

EFFECTO DE LA ACTIVIDAD ANTIESPASMÓDICA DEL EXTRACTO METANOLICO DEL ALGA *Oedogonium capillare* (Linn) Kuetz SOBRE ILEON DE RATA WISTAR.

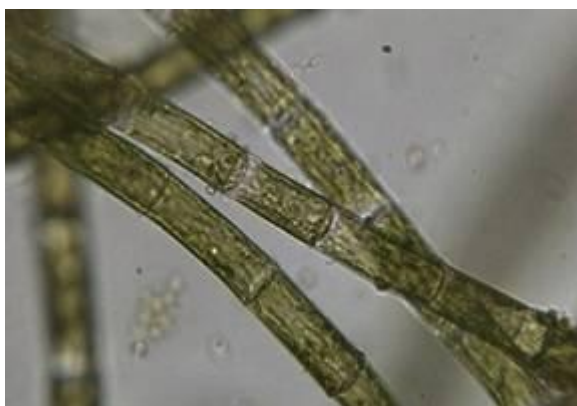
Rosario C. Vargas Solís¹, Rosa Martha Pérez Gutiérrez² y Guadalupe Figueroa Torres³

¹ Laboratorio de Fitofarmacología, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco.(México D.F., México).

² Laboratorio de Investigación de Productos Naturales. Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas Instituto Politécnico Nacional (México D.F., México).

³ Laboratorio de Ficología. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco .(México D.F., México).

E-mail: rvargas @correo. xoc.uam.mx.



Introducción

En los estudios realizados en las algas se encontraron compuestos con diferentes efectos farmacológicos, como son: analgésico, antiinflamatorios, relajantes musculares entre otros (1). Actualmente se sabe que más del 15% de las algas ofrecen una novedad curativa en relación del 1% de las especies terrestres. *Oedogonium capillare*(Linn) Kuetz es un alga, conocida comúnmente como “lama” o “natas flotantes”. Pertenece a la familia Oedogoniaceae de la División Chlorophyta (2,3,4) Vive en agua dulce, se caracteriza por formar filamentos simples, uniseriados, las células son largas y angostas, posee cloroplastos reticulados; presenta una forma de crecimiento basada en el desarrollo de masas flotantes que llegan a cubrir todo el cuerpo de agua. Esta alga sirve de alimento y protección a los renacuajos y a otros organismos acuáticos. En la medicina tradicional se ha usado esta alga para aliviar trastornos gastrointestinales. En este estudio se determinó el efecto antiespasmódico del alga *O. capillare*, empleando diferentes extractos (metanólico, hexánico y clorofórmico) sobre un bioensayo realizado en órgano aislado de íleon de rata Wistar.

Materiales y Métodos

Planta

El alga *Oedogonium capillare*, fue recolectada en el Centro de Investigaciones biológicas y Acuícolas de Cuernavaca (CIBAC) de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Se recolectaron aproximadamente 4 kg del alga, se lavó con agua corriente y se eliminó manualmente todo el material extraño. El material fue observado al microscopio para determinar su pureza, posteriormente se identificó en el laboratorio del Ficología de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco guardando un voucher de la especie como referencia.

Preparación del extracto

El alga *Oedogonium capillare* se secó a la sombra sobre papel a temperatura ambiente. Se pesaron 300 g del alga molida, los cuales se colocaron en un Soxhlet a temperatura de reflujo con hexano durante 5 horas, consecutivamente se extrajo con cloroformo y el metanol. El disolvente fue eliminado con un evaporador rotatorio a presión constante. El rendimiento del extracto de hexano, cloroformo y metanol fue de 1.05, 2.1 y 3.6% respectivamente. El residuo del extracto fue disuelto en solución fisiológica Krebs Hansseleit para su estudio (5)

Animales

Se utilizaron ratas machos Wistar, de un peso de 200- 250 g. Se mantuvieron con periodos de luz-oscuridad de 12:12 y humedad relativa de 50%; agua y comida *ad libitum*.

Preparación del tejido

Los animales se sacrificaron por dislocación cervical, se abrió la cavidad abdominal y se extrajo el íleon que se cortó en segmentos de 1.5 cm; cada uno de los anillos se fijó a un transductor F-60 conectado a un fisiógrafo Narco-BioSystems y el otro extremo a una cámara para órgano aislado, con 10 ml de solución fisiológica Krebs-Hansseleit, con burbujeo constante de una mezcla de oxígeno al 5 % y bióxido de carbono al 95 % (carbógeno), a temperatura constante de 37 °C y pH de 7.2. El tejido se dejó estabilizar durante 30 minutos, la solución fisiológica fue cambiada cada 10 minutos. Para probar cada uno de los extractos se hizo un registro control durante 5 minutos y después el extracto se le agregó al baño que permaneció en contacto con el músculo durante 5 minutos periodo durante el cual se hizo el registro experimental, terminado éste se lavó el tejido y se volvió a realizar otro registro para evaluar las condiciones fisiológicas del músculo. Para cada uno de los extractos se utilizaron tejidos recién obtenidos. Se probaron los extractos de cloroformo, hexano y metanol para determinar cual de ellos tenía efecto sobre el íleon (6).

Con el extracto activo se hizo una curva dosis respuesta con adición acumulativa al baño y las concentraciones usadas fueron de 0.5, 1, 2, 4, 8 y en algunos casos 16 mg/ml. Para evaluar la actividad antiespasmódica se utilizó KCl 60 mM para producir una contracción sostenida y posteriormente aplicar el extracto activo. Se utilizó acetilcolina (2µg/ml) la cual se aplica después de la incubación del tejido con el extracto durante 10 minutos y se comparó con el registro control previamente realizado. Los resultados se normalizaron como porcentaje a partir de los obtenidos al inicio de las pruebas.

Análisis estadístico

Los resultados se presentan como la media \pm desviación estándar, con el número de los experimentos (n). La comparación de los datos se hizo mediante un análisis de varianza ANOVA. Se estableció la diferencia significativa para una $p < 0.05$.

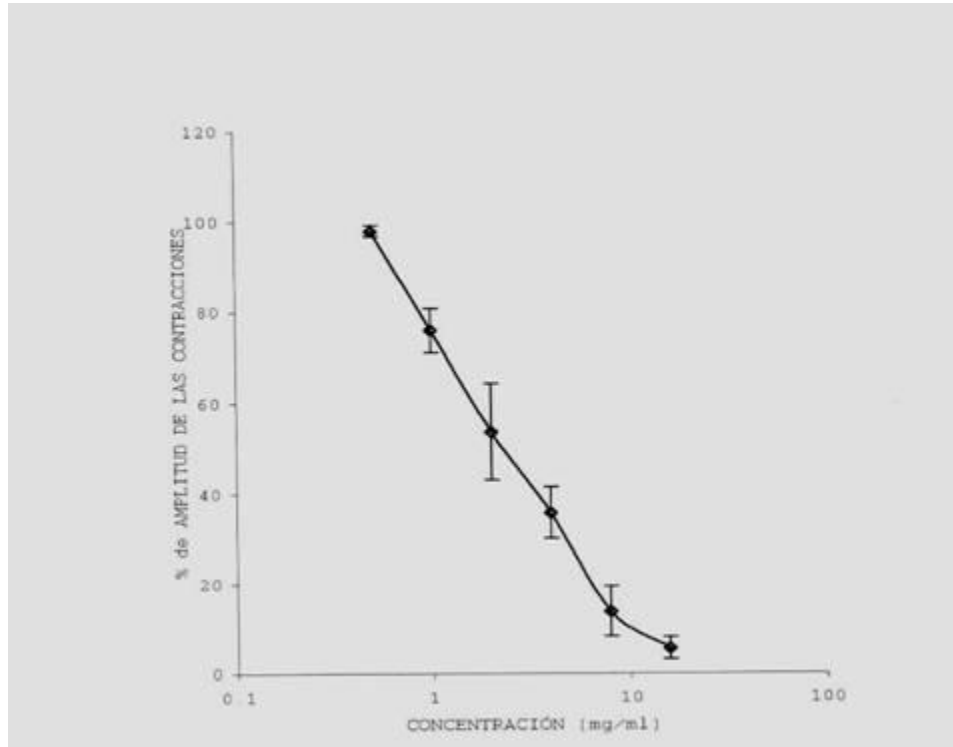
Resultados

El extracto metanólico de *Oedogonium capillare* presentó un efecto relajante, los extractos clorofórmico y hexánico no tuvieron efecto sobre la amplitud de las contracciones ni sobre el tono del músculo del íleon de la rata Wistar.

Efecto relajante del extracto metanólico de *O. Capillare* sobre el tono basal del íleon de rata

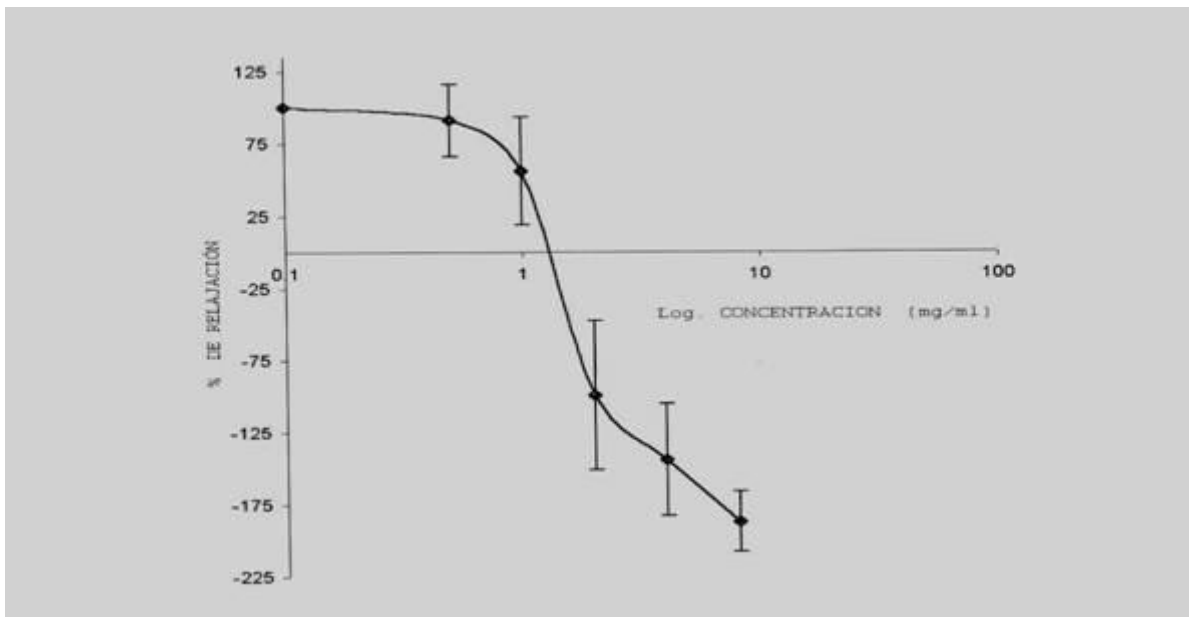
La adición acumulativa del extracto metabólico (0.5 – 8 mg/ml) produjo una relajación progresiva de la amplitud de las contracciones del íleon con IC_{50} 0.6 mg/ml, $n = 27$, (ver Figura 1). Se observó que el extracto es capaz de inhibir la actividad contráctil del íleon en una forma significativa, esto se presentó en todas las preparaciones estudiadas.

Figura 1. Efecto relajante del extracto metabólico de *O. capillare* sobre las concentraciones de ileon aislado de rata. Las barras verticales representan la desviación media de las concentraciones. $p > 0.05$.



Para conocer la actividad del extracto sobre el tono del músculo se probaron diferentes concentraciones del extracto metanólico (0.5 a 8 mg/ml) sobre el íleon y se obtuvo una relajación máxima de $180 \pm 51.2\%$ ($n = 27$) por debajo del tono basal (ver Figura 2); con un $IC_{50} = 2.2$ mg/ml; se puede ver que este efecto es completamente reversible porque cuando el extracto se eliminaba de la preparación el tejido se recuperaba totalmente; esto puede apoyar las bases fisiológicas para el uso que se le da en la medicina tradicional para el tratamiento de los trastornos gastrointestinales.

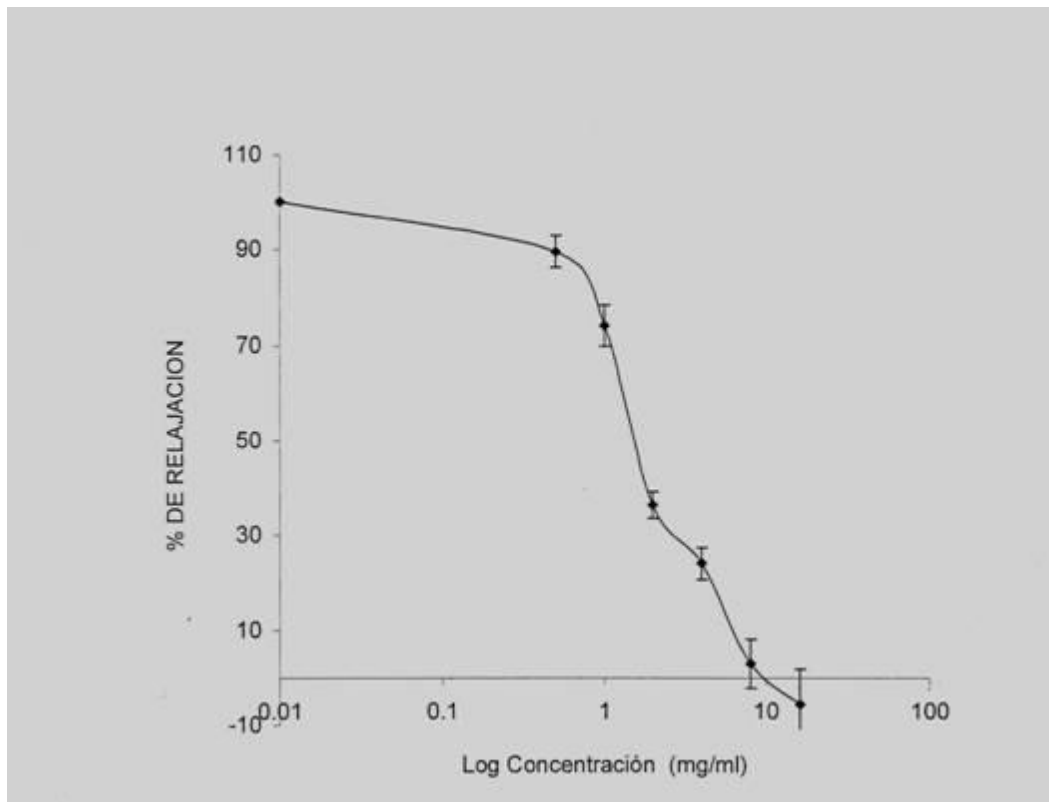
Figura 2. Efecto relajante de *O capillare* sobre el íleon aislado de la rata Wistar. Las barras corresponden a la desviación media estándar. $p < 0.05$.



Efecto antiespasmódico del extracto metanólico de *O. Capillare* sobre íleon de rata

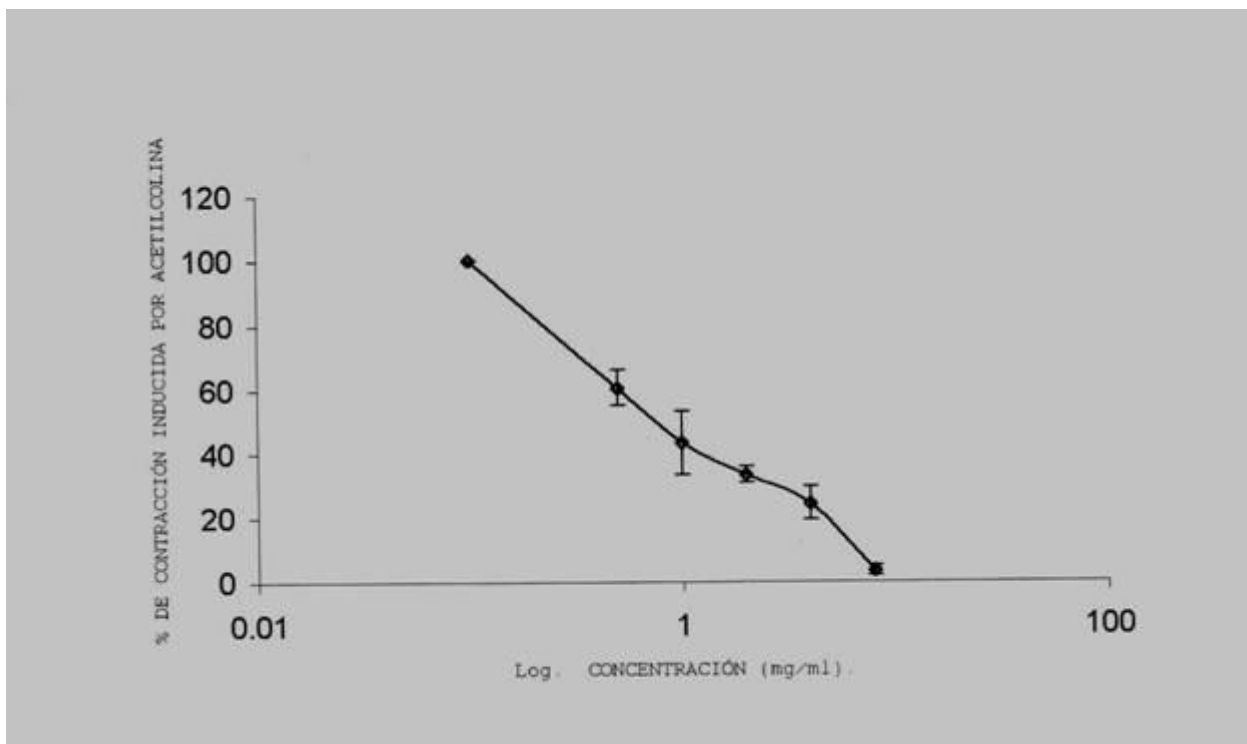
Se indujo la contracción sostenida del íleon con KCl 60 mM (estímulo despolarizante) y se observó una relajación de $5.6 \pm 15.3\%$, $n = 45$ por debajo del tono basal, al aplicar concentraciones acumulativas del extracto metanólico (0.5 a 16 mg/ml); con un $IC_{50} = 0.74$ mg/ml (ver Figura 3).

Figura 3. Efecto antiespasmódico dosis-dependiente del extracto de *O. capillare* sobre íleon aislado, previamente despolarizado con KCl (60 mM). Las barras corresponden a la desviación media estándar. $P < 0.05$.



La preparación se preincubó con el extracto metanólico (0.5 a 8 mg/ml) durante 10 minutos y se le agregó acetilcolina (2 μ g/ml) se obtuvo una reducción de la contracción producida por el neurotransmisor de $96.5 \pm 3.6\%$, $n = 27$ con la dosis mayor del extracto, comparada con el registro control y con relación dosis dependiente (7), con un $IC_{50} = 1.8$ mg/ml (ver Figura 4).

Figura 4. Curva de relajación dosis-dependiente después de la edición del extracto de *O. capillare* al íleon de rata previamente estimulado con acetilcolina. Las barras corresponden a la desviación media estándar. $p < 0.05$



Discusión y Conclusiones

El extracto metanólico tiene componentes polares dosis dependientes, relajantes, reversibles y antiespasmódicos sobre el íleon de rata ya que es capaz de inhibir la respuesta de un amplio rango de estímulos contráctiles así como de una alta concentración de potasio y del neurotransmisor acetilcolina, aunque mostró mayor selectividad por el KC1 puesto que su IC_{50} fue menor que para la acetilcolina, sin embargo son más semejantes comparados con el extracto metanólico (8,9) La actividad antiespasmódica apoyaría el uso que se le da en la herbolaria para el tratamiento de trastornos intestinales.

El KCl inhibe la entrada de calcio por los canales de membrana L operados por voltaje. La acetilcolina se une a su receptor serpentina acoplados a través de una proteínas G a una fosfolipasa C de la membrana plasmática, fosfatidilinositol 4.5 bifosfato, que cataliza la formación de 1,4,5 trifosfato de inositol y diacilglicerol, los cuales actúan como segundos mensajeros. La primera sustancia actúa liberando calcio intracelular del retículo endoplásmico y la segunda, es decir, el diacilglicerol, activa la proteína quinasa C dependiente de fosfolípidos capaz de fosforilar ciertas proteínas diana específicas. Por lo que se sugiere que la relajación producida por el extracto algal metanólico podría ser debida a inhibición de la liberación del calcio intracelular del retículo y/o inhibición de la entrada de calcio a través de la membrana (10,11, 12).

El presente estudio muestra que el extracto metanólico de *Oedogonium capillare* tiene componentes con efectos relajantes significativos ($p < 0.05$) y antiespasmódicos tanto para la acetilcolina como para el cloruro de potasio ($p < 0.05$), reversibles y dosis dependiente sobre el íleon de rata Wistar, por lo que es necesario continuar con los estudios fitoquímicos y farmacológicos para aislar el o los componentes responsables de los efectos antes mencionados.

Resumen

El alga *Oedogonium capillare* (Linn.) Koetz, se evaluó el efecto antiespasmódico de los extractos de metanol, cloroformo y hexano, en una preparación para órgano aislado *in Vitro* sobre íleon de rata Wistar, utilizando acetilcolina y cloruro de potasio. Se determinó IC_{50} para cada uno de ellos. El extracto metanólico tuvo efectos relajantes significativos sobre el íleon utilizado a diferencia de los otros extractos clorofórmico y hexánico que no tuvieron actividad. También el extracto de metanol es capaz de inhibir la contracción inducida con KCl y la acetilcolina, este efecto antiespasmódico puede explicar el uso que se le da en la medicina tradicional.

Keywords: antispasmodic activity, methanol extract, *Oedogonium capillare*

Abstract

The antispasm effect of methanol, chloroform and hexane extracts of the algae *Oedogonium capillare* (Linn.) Koetz was evaluated in an *in Vitro* preparation for an isolated organ. This was tested on the ileum of Wistar rats using acetylcholine and potassium chloride. For each of them, IC_{50} was determined. The methanol extract had a significant relaxation effect on the ileum in contrast with the other chloroform and hexane extracts which showed no activity. The methanol extract showed also a capability to inhibit contractions induced with KCl and acetylcholine; this antispasm effect might account for the use of this algae in traditional medicine.

Palabras clave: actividad antiespasmódica, extracto metanólico, *Oedogonium capillare*

Referencias

1. Muñoz A. 1992 *Drogas del Mar. Substancias Biomédicas de algas Marinas. Universidad de Santiago de Compostella.* p 188.
2. Hirn, K.E. 1960 *Monographie der Oedogoniaceen. H.R. Engelmann (J. Cramer) and Wihildon & Wesley, New York.* 52, 112-114.
3. Gauthier-Liérre, L. 1964 *Oedogoniacées Africaines. J. Cramer, Germany,* 305-306.
4. Tyffany L.H. 1930 *The Oedogoniaceae. Ohio State University Columbus, Ohio* p. 53, 80, pl XVIII, figs. 16 y 165.
5. Vargas R. y R. M Pérez 2000 *Efecto del extracto hexánico de Aloysia tripillia sobre el corazón de rata Wistar. Rev. Mex. Cien. Farm. Vol. 3 No.3: 23-25.*
6. Vargas R., G. S. Pérez and S. M. A Zavala., Chimal H. A. 1998 *Inhibitory effect of Salix taxifolia extract on rat ileum contraction. Phytother. Res. 12:S51-S52.*
7. García R., I Lemus., P Rivera and S Erazo. 1997 *Biological and chemical study of paico (Chenopodium chillensi, Chenopodiaceae) J. of Ethnopharmacol. 57: 85-88.*
8. Lima C Lima CC, DN Criddle, AN Coelho-de-Souza, FJ Monte, M Jaffar, JH Leal-Cardoso. 2000 *Relaxant and antispasmodic actions of methyleugenol on guinea-pig isolated ileum. Planta Med. 66, 408-411.*
9. Cámara C.C., R.F.N Nasimiento, L.C Maceo-Felho, S.B.F. Almeida and C. M. Fronteles 2003 *Antispasmodic effect on the Essential Oil of Plectranthus barbatus and some Major Constituents on Guinea-pig ileum. Planta Med.69:1080-1085.*
10. Nelson L. D.and M. M Cox 2000 *Lehninger Principios de Bioquímica. Editorial Omega. 456-458.*
11. Amos S., F. K Okwuasaba, K Gamaniel, P.Akah and C.Wambebe 1998 *Inhibitory effect of the aqueous extract Pavetta crassipes leaves on gastrointestinal and uterine smooth muscle preparations isolated from rabbits, guinea pigs and rats. J. of Ethnopharmacol. 61: 209-213.*
12. Borrelli, F., N Borbone., C R.apasso, D. Montesano, S.De Marino, G.Aviello, G. Aprea and A. Izzo 2009 *Potent relaxant effect of a Celastrus paniculatus extract in the rat and human ileum. J. of Ethnopharmacology.122:434-438*