

EFFECTO SOBRE EL MÚSCULO LISO INTESTINAL Y TOXICIDAD AGUDA ORAL DE UN EXTRACTO DE CHILCA (*Baccharis latifolia*)*

*EFFECT ON INTESTINAL SMOOTH MUSCLE AND
ORAL ACUTE TOXICITY OF AN EXTRACT
OF CHILCA (*Baccharis latifolia*)*

*Liz Elva Zevallos Escobar¹,
Jorge Luis Arroyo Acebedo²*

RESUMEN

El objetivo fue evaluar el efecto de un extracto hidroalcohólico del *Baccharis latifolia* sobre el músculo liso intestinal y toxicidad aguda oral. Material y métodos: se evaluó el efecto del extracto en el modelo in Vitro de íleon aislado de cuy estimulado con acetilcolina e histamina 10^{-3} M, usando atropina y hioscina como fármacos de referencia. La toxicidad aguda oral se determinó mediante la dosis letal media (DL₅₀) en ratones. Resultados: el extracto presenta relajación del músculo liso intestinal a una CE₅₀ de 46,41 mg/mL y una estimulación del músculo a una CE de 182,2 mg/mL. La DL₅₀ fue de 2000 mg/kg. Conclusión: El extracto presenta una actividad bifásica de tipo hormesis, que se manifiesta por una relajación prolongada del músculo liso a bajas concentraciones, seguida de un efecto espasmogénico a altas concentraciones. No se encontraron alteraciones toxicológicas.

PALABRAS CLAVE: Actividad bifásica, *Baccharis latifolia*, hormesis, íleon aislado, músculo liso intestinal, toxicidad aguda oral.

* Recibido: 19 de marzo del 2013; aprobado: 31 de marzo del 2013.

1 Maestra en Farmacología. Docente de la Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica ULADECH Católica. E-mail: lzevallose@uladech.pe

2 Doctor en Farmacia. Docente de la Facultad de Medicina Humana UNMSM. Docente de la Unidad de Post- Grado de Farmacia y Bioquímica UNMSM.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of a hydroalcoholic extract of *Baccharis latifolia* on intestinal smooth muscle and acute oral toxicity. Material and Methods: The effect of the extract on the in vitro model of isolated guinea pig ileum stimulated with acetylcholine and histamine 10^{-3} M was evaluated, using atropine and hyoscine as reference drugs. The acute oral toxicity was determined by the median lethal dose (LD_{50}) in mice. Results: the extract has relaxation of intestinal smooth muscle to an EC_{50} of 46,41 mg/mL and muscle stimulation at an EC of 182,2 mg/mL. The LD_{50} was 2000 mg/kg. Conclusion: The extract has an activity hormesis biphasic type, manifested by a prolonged relaxation of smooth muscle at low concentrations followed by a spasmogenic effect at high concentrations. There were no toxicological alterations.

KEY WORDS: Biphasic activity, *Baccharis latifolia*, hormesis, isolated ileum, intestinal smooth muscle, acute oral toxicity.

I. INTRODUCCIÓN

El reino vegetal representa un enorme potencial de moléculas para ser descubiertas, ya que se estima que más del 90% de las especies vegetales no han sido exhaustivamente estudiadas. El Perú es privilegiado con las condiciones climáticas, cuenta con plantas con propiedades medicinales, las cuales no se han difundido debido al escaso conocimiento científico que se tiene de ellas, son usadas como *remedios* no oficiales y circulan solo por la reputación que el uso popular les ha conferido.¹⁻³

La especie *Baccharis latifolia* se utiliza por la población en forma de infusión por su efecto relajante en el músculo liso intestinal, hecho que motivó el estudio del efecto del extracto hidroalcohólico de la planta sobre las contracciones inducidas por dos espasmógenos en órganos aislados.^{4,5}

Es necesario profundizar en el estudio científico del potencial terapéutico de las especies vegetales utilizadas en la medicina popular y más importante aún valorar su efectividad e inocuidad.⁶

PROBLEMA

¿Cuál es el efecto sobre el músculo liso intestinal y cuál el efecto tóxico de un extracto de Chilca (*Baccharis latifolia*)?

HIPÓTESIS

El extracto de Chilca tiene efecto relajante sobre el músculo liso intestinal y no es tóxico en su administración.

OBJETIVO

Evaluar el efecto sobre el músculo liso intestinal del íleon de cobayo de un extracto de Chilca (*Baccharis latifolia*) y valorar la toxicidad aguda oral.

II. MATERIALES Y MÉTODO

Preparación del extracto según Lock⁷

La planta fue recolectada en el distrito de La Unión, provincia de Dos de Mayo, Departamento de Huánuco, e identificadas en el museo de historia natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM); se pulverizaron y secaron a 40 °C y se sometió a extracción con 1 litro de etanol al 80%. El extracto se filtró y concentró en un evaporador rotatorio.

Estudio fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico según Lock⁷

La detección de metabolitos secundarios se realizó mediante pruebas químicas de caracterización (reacción de shinoda, tricloruro férrico, con la gelatina, prueba de la espuma, dragendorff, mayer, molish, lieberman- burchard).

MODELO EXPERIMENTAL

Íleon aislado de cobayo in vitro⁸

Se utilizaron cobayos procedentes del INS, privados de alimentos las primeras 24 h, se sacrificaron para una laparotomía y se extrajo un segmento de íleon sumergido en solución Tyrode a 37 °C en baño para órgano aislado, burbujeada con una mezcla de 95% de O₂ y 5% de CO₂. Los segmentos se acoplaron a un transductor de fuerza de desplazamiento conectado a un quimógrafo y se registraron las contracciones, para determinar la amplitud de cada contracción, midiendo el desplazamiento, en centímetros, producido por la respuesta contráctil inducida por el espasmógeno a partir de la línea de base.

Las variables fueron amplitud de la contracción y frecuencia.

Actividad sobre el músculo liso intestinal

Se observó el cambio de tono del músculo liso del íleon precontraído con los espasmógenos acetilcolina e histamina 10⁻³M, se ensayaron diferentes concentraciones del extracto 90, 125, 150, 200 y 250 mg/mL, se comparó con atropina 10⁻³M y Hioscina 10⁻³M como referencia. Se consideró como el 100% de respuesta a la mayor amplitud en el tono muscular alcanzada al emplear los

esasmógenos y se calcularon los valores relativos, en porcentos, de las restantes respuestas dadas por el extracto a diferentes concentraciones.

Toxicidad aguda oral según la OMS⁹

La evaluación se realizó mediante la determinación de la DI_{50} ; se trabajó con 32 ratones de raza albina entre 20 y 34 g de ambos sexos, mantenidos a temperatura controlada; se les estandarizó su alimentación y agua *ad libitum*. La administración del extracto se realizó por vía oral previo ayuno de 14 horas. Aleatoriamente se formaron grupos experimentales y de control, constituido cada uno por 08 animales, a los que se les administró el extracto a dosis de 500, 1000, 1500 y 2000 mg/kg de peso, además de un grupo de control con solución salina, siendo observados constantemente durante las primeras 24 horas y diariamente en un período de 14 días, registrando cualquier síntoma tóxico. Al finalizar el período, se procedió al sacrificio para realizar la necropsia y un examen macroscópico y posteriormente microscópico de órganos y tejidos. El valor de la dosis letal 50 se estimó mediante el método estadístico de Probits.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron presentados en tablas y gráficos y sometidos a un ANVA y un análisis con “t” de student, para comprobar las diferencias entre las medias. Se tomó como nivel de significación $p < 0,05$.

III. RESULTADOS

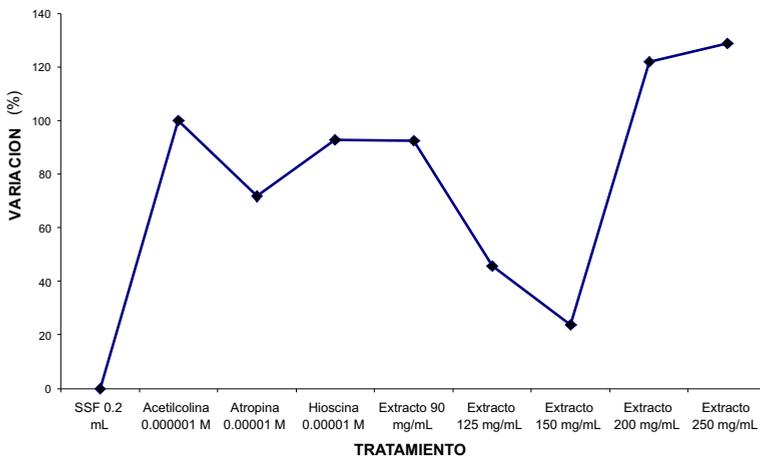


Figura 01. Porcentaje de variación del efecto sobre el músculo liso intestinal del extracto hidroalcohólico de Chilca (*B. latifolia*) sobre la contracción del íleon de cobayo inducida por acetilcolina.

Efecto sobre el músculo liso intestinal y toxicidad aguda oral de un extracto de Chilca

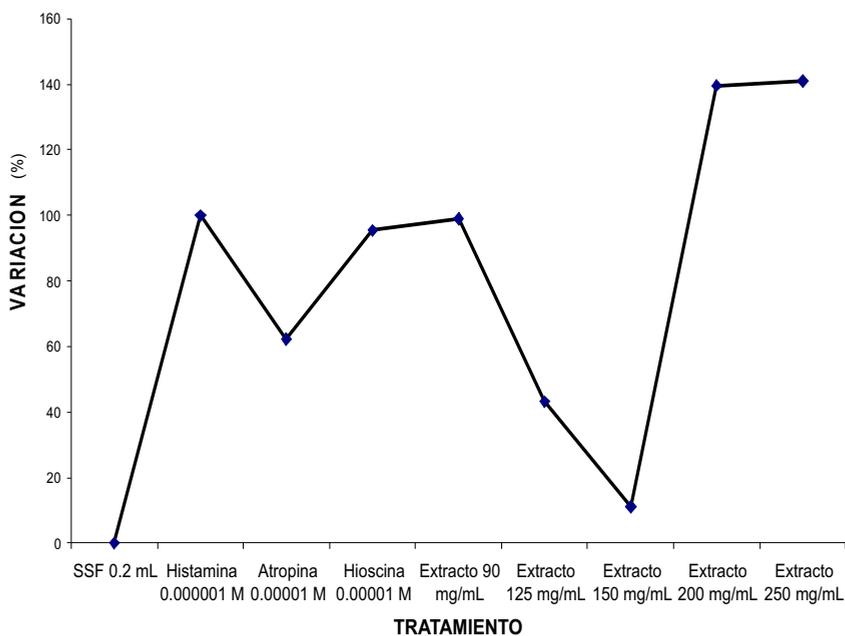


Figura 02. Porcentaje de variación del efecto sobre el músculo liso intestinal del extracto de Chilca (*Baccharis latifolia*) sobre la contracción del íleon de cobayo inducida por histamina.

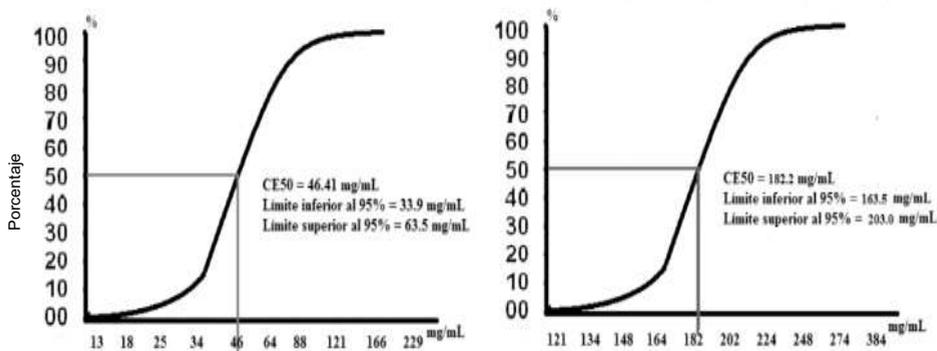


Figura 03. Concentración efectiva media (CE₅₀) del extracto de Chilca (*Baccharis latifolia*) para inducir relajación y estimulación del íleon de cobayo.

Tabla 01
SIGNOS CLÍNICOS DE LA EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA EN
LOS ANIMALES PROBLEMA DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN
DEL EXTRACTO DE CHILCA (*Baccharis latifolia*)

Periodo de observación	Signos clínicos
Media hora después de la administración	Ligero letargo y somnolencia
A partir de las 3 horas de la administración	Signos de recuperación
A partir de cuatro horas de la administración	Reflejo postural normal, hábitos de aseo y consumo de alimento y agua normales
Segundo día	Agrupación intermitente en los extremos de la jaula
Desde el tercer día, hasta el final del estudio	No se apreciaron signos de toxicidad, se mostraron normales en su comportamiento

IV. DISCUSIÓN

La marcha fitoquímica preliminar muestra gran cantidad de flavonoides, compuestos fenólicos, alcaloides y compuestos terpénicos. La información recogida según estudios etnofarmacológicos, farmacológicos, toxicológicos y fitoquímicos, realizados en el género *Baccharis* describe algunos de sus componentes químicos, tales como alcaloides, flavonoides y otros compuestos fenólicos, triterpenoides y aceites volátiles. Algunos estudios proponen que los flavonoides y los alcaloides como fitoconstituyentes de plantas medicinales, han demostrado tener efecto relajante en el músculo liso en diferentes modelos experimentales.¹¹⁻¹⁴

El extracto de Chilca (*Baccharis latifolia*), a diferentes concentraciones, fue capaz de relajar el músculo liso del intestino frente al efecto contráctil de acetilcolina (Ach), el efecto relajante fue significativamente mayor a concentraciones de 125 y 150 mg/mL donde se observa una actividad de relajación que corresponde a 45,74 y 23,73 % de variación, respectivamente (Ver figura 01).

De manera similar se realizó el mismo experimento con histamina donde se pudo observar que el extracto a concentraciones de 125 y 150 mg/mL produjo una mayor actividad de relajación con un 43,17 y 11,15 % de variación frente al efecto contráctil de histamina sobre el tejido intestinal (Ver figura 02).

La disminución del tono muscular intestinal con el extracto posterior a la contracción inducida con Ach e histamina se debe, de alguna manera, a la alteración o inhibición de alguno de los pasos de la contracción inducida por canales que dependen del voltaje. Esto sugiere que el *B. latifolia* posee un mecanismo de acción alterno al de atropina o hioscina. Aunque se conocen diversos mecanismos farmacológicos que explican el mecanismo de acción de los compuestos que relajan la musculatura lisa intestinal conocidos como antiespasmódicos, el más común es la actividad como antagonista competitivo de la Ach y, con ello, impiden la despolarización de la célula muscular y su consiguiente contracción.^{15,16}

La atropina es el fármaco más potente del grupo de los compuestos antiespasmódicos, indicados para el tratamiento de cólico intestinal por relajar el músculo liso intestinal. El ensayo para el efecto contráctil de Ach en presencia de atropina mostró una respuesta de relajación moderada con un 71,75 % de variación y para el efecto contráctil con histamina mostró una relajación de 62,23 % de variación. El estudio mostró que la hioscina inhibió el efecto contráctil de Ach en 92,83 % de variación y el efecto contráctil de histamina en 95,32 % de variación, respecto a la contracción inducida, resultados que muestran un disminuido efecto relajante sobre el músculo liso intestinal en relación con la actividad relajante de los extractos (Figuras 01 y 02). Diferentes estudios han mostrado una acción relajante de atropina y hioscina cuando el íleon aislado se contrae con Ach e histamina.¹⁵⁻¹⁸

El extracto del *Baccharis latifolia* a concentraciones de 200 y 250 mg/mL provocaron un efecto de rebote que generó contracción en el músculo liso intestinal superior al provocado por los espasmógenos llegando a 121,97 y 128,7 % de variación para los extractos, respectivamente, cuando se trabajó con Ach y cuando se trabajó con histamina 139,57 y 141,01 % de variación. El efecto estimulante del extracto a concentraciones altas significaría una respuesta de compensación que actuarían como agonistas de los receptores M3 y H1, prolongando la actividad contráctil de Ach e histamina, es decir un sinergismo.^{16,19}

Los resultados muestran que el extracto del *B. latifolia*, dependiente de las concentraciones, presenta una actividad bifásica en el íleon de cobayo aislado, que se manifiesta por una relajación prolongada que inhibe la respuesta contráctil inducida por Ach e histamina, resultados que están básicamente de acuerdo con otros descritos previamente para el género *Baccharis* y una estimulación de la contracción del músculo liso intestinal dependiente de su concentración que no se ha reportado en algún otro estudio del género *Baccharis*.

El efecto relajante del extracto dependió claramente de las concentraciones utilizadas, considerándose una CE_{50} de 46,41 mg/mL del extracto del *Baccharis latifolia*, para inducir relajación del músculo liso; y, además, se consideró una CE_{50} de 182,2 mg/mL del extracto hidroalcohólico para inducir estimulación del músculo liso (Figura 03).

La presente investigación muestra efectos contrarios al emplear el extracto en concentraciones bajas y altas; esto posiblemente tendría una explicación científica, tipo hormesis. Los reportes científicos definen a la hormesis cuando las sustancias en dosis pequeñas tienen efectos diferentes u opuestos a cuando se utilizan dosis mayores.^{20,21}

Al evaluar el efecto toxicológico del *Baccharis latifolia*, se observó que la administración del extracto a diferentes dosis y a una dosis límite de 2000 mg/kg de masa corporal no provocó muerte en los animales de los grupos problema (Tabla 01). Los signos aparecidos en el grupo problema después de la administración de la sustancia de ensayo (letargo y somnolencia) sugieren toxicidad; sin embargo, la pronta recuperación sugiere una intoxicación ligera o leve. En el grupo control no se evidenciaron los signos clínicos observados en los animales tratados; sólo se observó un estado de estrés atribuido a la manipulación. En nuestro estudio de toxicidad oral aguda, no se observó cambios significativos en la ganancia o pérdida de peso, ni alteraciones patológicas en órganos y tejidos, que puedan ser atribuidas a la administración del extracto. Debido a la ausencia de mortalidad o presencia de animales moribundos, se puede afirmar que la DL_{50} oral para el extracto es superior a 2000 mg/kg, calificándose, según el Sistema Global Armonizado, como “no clasificada” o “no tóxica”.¹¹

Cabe señalar que en un estudio de la Universidad Nacional de Colombia, donde se realizaron pruebas de toxicidad aguda oral en ratas de la especie *B. latifolia*, por administración del extracto etanólico a dosis de 2000 mg/kg, los hallazgos clínicos más representativos fueron ligera depresión y presencia de heces blandas. También se realizó el estudio de toxicidad subaguda oral en ratas, de lo cual, se concluyó que la administración diaria por 28 días del extracto etanólico, dosificado a 1000 mg/kg, no ocasiona mortalidad, pero sí alteraciones en el peso relativo de órganos como el bazo y los riñones, así como lesiones en tejido renal, que pueden sugerir una leve respuesta tóxica.²²

En este sentido, el efecto relajante sobre el músculo liso intestinal, atribuida a la especie *Baccharis latifolia*, valida su acción relajante sobre el músculo liso intestinal, referida en la medicina popular y se corresponde con lo hallado

experimentalmente, teniendo en cuenta las bajas concentraciones, ya que en dosis altas causa un efecto de rebote produciendo una actividad contráctil. En cuanto al efecto tóxico, por no ser letal se considera no tóxico.

V. CONCLUSIÓN

El extracto de Chilca (*Baccharis latifolia*) sobre el músculo liso intestinal ha demostrado un efecto bifásico, conocido como de tipo hormesis, donde en concentraciones bajas (CE_{50}) de 46,41 mg/mL, brinda un efecto relajante; y en dosis altas (CE_{50}) 182,2 mg/mL, un incremento de la contracción del íleon de cobayo. En las condiciones experimentales, la administración oral del extracto en ratones no mostró toxicidad, la DL_{50} se encuentra por encima de 2000 mg/kg de masa corporal, calificándose así como “no tóxica”.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 HERNÁNDEZ A. 2005. Fitoterapia. Bases científicas y legales para su aplicación. BLACPMA. 4(4): 71-85.
- 2 KUKLINSKI C. 2003. Farmacognosia. Ediciones Omega.
- 3 FREIRE S, URTUBEY E, GIULIANO D. 2007. Epidermical characters of baccharis (asteraceae) species used in traditional medicine. *Caldasia*. 29(1):23-38.
- 4 BELTRÁN H, GRANDA A, LEÓN B, SAGÁSTEGUI A, SÁNCHEZ I, ZAPATA M. 2006. Astereaceas endémicas del Perú. *Rev. peru. Biol.* 13(2): 64 -164.
- 5 HOYOS K, YIEN YEP M. 2008. Diseño de una formulación de aplicación tópica a base de *Baccharis latifolia* (Chilca), con efecto antiinflamatorio [Tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú.
- 6 SERRANO L. 2005. Actividad antiespasmódica de extractos de plantas medicinales en preparaciones de íleon de cobayo. [Tesis]. Universidad Autónoma de Nuevo León. México.
- 7 LOCK DE UGAZ, O. 1994. Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. Segunda edición. Fondo editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.
- 8 GARNICA C, RINCÓN J. 2004. Contribución al estudio fitoquímico y de la actividad inmunomoduladora del extracto etanólico de las hojas de *Myrcianthes leucoxila*. [Tesis]. Universidad nacional de Colombia.
- 9 OMS. 1958. Métodos de ensayo toxicológico de los aditivos alimentarios. Segundo informe del comité mixto FAO/ OMS de expertos. Ginebra.
- 10 SILVEIRA A, PAZ L. 2008. New species of *baccharis* (asteraceae, astereae) from Brazil. *Bonplandia*; 17(1): 13-24.
- 11 SALCEDO ORTIZ L, STERNER O, ALMANZA V, GIOVANNA R. 2001. Phytochemical study of *Baccharis latifolia* L.T., *Rev. Boliv. Quim.* 18(1):43-46.
- 12 ABAD M, BERMEJO P. 2007. *Baccharis compositae* a review update. *Arkivoc* (7): 79-96.
- 13 ROJAS J, VELAZCO J, ROJAS L, DÍAZ T, CARMONA J, MORALES A. 2010. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Baccharis latifolia* Pers. And *B. prunifolia* H.B & K. (Asteraceae). *Natural Product Communications*. 12(2): 1245-1248.

- 14 MASSIGNANI J, LEMOS M, MAISTRO E, SCHAPHOUSER H, FABIANE R, BARRETO J. 2009. Antiulcerogenic activity of the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* on different experimental models in rats. *Phytotherapy research*. 4: 123-127.
- 15 AZIZ M, NAOUAL T, AHMED K, HASSANE M, BNOUHAM M, ABDERRAHIM Z. 2010. Relaxant effect of aqueous extract of *Cistus ladaniferus* on rodent intestinal contractions. 77: 425-428.
- 16 EMENDORFER F, BELLATO F, NOLDIN V, NEIRO R, CECHINEL-FILHO V. 2008. Evaluation of the relaxant action of some brazilian medicinal plants in isolated guinea-pig ileum and rat duodenum. *J. Pharm Pharmaceut Sci*. 8(1):63-68.
- 17 YORO G, SARR A, MOCTAR A, FAYE B. 2011. Myorelaxant and antispasmodic effects of the aqueous extracto of *Mitragyna inermis* barks on wistar rat ileum. *El servier*. (75): 447-450.
- 18 HERRERA M, ZARZUELO A, JUMENEZ J, MARHUENDA E, DUARTE J. 2006. Effects of flavonoids on rat aortic smooth musclecontractility: structure-activity relationships. *Gen. Pharmac*. 27(2): 273-277.
- 19 ASTUDILLO A, MATA R, Y NAVARRETE A. 2009. El reino vegetal, fuente de efectos antiespasmódicos gastrointestinales y antidiarreicos. *Rev. Latinoamer. Quím*. 37(1): 7-44.
- 20 MATTSON M. 2008. Hormesis defined. *Ageing Res Rev*. 7(1): 1-7.
- 21 CALABRESE E. 2008. Hormesis and medicine. *Br J Clin Pharmacol*. 66(5): 594-617.
- 22 ARAGADVAY S. 2009. Elaboración y control de calidad de tintura y gel cicatrizante y antiinflamatorio a base de chilca (*Baccharis latifolia*) y hierbamora (*Solanum nigrum*) [Tesis]. Escuela superior politécnica de Chimborazo. Ecuador.