medical plants. *Advances in Medical Phytochemistry.*, D. Barton and W.D. Ollis, eds., London: John Libbey.
- Cockbill, C. A. (1994). Food law and functional foods. *British Food J.*, 93 (3):3-4.
- Cole, M., Cole, D. (1989). Prenatal Development. En: *The Development of Children*. Scientific American Books. New York and Oxford. EE.UU.: p 72.
- Costa, M. (1980). Mediators and Drugs in gastrointestinal motility. Ed. Bertaccini. Berlin.
- Coulter, L. and Lorenz, K. (1990). "Quinoa-composition, nutritional value, and food applications". *Food Sci. Thechnol.* (Lebensm. Wiss. Technol). 23:203-207.
- Cravioto, R. Massieu, G., Guzmán, J., Calvo de la Torre, J. (1951). *Composición de los alimentos mexicanos. Tablas de uso practico*. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubiran. 9ª. Ed. Publicacion.
- Chang, K. C. And Satterlee, L. D. (1982). "Chemistry of dry bean proteins". *J. Food Proc. Preserv.* 6:203-210.
- Delgado, G. (1996). Bioactive constituents of some Mexican medical Compositae Conference, Kew, 1994. (D. J. N. Hind, Editor-in-Chief), vol. 2, pp 505-515, Royal Botanic Gardero, Kew.

- Department of Health and Human Services, Food and Drugs Administration. (1996). Food labelling: dietary supplement; nutritional support statement; notification procedure. Proposed rule. Federal Register, 61:50771-50774.
- Doll, R., Peto, R. (1981). The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J. Natl Cancer Inst.* 66: 1191-1308.
- Estrada, E., Uribe, A. Lugo, E. (1992). Diplomado: Plantas Curativas de México. Las Plantas Medicinales y los Sistemas Tradicionales de curación del Municipio de Dr. Mora, Guanajuato. pp: 261-322.
- Fernández, L. MC. (1949). Estudio químico del nopal. Tesis profesional. UNAM. México.
- Furnes, J. B. y Costa, M. (1982). In: Mediators and drugs in gastrointestinal motility I. G. Bertaccini, Ed. Springer Verlag, Berlín, pp. 383-460.
- Gabella, G. (1987). *Physiology of the gastrointestinal tract.*, 335.
- Gales, W. P. (1990). Malt Beverages and Brewing Materials. En Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Tomo 1. Ed. Helrich, Arlington, Virginia, USA: 331-332.
- García, H. (1991). Plantas curativas Mexicanas. Ed. Panorama. México.
- Gershon, M. D. (1981). Smooth muscle: an assessment of current knowledge. 263.
- Glinsmann, W. (1996). Functional Foods in North America. *Nutr. Rev.* 54(11): S33-S37.

- Granger, S. E., Hollingworth, M. Y Weston, A. H. (1986). Effects of calcium antagonists on tension development and calcium influx in rat uterus. *Brit. J. Pharmacol.* 87. 147-156.
- Hagos, M., Samuelsson, G., Kenne, L. y Modawi, B. M. (1987). Isolation of smooth muscle relaxing 1,3-diaryl-propan-2-ol derivatives from *Acacia tortilis*. *Planta Med.* 53, 27-31.
- Hanasaki, Y., Ogawa, S. and Fukui, S. (1994). "The correlation between active oxygens scavenging antioxidative effects of flavonoids". *Free Radical Biol. Med.* 16: 845-850.
- Harborne, J. B. (1984). *Phytochemical Methods*. Chapman and Jall, London.
- Hasler, M. (1996). Functional foods: the Western perspectives. *Nutr. Rev.*, 54(11): S6-S10.
- Hernández, R. (1989). *Plantas Medicinales*. Ed. Arbol. México.
- Hernández, X., E. (1983). *Exploración etnobotánica y su metodología*. Colegio de Postgraduados de la Escuela Nacional de Agricultura, SAG., Chapingo, Mex. 69 p.
- Hevia, P., Cioccia, A. (1988). Application of a colorimetric method to the determination of nitrogen in nutritional studies with rats and humans. *Nutr. Rep. Int.* 38(6): 1129-1136.
- INCAP. (1961). *Tablas de composición de alimentos para uso en América Latina*. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá

Interdepartmental Committee on Nutrition for National Defense. Caracas. Venezuela.

- International Food Focus Limited. (1995). *Nutraceuticals/Functioning Food. An Explortory Survey of Canada's Potential*. Ottawa: *Agriculture and Agri-Food Canada*.
- Issac, R.A. (1990). Plantas. En: Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Tomo 1. Ed. Helrich, K., Arligton, Virginia, USA: 59-60.
- Jiménez, E., Velázquez, K., Lira-Rocha, A., Ortega, A., Díaz, E., Aumelas, A. Y Jankowski, K. (1989). Structure of a pentacuclic triperpenyl angelate from *L. mexicana*. *Can. J. Chem.*, 67, 2071-2077.
- Lehmann, J. W. (1996). "Case of history of grain amaranth as an alternative crop". *Cereal Foods World* 41: 399-411.
- Levy, A. S., Derby, B. M. (1996). "The impact of the NLEA on Consumers: Recent Findings from FDA's Food Label and Nutrition Tracking System", Internal Report of the Food and Drug Administration, Consumer Studies Branch, Center for Food Safety and Applied Nutrition, January 23. pp. 1-6.
- Linares, A., Bye, R., Flores, B. (1990). *Tes curativos de México*. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. México. pp: 9-19.
- López, G., Ros, G., Rincón, F., Periago, M. J., Martínez, C., y Ortuño, J. (1997). "Propiedades funcionales de la fibra dietética". Mecanismos de acción en el tracto gastrointestinal. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 47(3): 203-207.

- López, M. J. (1988). Enseñanza dinámica sobre nutrición y salud. Ed. Trillas. México. 65, 246-300
- Lozoya, X. (1993). Función de las plantas medicinales en la medicina del siglo XXI. En: La investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana. Secretaría de Salud. México, pp. 255-270.
- Lozoya, X. (1994). Two decades of Mexican ethnobotany and research in plant drugs. En: Ethnobotany and search for new drugs. (CIBA Foundation Symposium 185) pp. 130-152.
- Lozoya, X., Aguilar, A. y Camacho, J. R. (1987). Encuesta sobre el uso actual de plantas en la medicina tradicional mexicana. *Rev. Méd. IMSS (Méx.)*. 25 (4): 283-291.
- Mahan. K., Arlin. M. (1995). Nutrición y Dietoterapia. Ed. Interamericana-Mc Graw-Hill. 8ª. Ed. pp: 77-108.
- Marques, M., Casa-Nova, S., Fernández, M., Gómez, A. (1993). Insoluble dietary fiber of grain food legumes and protein digestibility. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 63 (1):66-72.
- Martínez, M. (1969). Las plantas medicinales de México. Ed. Botas. México.
- Martínez-Vázquez, M. (1996). *Planta Medica*, 62, 137-140.
- Mata, R. (1993). Chemical studies and biological aspects of some Mexican plants used in traditional medicine. En: Phytochemical potential of tropical plants. *Recent Advances in Phytochemistry*. Vol. 27, Plenum Press, New York, pp. 41-64.

- Mata, R., Rojas, A., Acevedo, L., Estrada, S., Calzada, F., Rojas, I., Bye, R. y Linares, E. (1997). Smooth muscle relaxing flavonoids and terpenoids from *Conyza filaginoides*. *Planta Med.* 63, 31-35.
- Meckes, M. et al. (1996). *Phytother. Res.*, 10, 600-603.
- Morales, M. A. Y Lozoya, X. (1994). Calcium-antagonist effects of Quercetin on aortic smooth muscle. *Planta Med.* 60, 313-317.
- Morales, M. A., Tortoriello, J., Meckes, M., Paz, D. y Lozoya, X. (1994). Calcium-antagonist effect of quercetin and its relation with the spasmolytic properties of *Psidium guajalva* L. *Arch. Med. Res.* 25, 17-21.
- National Food Review 12 (3):52, 1989.
- National Institute of Nutrition. (1996). "Nutraceuticals-towards consumer and market health". Rapport, 11 (Winter 1996): 1, 4-5.
- Navarrete, A. y Hong, E. (1996). *Plantas medica*, 62, 250-251.
- Olascoaga, J. (1981). Tablas de valores nutritivos para cálculos dietéticos. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán.
- OMS. (1978). Promoción y desarrollo de la Medicina tradicional, informe técnico, pp: 622. Organización Mundial de la Salud.
- Padmore, M. J. (1990). Aniaml Feed. En: Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Tomo 1. Ed. Herrich, K., Arlington, virginia, USA: 80.
- Pascal, G., (1996). Functional foods – the future: How to Regulate These Foods, *Nutr. Rev.* 54 (11): S199-S201.

- Paz G. V. (1997). Estudio de los Pigmentos Presentes en Extractos Obtenidos del Alga *Spirulina máxima* y su Efecto Antigenotóxico. Tesis: 39-43
- Pelz, M. R., Serrano, C. V. (1999). "Etnobotánica de San Antonio de la Cal, Municipio de Toluimán, Qro". U.A.Q. Biología. México (12):1-47.
- Pereda-Miranda, R. (1995). En: Phytochemistry of medical plants. Recent Advances in Phytochemistry, vol. 29 (Eds. J. T. Arnason, J. T. Romeo and R. Mata). Plenum Press, New York, pp. 83-112.
- Reynolds, W. F. et al. (1995). *J. Nat. Prod.*, 58, 1730-1734.
- Robertfroid, M. (1996). Functional effects of food components and the gastrointestinal system: chicory fructooligosaccharides. *Nutr. Rev.* 54(11):S38-S42.
- Roberts, M. Margaret, F., Timmermann, B. N., Mabry, T. J. (1980). 6-Methoxyflavonols from *B. veronicaefolia*. *Phytochemistry*, 19, 127-129.
- Roberts, M., Margaret, F., Timmermann, B. N., Mabry, T. J., Brown, R. Y Matlin, S. A. (1984). Brickellin, a novel flavone from *B. veronicaefolia* and *B. chlorolepis*. *Phytochemistry*, 23, 163-165.
- Rojas, A. (1995). *Phytomedicine*, 2, 51-55.
- Rojas, A., Bah, M., Rojas, I., Serrano, V. Y Pacheco, S. (1999). Spasmolytic potential of some plants used in mexican traditional medicin for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytomecine*. 2, 51-55.

- Rojas, A., Cruz, S., Rauch, V., Ponce-Monter, H. Y. Mata, R. (1996). Smooth muscle relaxing compounds from *Dodonea viscosa*. *Planta Med.* 62, 154-159.
- Samuelson. G. (1991). Assays for Pharmacological Activity: Non-Specific Assays. In: *Methods in Plant Biochemistry*. Vol. 6, Academic Press, Great Yarmouth, Norfolk, pp: 261-280.
- Sanfilippo, J. (1990). *Medicina Novohispana Siglo XVI. Historia General de la Medicina en México. Tomo II.* Universidad Autónoma de México. 1ª. Ed. México, D.F.
- Saunders, R., Connor, A., Booth, N., Bickoff, E., Kohler, O. (1973). Measurement of Digestibility of Alfalfa Protein Concentrates by in vivo and in vitro methods. *Journal of Nutrition.* 103: 530-535.
- Scott, F.W., Lee, N.S., Mongeau, R., Hidioglou, N., L'Abbé, M., Sarwar, R. Peace. (1996). "Recommendations for defining and dealing with functional foods. A discussion paper". Ottawa: Bureau of Nutritional Sciences, Food Directorate, Heal Canada.
- Schwinghammer, T. L. y Kroboth, P. D. (1988). *J. Clin. Pharmacol.* 28, 388-394.
- Senties, A., Florencio, M., Estrada, E. (1995). *Plantas Medicinales de México. Plantas medicinales y sistemas tradicionales de curación del Valle de Tehuacan, Puebla.* Universidad Autónoma de Chapingo. 2ª. Ed. Erick Estrada Lugo. Mexico.

- Shaw, D., I. House, S. Kolev and V. Murray. (1995). "Should herbal medicine be Licensed". Br. Med. J., 311:451-2
- Solomons, N., Molina, S., Bulux, J. (1989). Effect of protein-energy malnutrition on the digestive and absorptive capacities of infants and children. En: Lebenthal E. Textbook of gastroenterology and nutrition. Raven Press. New York. EE.UU.: Pp. 517-33.
- Soto, N. JC. y Sausa S. M. (1995). Plantas medicinales de la cuenca del Rio Balsas. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuaderno 825): 127-140.
- Starvic, B. (1994). Antimutagens and anticarcinogens in food. Food Chem. Toxic. 32:79-90.
- Steinmetz, K. A. and Potter, J. D. (1991). Vegetables, fruit and Cancer. Cancer Causes Control, 2:325-57, 427-42.
- Stephen, A. M. (1996). Nutraceuticals-the way forward. J. Nutraceut. Fuctional and Medical Foods. 1:103.
- Story J. A. y Kritchevsky, D. (1976). Comparison of the binding of various bile acids and bile salts in vitro by several types of fiber. *J. Nutr.* 106: 1292-1294.
- Tejeda, D.I. (1985). Análisis Próximo Proximal. En: Manual de laboratorio para análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal. Patronato de apoyo a la investigación y experimentación pecuaria en México. AC. México: 21-22.

- Thomas, P., Earl, R. (1994). Enhancing the food supply. En: Opportunities in the Nutrition and Food Sciences. National Academy Press. Washington, D.C. E.E.U.U. Pp. 98-142.
- Trejo-González, A., Ferrera-Morales, A. Y wild-Altamirano C. (1982). The role of lime in the alcalino treatment of corn for tortilla preparation. America Chemical Society. USA.
- UNICEF. (1997). Alimentación, salud y atención. United nations Children's Fund. New York. E.E.U.U. p 13.
- United States Department of Agriculture. (1962). Composition of foods. Agricultural Handbook & United States Department of Agriculture. Washington. EE.UU.
- Van Den Broucke, C. O. y Lemli, J. A. (1982). Antispasmodic activity of *Origanum compactum*. *Planta Med.* 45, 188-190.
- Wagner, H. y Jurcic, K. (1979). On the spasmolytic activity of Valeriana extracts. *Planta Med.* 37, 84-95.
- Wagner, H., Jurcic, K. Y Deininger, R. (1979). Antispasmodic activity of eugenol-esters and ethers. *Planta Med.* 37, 9-14.
- Williams, L.O. (1981). The useful plants of Central America. Escuela Agrícola Panamericana, Imprenta López. República de Honduras. 381 p.
- Wollenweber, E., Shober, I., Dostal, P., Hradetzky, D., Arriaga-giner, F. Y Yatskievych, G. (1986). Flavonoids and terpenoids from the exudates of some *Baccharis species*. *Z. Naturforsch. C: Biosci.*, 41(1-2), 87-93.

- Zorrilla, A. S. (1997). Introducción ala metodología de la investigación. Ed. Aguilar león y Cal. México:175-237.