

Efecto sobre la motilidad intestinal del extracto de alcaloides de semilla de *Jatropha curcas* L.

Effect of the alkaloid extract from *Jatropha curcas* L. seeds on the intestinal motility

José María Carrasco Rueda, Armando Fartolino Guerrero, Ángela Sánchez Chávez, Junior Lujan Reyes, Alessandra Pachas Quiroz, Lucía Del Carmen Castilla Candela, Rodrigo Núñez Bravo, Karen Osorio Giraldo, MSc. Ángel Alvarado Yarasca, Dra. C. Berta Loja Herrera, Dr. Alberto Salazar Granara

Centro de Investigación de Medicina Tradicional y Farmacología, Universidad de San Martín de Porres. Lima, Perú.

RESUMEN

Introducción: estudios preclínicos del extracto total de la raíz de *Jatropha curcas* L. (piñón blanco) demostraron su efecto antidiarreico, en contraste, ensayos de toxicidad crónica del extracto total de la semilla muestran efecto diarreico.

Objetivo: determinar el efecto sobre la motilidad intestinal del extracto de alcaloides de semilla de *Jatropha curcas* L.

Métodos: se utilizaron 50 ratones albinos con pesos medios de 25 g, se empleó el método de Arbós y otros; se administró carbón activado al 5 % vía oral, dosis de 0,1 mL/10 g, como marcador intestinal. Los grupos experimentales fueron: agua destilada 0,1 mL/10 g, atropina 1 mg/kg, extracto de alcaloides de semilla de *Jatropha curcas* 500 y 1 000 mg/kg, respectivamente, y neostigmina 1 g/kg. Para la validación estadística se usó la prueba de Kruskal-Wallis, ANOVA, Tukey, y Newman-Keuls.

Resultados: el porcentaje de recorrido del carbón activado fue de 69,21; 36,37; 58,96; 49,65 y 74,17, respectivamente. La prueba de ANOVA demostró diferencias estadísticas ($p < 0,05$; IC 95 %), y la prueba de Tukey y Newman-Keuls, demostraron diferencias significativas entre el grupo que recibió agua destilada y la planta a 1 000 mg/kg.

Conclusiones: se comprobó efecto de disminución de la motilidad intestinal por acción del extracto de alcaloides de *Jatropha curcas*, en dosis de 1 000 mg/kg.

Palabras clave: *Jatropha curcas*, alcaloide, motilidad intestinal.

ABSTRACT

Introduction: preclinical research studies of *Jatropha curcas* L. (piñón blanco) root extract proved its antidiarrheal activity; however the chronic toxicity test of the total seed extract demonstrated diarrheal effect.

Objectives: to determine the effect of the alkaloid extract from *Jatropha curcas* L. seeds on the gastrointestinal motility.

Methods: fifty albino mice with average weight of 25 g were used. The Arbos *et al.*'s method was applied. The intestinal marker was 5 % activated charcoal administered at a dose of 0.1 mL/10 g. The experimental groups included 0.1 mL/10 g of distilled water, 1.5 mg/kg of atropine, alkaloid extract of *Jatropha curcas* L. seeds at doses of 500 and 1 000 mg/kg respectively, and 1 g/kg of neostigmine. The statistical validation was based on Kruskal-Wallis test, ANOVA, and Tukey and Newman-Keuls test.

Results: the percentages of the charcoal run were 69.21, 36.37, 58.96, 49.65, and 74.17 respectively. The ANOVA test demonstrated statistical significance ($p < 0.05$, IC 95 %). Comparative Tukey and Newman-Keuls test showed statistical significance between distilled water and *Jatropha curcas* at a dose of 1 000 mg/kg.

Conclusions: the decrease on the gastrointestinal motility resulting from the effect of the alkaloid extract of *Jatropha curcas* seeds was proved at a dose of 1 000 mg/kg.

Key words: *Jatropha curcas* L., alkaloid, intestinal motility.

INTRODUCCIÓN

Jatropha curcas L. es una planta originaria de las regiones tropicales de Sudamérica; particularmente en el Perú, se distribuye en los departamentos de Loreto, San Martín, Ucayali, Piura, Cajamarca, Cusco y Lima.^{1,2}

El registro ancestral medicinal de *J. curcas* le infiere propiedades como emenagogo, laxante, antidiarreico, analgésico, antiinflamatorio, y en usos tópicos diversos; se emplea para tales fines desde las hojas hasta las semillas, el látex, y la corteza.^{2,3}

Estudios preclínicos del extracto de la semilla de *J. curcas* le atribuyen efecto anticonceptivo, antimicótico y acaricida;⁴⁻⁶ por otra parte, pruebas de toxicidad crónica revelan diarrea, hemorragia y congestión de intestinos, y mortalidad en dosis de 1 g/kg;^{7,8} efectos que se reducen, significativamente, al emplear extractos purificados de ésteres de forbol.⁹

Investigaciones de otras partes de la planta como la raíz, demuestran actividad anti-diarreica y antiinflamatoria,^{10,11} cicatrizante, coagulante y anticoagulante del látex,^{12,13} y efecto abortivo del fruto.¹⁴

El presente estudio se centró en evaluar el efecto del extracto de alcaloides de la semilla de *J. curcas* (piñón blanco) sobre la motilidad intestinal en roedores.

MÉTODOS

Tipo de estudio: cuasiexperimental, preclínico, longitudinal, y a doble ciegas.

Muestra vegetal: se emplearon semillas secas de *J. curcas*, que se colectaron en Tarapoto-San Martín, y la certificación taxonómica se realizó bajo los criterios del método de *Cerrate*.¹⁵

Muestra biológica: se emplearon 50 ratones machos *Mus musculus*, de peso promedio 25 g, del Centro Nacional de Productos Biológicos del Instituto Nacional de Salud del Perú; los cuales se aclimataron previamente en el bioterio de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres, siguiendo los lineamientos procedimentales y éticos, del *International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animal*.¹⁶

Muestra química: sulfato de atropina en ampollas, lote 105-230, registro sanitario (RS) N-3169 (vencimiento 12/2012); agua destilada en ampollas, lote 080707, RS E-01209 (vencimiento 07/2011); neostigmina en ampollas, lote 108-203, RS E-6951 (vencimiento 12/2012); y carbón activado, lote 0000097644.

Extracción de alcaloides: se empleó el método descrito por *Muzquiz* y otros;¹⁷ así, el extracto se preparó a partir del material seco y molido de las semillas de *J. curcas*, luego se maceró por 10 días en una proporción equitativa a la del n-hexano, seguidamente se filtró la mezcla y se agregó HCl al 1 N, a continuación, se agregó hidróxido de sodio (NaOH) al 6 N, luego diclorometano (CH₂Cl₂), reposando en este último por 1 día, finalmente, se filtró la solución y se llevó a una estufa a 37 °C para obtener un polvo seco de extracto alcaloideo.

Motilidad gastrointestinal in vivo: se empleó el método descrito por *Arbós* y otros,^{18,19} de esta forma, 50 ratones que mantuvieron un período de ayunas de 24 h, se distribuyeron aleatoriamente por el método de moneda sesgada; seguidamente se distribuyeron en grupos y recibieron las sustancias respectivas, con un modelo a doble ciegas, en el que, tanto el operador que administró las sustancias como el que hizo la medición de la longitud del intestino y el recorrido del carbón activado, desconocían el origen de estas. Los grupos experimentales fueron los siguientes: grupo 1, recibió agua destilada 0,1 mL/10 g vía oral (VO); grupo 2, atropina 1 mg/kg vía subcutánea (SC); grupos 3 y 4 extracto de alcaloides de semilla de *J. curcas* 500 y 1 000 mg/kg VO, respectivamente; grupo 5, neostigmina 1 g/kg SC. Se consideró el volumen de administración tolerado, según vía específica, sobre la base de las recomendaciones estándares, recopiladas del *Handbook of Laboratory Animal Science*.²⁰ Después de 30 min de la administración de las sustancias, todos los ratones recibieron vía oral, carbón activado al 10 %, en dosis de 0,1 mL/10 g de peso corporal; 30 min posadministración de carbón activado, se sacrificó a los animales por desnucación cervical, enseguida, se realizó disección tipo laparotomía y se extrajo el intestino delgado, teniendo como reparos anatómicos, la porción pilórica y la válvula ileocecal. Luego se hicieron mediciones de la longitud del intestino delgado y del recorrido del carbón activado, que contuvo por lo menos 1 cm continuo de carbón. La distancia se expresó como la media del porcentaje de la longitud total del intestino recorrida por el carbón.

Análisis estadístico: se aplicaron las pruebas de *Kruskal-Wallis*, ANOVA de 1 cola; y *Tukey* y *de Newman-Keuls*, para las comparaciones entre los grupos; se estableció la significancia estadística, para un valor $p < 0,05$, y un intervalo de confianza al 95 %; se empleó como soporte informático *Microsoft Office Excel* 2010, y el programa estadístico *GraphPadPrism* versión 5.01.

RESULTADOS

En la tabla se aprecia el análisis del efecto sobre la motilidad intestinal del extracto de alcaloides de la semilla de *J. curcas*, resaltando el resultado de la prueba de *Kruskal-Wallis*, que determinó una distribución gaussiana para todos los grupos experimentales (Fig.).

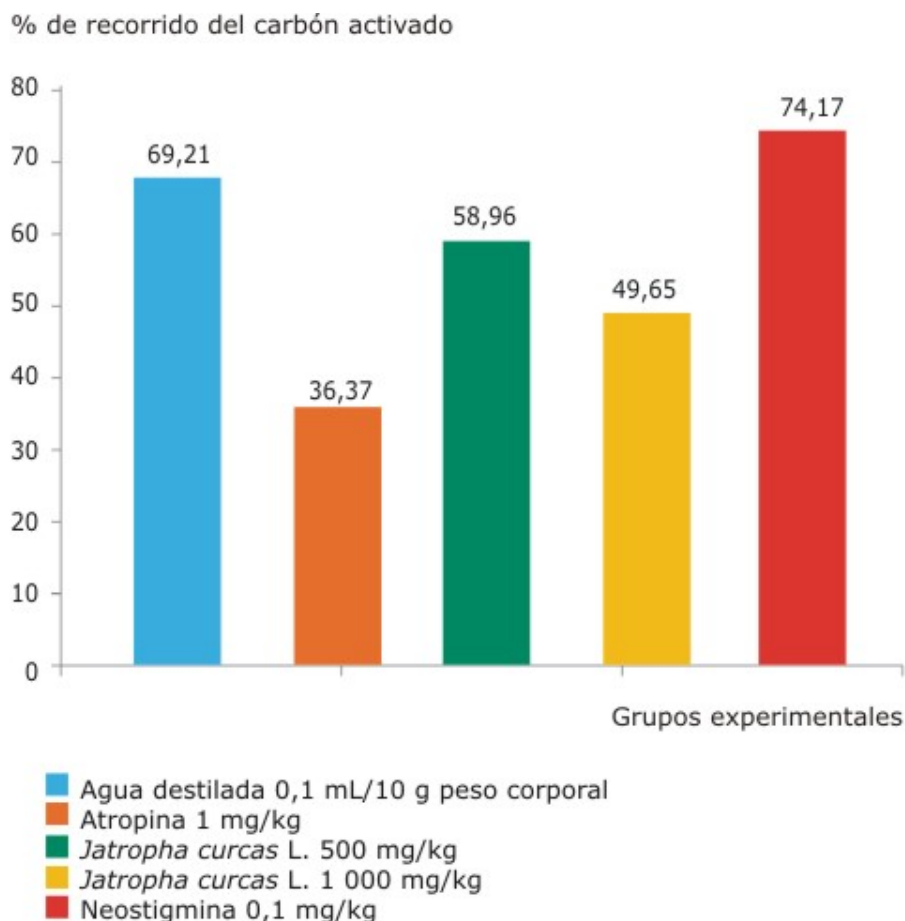


Fig. Comparación del efecto sobre la motilidad intestinal del extracto alcaloideo de la semilla de *Jatropha curcas* L.

Asimismo, la prueba de ANOVA de una cola reveló diferencias significativas entre los grupos de estudio, evidenciando una disminución del recorrido del carbón activado, en los grupos que recibieron extracto de alcaloides de *J. curcas*, frente al grupo que recibió agua destilada y neostigmina (tabla).

Por otra parte, respecto al recorrido del carbón activado, las pruebas estadísticas de comparación múltiple, arrojaron significancia entre los grupos 1 y 2, 1 y 4, y 4 y 5; se observó así, un efecto de disminución de la motilidad intestinal por acción del extracto de alcaloides de la semilla de *J. curcas*, en dosis de 1 000 mg/kg (tabla).

Tabla. Análisis del efecto sobre la motilidad intestinal en roedores, del extracto alcaloideo de la semilla de *Jatropha curcas* L. (piñón blanco)

Sustancia/Fármaco *†	N	Media del recorrido de carbón activado (cm)	Media del % de recorrido del carbón activado
Agua destilada 0,1 mL/10g	10	38,80 ± 7,59	69,22 ± 12,18
Atropina 1 mg/kg ≠§	10	20,53 ± 15,00	36,37 ± 28,68
Extracto alcaloideo de <i>Jatropha curcas</i> L. 500 mg/kg	10	34,38 ± 10,63	58,96 ± 16,25
Extracto alcaloideo de <i>Jatropha curcas</i> L. 1 000 mg/kg ≠§	10	28,35 ± 7,42	49,65 ± 14,96
Neostigmina 1 g/kg	10	42,22 ± 5,26	74,18 ± 8,62

* Test de normalidad de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$, indicando distribución gaussiana; † Test de ANOVA de una cola, $p = 0,0001$; ‡ Test de comparación múltiple de Tukey, $p < 0,05$, para el recorrido del carbón activado, entre los grupos: 1 y 2, 2 y 3, y 4 y 5. Para el % de recorrido del carbón activado, entre los grupos: 1 y 2, 2 y 3, 2 y 5, y 4 y 5; § Test de comparación múltiple de Newman-Keuls, $p < 0,05$, para el recorrido del carbón activado, entre los grupos 2 y 5, 2 y 1, 2 y 3, 4 y 5, y 4 y 1. Para el % de recorrido del carbón activado, entre los grupos: 2 y 5, 2 y 1, 2 y 3, 4 y 5, y 4 y 1.

De la misma forma, el análisis del porcentaje de recorrido intestinal del carbón activado, presentó una prueba de ANOVA de una cola, con un valor $p < 0,05$, observándose una disminución de la motilidad intestinal, en los grupos que recibieron extracto de alcaloides de la semilla de *J. curcas* (Fig.).

Asimismo, las pruebas estadísticas de comparación múltiple, del porcentaje del recorrido del carbón activado, resultaron en un valor $p > 0,05$ entre los grupos 2 y 4, y 3 y 5, corroborando que no existen diferencias significativas entre estos grupos, lo cual reafirma el efecto de disminución de la motilidad intestinal del extracto de alcaloides de la semilla de *J. curcas*, en dosis de 1 000 mg/kg (tabla y Fig.).

DISCUSIÓN

Los ensayos preclínicos de extractos totales de la semilla de *J. curcas* han demostrado en la actualidad, que presenta efecto analgésico, antimicótico, y acaricida;⁴⁻⁶ asimismo, pruebas de seguridad revelaron efectos diarreicos, que le infieren actividad procinética intestinal.⁷

En este estudio preclínico del extracto de alcaloides de la semilla de *J. curcas*, se demuestra que a dosis de 1 000 mg/kg está presente un efecto de disminución de la motilidad intestinal (Fig.), efecto análogo a la actividad antidiarreica demostrada del extracto etanólico de la corteza de la misma planta.¹⁰

Entre las evidencias científicas que podrían explicar el efecto de disminución de la motilidad intestinal del extracto de alcaloides de la semilla de *J. curcas*, mencionaremos, los ensayos que demuestran el efecto abortivo del fruto de la planta, que infiere una acción a nivel del músculo liso.¹⁴

Asimismo, en otro estudio se demostró el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de la corteza de *J. curcas*, proponiendo como mecanismos posibles la acción sobre las prostaglandinas,¹¹ mediadores a los que se les reconoce que presentan efectos sobre el músculo liso.²¹

Por otra parte, en un modelo experimental *in vitro*, se demostró que el extracto metanólico de la corteza y la hoja de *J. curcas* regulaba en macrófagos, la producción de óxido nítrico,²² del cual se conoce su efecto relajante sobre el músculo liso.²³

La presencia de alcaloides en las semillas y en otras partes de *J. curcas* también ha sido demostrada en diversos estudios;^{24,25} inclusive se ha llegado a tipificar algunos alcaloides como la atherospermidine, que pertenece al grupo de las oxoaporphine, compuestos con comprobados efectos biológicos.²⁶

En tal sentido, se conoce que el alcaloide presente en *J. curcas*, denominado atherospermidine, presenta efecto relajante en el músculo liso uterino, efecto que produce por regulación del calcio intracelular; ese mecanismo podría sumar una explicación^{27,28} al efecto de disminución de la motilidad intestinal observado en este estudio.

De la misma forma, existen evidencias de regulación de la enzima acetilcolinesterasa y afinidad por la acetilcolina, por los alcaloides oxoaporphine,²⁹ mecanismos posibles en la regulación de la motilidad intestinal.

En este estudio se presenta como principal limitación, no alcanzar a dilucidar el nivel de acción del extracto de alcaloides de la semilla de *J. curcas*, por ello, queda en el lindero, futuras investigaciones que indaguen posibles efectos relacionados con la dosis, el lugar y el mecanismo de acción. Sin embargo, ante los resultados expuestos, y discutidos, es evidente el reconocimiento de que la semilla de *J. curcas* y la planta, en general, presentan efectos farmacológicos, hecho que deberá considerarse para una práctica racional de la medicina tradicional.

AGRADECIMIENTOS

Por su apoyo inmensurable, a los doctores Frank Lizarazo Cáparo, decano de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres, y Benjamín Castañeda Castañeda, director del Instituto de Investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vega M. Etnobotánica de la Amazonía Peruana. Quito-Ecuador: Ediciones Abya-Yala; 2001.
2. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). Plantas Medicinales de la Amazonía Peruana. Estudio de su uso y cultivo. Iquitos-Perú; 1997.
3. Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la amazonia peruana. Lima, Perú: Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI) e Instituto De Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP); 2000.

4. Odusote O, Abioye A, Rotibi M. *Jatropha curcas* L. seed oil Linn (Euphorbiaceae): contraceptive activity and an oral formulation. *Nig Qt J Hosp Med.* 2002;12(1-4):44-7.
5. Saetae D, Worapot S. Antifungal activities of ethanolic extract from *Jatropha curcas* seed cake. *J Microbiol Biotechnol.* 2010;20(2),319-24.
6. Abdel-Shafy S, Nasr SM, Abdel-Rahman HH, Habeeb SM. Effect of various levels of dietary *Jatropha curcas* seed meal on rabbits infested by the adult ticks of *Hyalomma marginatum* I. Animal performance, anti-tick feeding and haemogram. *Trop Anim Health Prod.* 2011;43(2):347-57.
7. Abdel W, Onsa T, Ali W, Badwi S, Adam S. Comparative toxicity of *Croton macrostachys*, *Jatropha curcas* and *Piper abyssinica* seeds in Nubian goats. *Small Ruminant Research.* 2003;48(1):61-7.
8. Yan C, Rakshit L, Devappa K, Xin J, Min J, Makkar H, et al. Toxicity of *Jatropha curcas* phorbol esters in mice. *Food Chemical Toxicol.* 2010;48(2):620-5.
9. Rakshit K, Darukeshwara J, Rathina K, Narasimhamurthy K, Saibaba P, Bhagya S. Toxicity studies of detoxified *Jatropha* meal (*Jatropha curcas*) in rats. *Food Chemical Toxicol.* 2008;46(12):3621-5.
10. Mujumdar A, Upadhye A, Misar A. Studies on antidiarrhoeal activity of *Jatropha curcas* L. root extract in albino mice. *J Ethnopharmacol.* 2000;70(2):183-7.
11. Mujumdar A, Misar A. Anti-inflammatory activity of *Jatropha curcas* L. roots in mice and rats. *J Ethnopharmacol.* 2004;90(1):11-5.
12. Villegas LF, Fernández ID, Maldonado H, Torres R, Zavaleta A, Vaisberg AJ, et al. Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Peru. *J Ethnopharmacol.* 1997;55(3):193-200.
13. Osoniyi O, Onajobi F. Coagulant and anticoagulant activities in *Jatropha curcas* L. latex. *J Ethnopharmacol.* 2003;89(1):101-5
14. Goonasekera MM, Gunawardana VK, Jayasena K, Mohammed SG, Balasubramaniam S. Pregnancy terminating effect of *Jatropha curcas* L. in rats. *J Ethnopharmacol.* 1995;47(3):117-23.
15. Cerrate E. Manera de preparar plantas para un herbario. Serie de Divulgación No.1. Lima: Museo de Historia Natural; 1969. p. 10.
16. International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. *Andrologia.* 1986;18:553-4.
17. Muzquiz M, Burbano C, Cuadrado C, de la Cuadra C. Determinación de factores antinutritivos termorresistentes en leguminosas I: Alcaloides Inv Agraria Producción Protección Veg. 1993;8:351-61.
18. Vega Montalvo R, Carrillo Domínguez C. Efecto sobre la motilidad intestinal y toxicidad aguda oral del extracto fluido de *Ocimum gratissimum* L. (orégano cimarrón). *Rev Cubana Plant Med.* 1997;2(2-3):14-8.

19. Arbós J, Zegrí A, López-Soriano FJ, Argíles JM. A simple method for determining the rate of gastrointestinal transit in the rat. *Arch Intern Physiol Bioch Biophys*. 1993;101:113-5.
20. Handbook of Laboratory Animal Science. Essential Principles and Practices. 2nd ed. Vol. 1. Boca Raton, Florida: CRC Press; 2003.
21. Goodman y Gilman. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Cantabria: Editorial Mc Graw Hill; 2007.
22. Ehsan O, Norhani A, Wan Zuhainis S Abdul Rahman O, Syahida A, Wen Bin K, et al. Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Jatropha curcas* Linn. *J Med Plants Research*. 2011;5(1):49-57.
23. Bertram G, Katzung M. Farmacología básica y clínica. 9ª ed. México DF: El Manual Moderno; 2005.
24. Ejelonu BC, Oderinde RA, Balogun SA. Chemical and biological properties of *Jatropha curcas* and *Mucuna solan* seed and seed oil. *Libyan Agriculture Research Center J Internat*. 2010;1(4):263-8.
25. Uche FI, Aprioku JS. The phytochemical constituents, analgesic and anti-inflammatory effects of methanol extract of *Jatropha curcas* leaves in mice and Wister albino rats. *J Appl Sci Environ Manage*. 2008;12(4):99-102.
26. Dipankar Das G, Enamul H, Nahidul I, Shafiqur Rahman AKM, Mahbub H, Baigid Alam S. Alkaloid and steroid from the stem bark of *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). *J Pharm Sci* 2011;10(1):9-11.
27. Cortes D, Torrero MY, Pilar D'Ocon M, Luz Candenias M, Cavé A, Hadi AH. Norstephalagine and atherospermidine: two smooth muscle relaxant aporphines from *Artabotrys maingayi*. *J Nat Prod*. 1990;53(2):503-8.
28. Ivorra MD, Martinez F, Serrano A, D'Ocon P. Different mechanism of relaxation induced by aporphine alkaloids in rat uterus. *J Pharm Pharmacol*. 1993;45(5):439-43.
29. Tang H, Wei YB, Zhang C, Ning FX, Qiao W, Huang SL, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling of oxoisoaporphine and oxoaporphine derivatives as new dual inhibitors of acetylcholinesterase/butyrylcholinesterase. *Eur J Med Chem*. 2009;44(6):2523-32.

Recibido: 2 de julio de 2012.

Aprobado: 13 de agosto de 2012.

José María Carrasco Rueda. Cuadra 48 Faucett, Callao 069, Perú. Teléf.: 999828371. Sociedad Científica de Estudiantes de la Universidad de San Martín Porres (SOCIEM-USMP). Correos electrónicos: juannet_88@hotmail.com; alberto.salazar@gmail.com