



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**EFFECTO DE LOS EXTRACTOS DE *TERNSTROEMIA* PRINGLEI Y
TERNSTROEMIA SYLVATICA SOBRE TEJIDO LISO VASCULAR Y
PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS EN RATA WISTAR.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA
ALEJANDRO ALFARO ROMERO**

MÉXICO, D.F.

AÑO 2009





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Dr. Andrés Navarrete Castro
VOCAL: Profesor: Dr. José Fausto Rivero Cruz
SECRETARIO: Profesor: QFB. Araceli Mendieta Rergis
1er. SUPLENTE: Profesor: Dra. María Eva González Trujano
2° SUPLENTE: Profesor: M. en C. María Teresa Ramírez Apan

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 126 DEL
CONJUNTO E. DEPARTAMENTO DE FARMACIA, FACULTAD DE QUÍMICA,
UNAM.**

ASESOR DEL TEMA: DR. ANDRÉS NAVARRETE CASTRO

SUPERVISOR TÉCNICO: M. EN C. JOSÉ LUIS BALDERAS LÓPEZ

SUSTENTANTE (S): ALEJANDRO ALFARO ROMERO

AGRADECIMIENTOS

AL PROGRAMA DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN Y AL POSGRADO (PAIP) POR MEDIO DEL PROYECTO 6390-18, A LA DIRECCIÓN GENERAL DE ASUNTOS DEL PERSONAL ACADÉMICO (DGAPA) CON EL PROYECTO IN205008 Y AL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT 82613).

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| Introducción | 1 |
| I Planteamiento del Problema | 2 |
| II Marco Teórico | 4 |
| 1 Antecedentes sobre el género <i>Ternstroemia</i> | 4 |
| 1.1 Antecedentes botánicos y etnobotánicos | 4 |
| 2.1 Composición química | 4 |
| 2.2 Actividad biológica | 8 |
| III Hipótesis | 14 |
| IV Objetivos | 15 |
| V Materiales y Métodos | 16 |
| 5.1 Material Vegetal | 16 |
| 5.2 Preparación de los extractos de metanol | 16 |
| 5.3 Obtención de la decocción | 17 |
| 5.4 Animales | 17 |
| 5.5 Fármacos y sustancias | 17 |
| 5.6 Ensayo biológico | 18 |
| 5.6.1 Disección de la aorta y montaje de la preparación | 18 |
| 5.6.2 Estabilidad de la preparación | 19 |
| 5.6.3 Evaluación de los extractos de <i>T. pringlei</i> y <i>T. sylvatica</i> sobre el tejido liso vascular | 19 |
| 5.6.4 Inhibición de las contracciones inducidas por los extractos de <i>T. pringlei</i> y <i>T. sylvatica</i> con prazosina | 20 |

| | | |
|--------|---|----|
| 5.6.5 | Inhibición de las contracciones inducidas por los extractos de <i>T. pringlei</i> y <i>T. sylvatica</i> con ketanserina | 20 |
| 5.6.6 | Evaluación del efecto relajante los extractos de <i>T. pringlei</i> y <i>T. sylvatica</i> sobre el tejido liso vascular | 20 |
| 5.6.7 | Inhibición del efecto relajante de los extractos de <i>T. pringlei</i> y <i>T. sylvatica</i> con adición de L-NAME | 21 |
| 5.6.8 | Obtención de las muestras de sangre de rata y administración de los extractos de <i>T. pringlei</i> y <i>T. sylvatica</i> | 21 |
| 5.6.9 | Realización de frotis sanguíneo y tinción de Wright | 22 |
| 5.6.10 | Biometría hemática de las muestras sanguíneas | 22 |
| 5.6.11 | Tratamiento estadístico | 22 |
| VI | Resultados | 23 |
| 6.1.1 | Obtención de los extractos de <i>T. pringlei</i> y <i>T. sylvatica</i> | 23 |
| 6.1.2 | Estabilidad de la preparación | 23 |
| 6.1.3 | Evaluación de los extractos de <i>T. pringlei</i> y <i>T. sylvatica</i> sobre el tejido liso vascular | 24 |
| 6.1.4 | Inhibición de las contracciones inducidas por los extractos de <i>T. pringlei</i> y <i>T. sylvatica</i> con prazosina | 25 |
| 6.1.5 | Inhibición de las contracciones inducidas por los extractos de <i>T. pringlei</i> y <i>T. sylvatica</i> con ketanserina | 27 |
| 6.1.6 | Evaluación del efecto relajante los extractos de <i>T. pringlei</i> y <i>T. sylvatica</i> sobre el tejido liso vascular | 28 |
| 6.1.7 | Inhibición del efecto relajante de los extractos de <i>T. pringlei</i> y <i>T. sylvatica</i> con adición de L-NAME | 29 |

| | |
|---|----|
| 6.1.8 Tinción de células sanguíneas con colorante de Wright | 30 |
| 6.1.9 Biometría hemática de las muestras sanguíneas | 31 |
| VII Discusión | 44 |
| VIII Conclusiones | 50 |
| IX Perspectivas | 51 |
| X Bibliografía | 52 |

LISTA DE ABREVIATURAS

ANADEVA: Análisis de Varianza

ASS: Ácido acetilsalicílico

5-HT: 5-hidroxitriptamina

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

EX: Extracto

L-NAME: N ω -Nitro-L-Arginina MetilEster

KHS: Solución Krebs–Henseleit

NA: Noradrenalina

NO: Oxido Nítrico

SNC: Sistema Nervioso Central

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Sustancias aisladas de plantas del género *Ternstroemia*.

Cuadro 2. Actividades reportadas del género *Ternstroemia*.

Cuadro 3. Rendimiento de los extractos acuoso y metanólico de *T. pringlei* y de *T. sylvatica*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. *Ternstroemia pringlei*.

Figura 2. Distribución de *T. pringlei* en la zona del Bajío, México.

Figura 3. *Ternstroemia sylvatica* (Trompillo).

Figura 4. Distribución de *T. sylvatica* en la zona del Bajío, México.

Figura 5. Curva concentración de NA -respuesta contráctil en la evaluación de la estabilidad de la preparación. Vasoconstricción de la aorta con NA a tiempo 0 (•) y después de 60 minutos (o).

Figura 6. (1) Registro del polígrafo de la contracción de aorta de rata por la administración de extracto acuoso de *T. pringlei*. (2) Registro del polígrafo de la contracción de aorta de rata por la administración de extracto acuoso de pericarpio *T. sylvatica*.

Figura 7. (1) Registro de aorta incubada con prazosina y contraída con extracto acuoso de *T. pringlei* y (2) Registro de aorta incubada con prazosina y contraída con extracto acuoso de pericarpio de *T. sylvatica*

Figura 8. (1) Registro de aorta contraída con noradrenalina (NA); (2) Registro de aorta incubada con prazosina y adición de noradrenalina (NA) la cual no muestra contracción.

Figura 9. (1) Registro de aorta incubada con ketanserina y contraída con extracto acuoso de *T. pringlei* y (2) Registro de aorta incubada con ketanserina y contraída con extracto acuoso de pericarpio de *T. sylvatica*

Figura 10. (1) Registro de aorta contraída con serotonina (5-HT); (2) Registro de aorta incubada con ketanserina y adición de serotonina (5-HT) la cual no muestra contracción.

Figura 11. Registro de polígrafo, vasorrelajación de aorta al administrar diversas concentraciones de extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica*. (1)10 µg/mL (2)31.6 µg/mL (3)56.1 µg/mL (4)100 µg/mL (5)177 µg/mL (6)316 µg/mL.

Figura 12. (1) Registro de aorta de rata incubada con L-NAME, contraída con NA y tratada con extracto de *Ternstroemia* (2). Preparación de aorta contraída con NA y relajada con extracto de *Ternstroemia*.

Figura 13. Fotografía de sangre tenida con el colorante de Wright. (1) Control, (2) *T. pringlei* (100 µg/kg), (3) pericarpio *T. sylvatica* (100 µg/kg), (4) semilla *T. sylvatica* (100 µg/kg).

Figura 14. Número de eritrocitos con respecto al tiempo en el grupo control (n=5).

Figura 15. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. pringlei* sobre la cuenta de eritrocitos a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

Figura 16. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. sylvatica* sobre la cuenta de eritrocitos a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

Figura 17. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de semillas de *T. sylvatica* sobre la cuenta de eritrocitos a diferentes dosis. (n=5).

Figura 18. Curso temporal del porcentaje de hematocrito a diferentes dosis en el grupo control. (n=5).

Figura 19. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. pringlei* sobre el porcentaje de hematocito a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

Figura 20. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. sylvatica* sobre el porcentaje de hematocito a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

Figura 21. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de semillas de *T. sylvatica* sobre el porcentaje de hematocito a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

Figura 22. Curso temporal de la concentración de hemoglobina a diferentes dosis en el grupo control. (n=5).

Figura 23. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. pringlei* sobre la concentración de hemoglobina a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

Figura 24. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. sylvatica* sobre la concentración de hemoglobina a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

Figura 25. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de semillas de *T. sylvatica* sobre la concentración de hemoglobina a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

Figura 26. Curso temporal de la cantidad de plaquetas a diferentes dosis en el grupo control. (n=5).

Figura 27. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. pringlei* sobre la cantidad de plaquetas a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

Figura 28. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. sylvatica* sobre la cantidad de plaquetas a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

Figura 29. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de semillas de *T. pringlei* sobre la cantidad de plaquetas a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

Figura 30. Curso temporal de la cantidad de plaquetas en el grupo control tratado con ASS. (n=5).

Figura 31. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. pringlei* sobre la cantidad de plaquetas en un grupo pretratado con ASS. (n=5).

Figura 32. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. sylvatica* sobre la cantidad de plaquetas en un grupo pretratado con ASS. (n=5).

Figura 33. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de semillas de *T. sylvatica* sobre la cantidad de plaquetas de un grupo pretratado con ASS. (n=5). El valor de 90 minutos no se determino porque los animales murieron antes cumplirse el tiempo.

INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Ternstroemia*, son denominadas comúnmente como Flor de Tila, son utilizadas en la Medicina Tradicional para controlar desordenes del Sistema Nervioso como la ansiedad y el insomnio. Las especies más empleadas como flor de Tila son *T. sylvatica* y *T. pringlei*.

En nuestro país se recomienda *T. sylvatica* y *T. pringlei* por la comunidad en general para trastornos de ansiedad y el insomnio, sin embargo, los datos experimentales demuestran que *T. sylvatica* tiene un efecto sedante y no ansiolítico en ratas (Molina *et al.*, 1999); mientras que *T. pringlei* produce efectos sedante y anticonvulsivante en ratas (Aguilar-Santamaría *et al.*, 1996).

En el presente trabajo se estudiarán los efectos de ambas especies sobre el tejido liso vascular mediante un estudio *in vitro*, con el objetivo de observar el efecto de la administración de los extractos y así elucidar en lo posible el mecanismo de acción. Posteriormente se administrará los extractos en un sistema vivo (ratas) para observar las alteraciones sobre los parámetros hematológicos más importantes.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los frutos secos de la Flor de Tila son utilizados en decocciones las cuales tienen la finalidad de aliviar la ansiedad y el insomnio. En estudios realizados por Molina et al (1999) y por Aguilar-Santamaría y Tortoriello (1996) se encontraron evidencias experimentales de que *T. sylvatica* y *T. pringlei* tienen efecto sedante en ratas, y esta última además un efecto anticonvulsivante.

Por los estudios químicos de especies del género *Ternstroemia* se sabe que son ricos en saponinas (Shin et al., 2003), sustancias que tienen efecto hemolítico (Assa et al, 1973).

Sin embargo no se menciona el mecanismo de acción por el cual estas especies del género *Ternstroemia* ejercen estos efectos sedantes sobre el Sistema Nervioso Central (SNC).

De la misma manera es conocido que algunas plantas que tienen efecto sobre el SNC también tienen efecto hipotensor (Wang y Ng, 1999).

Esto motivó a plantear la presente investigación con dos de las especies de tila más utilizadas: *Ternstroemia pringlei* y *Ternstroemia sylvatica* en cuanto a evaluar su efecto sobre el músculo liso vascular y sobre parámetros hematológicos.

II. MARCO TEÓRICO

1. Antecedentes sobre el género *Ternstroemia*

1.1 Antecedentes botánicos y etnobotánicos

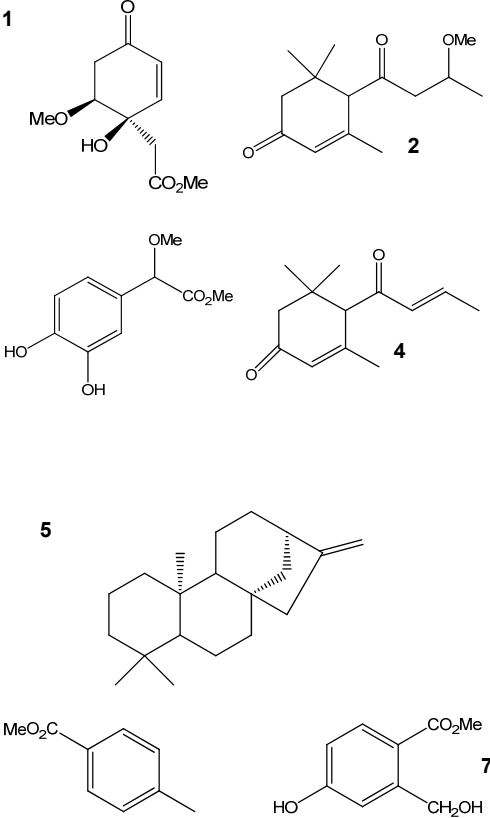
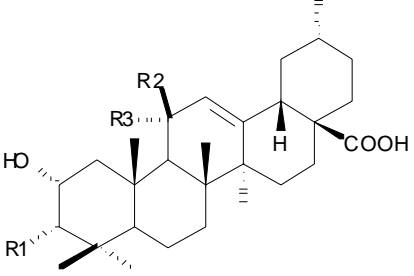
Las especies de *Ternstroemiaceae* son árboles o arbustos perennifolios; hojas alternas, dispuestas en espiral; flores axilares, solitarias o fasciculadas, pétalos generalmente 5, libres o más o menos unidos en la base; estambres numerosos, anteras lineares; fruto indehiscente, abayado, coriáceo, globoso u ovoide a cónico; semillas pocas, con el embrión por lo común encorvado, la testa, de al menos algunas especies, cubierta de papilas carnosas alargadas en forma de pelos (Carranza, 1999).

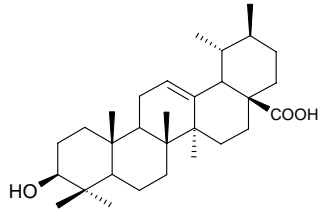
Se conocen alrededor de 130 especies ampliamente distribuidas en el mundo principalmente en las regiones tropicales y subtropicales de ambos hemisferios. A algunas de estas especies se les denomina “tila” en México y las plantas se usan como calmantes nerviosos (Carranza, 1999).

2.1 Composición Química

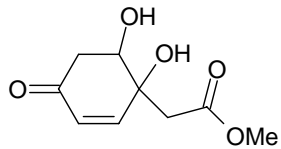
Se han realizado pocos estudios sobre el género *Ternstroemia* por lo que sólo se conocen algunos metabolitos secundarios, estos se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Sustancias aisladas de plantas del género *Ternstroemia*.

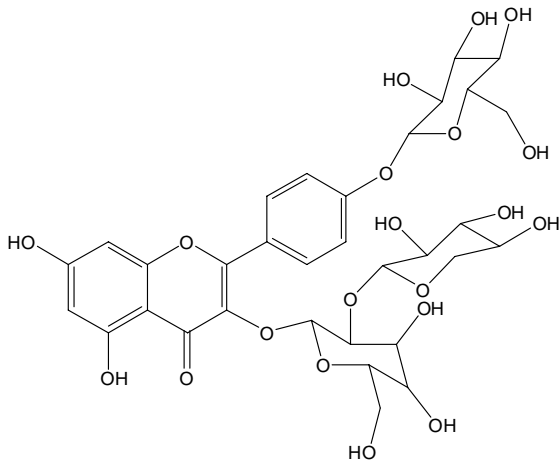
| Estructura | Parte Estudiada | Referencia |
|---|--|-------------------------------------|
|  <p>1,2,4,5: Terpenoides 3,6,7: Compuestos aromáticos</p> | <p>Tallos y hojas</p> | <p>Tori <i>et al</i> (2005)</p> |
|  | <p>Extracto metanólico de frutos</p> | <p>Shin <i>et al</i> (2003)</p> |
| <p>8: Ácido 3-epi-ternstroemico 9: Ácido Ternstroemico 10: Ácido gimnanterárico</p> | <p>:R₁:α OH, R₂-R₃:C=O R₁:β OH, R₂-R₃:C=O R₁:α OH, R₂:H, R₃:C=O</p> | |



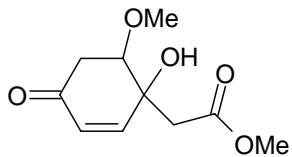
11: Ácido ursólico



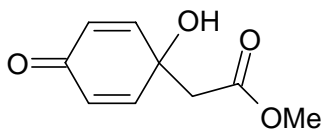
12: 3-hidroxi-2,3-dihidrojacarona



**13: 3-O-β-D-Xilopiranosil(1→2)-β-D-glucopiranosil
kaempferol 4'-O-β-D-glucopiranosido**



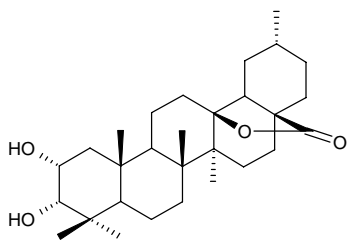
14: 3-metoxi-2,3-dihidrojacarona



15: Jacaranona

Extracto metanólico de
frutos

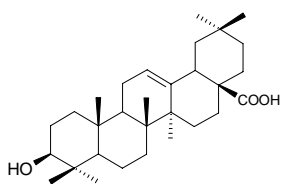
Jo *et al*
(2005)



16: Lactona del ácido 3-*epi*-corosólico

Extracto MeOH de
cultivos de callos

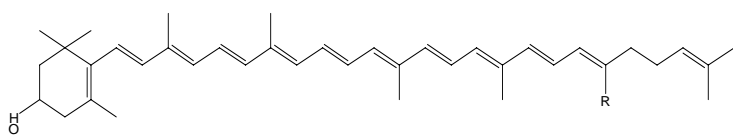
Ikuta *et al*
(2003)



17: Ácido oleanólico

Extracto MeOH de
semillas

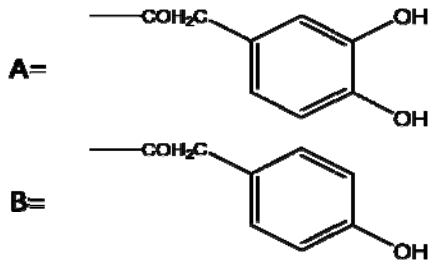
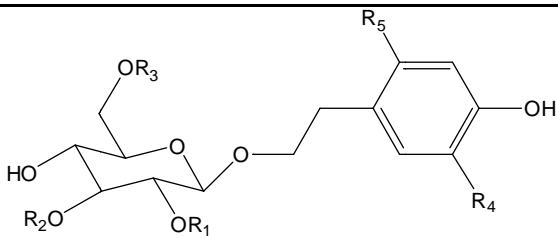
Yoshioca *et al*
(1972)



18: Ternstroemiaxantina

Extracto acetónico

Kikuchi y
Yamaguchi
(1974)



Hojas frescas

Jo *et al*
(2005)

| | R ₁ | R ₂ | R ₃ | R ₄ | R ₅ |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 1 | A | H | H | OH | H |
| 2 | B | H | H | OH | H |
| 3 | H | A | H | OH | H |
| 4 | H | H | A | OH | H |
| 5 | A | H | H | H | H |
| 6 | A | H | H | OH | OH |

19: Ternstroenosidos

2.2 Actividad biológica

Se han encontrado en el género *Ternstroemia* varias actividades farmacológicas, las cuales se mencionan en el cuadro 2. Cabe mencionar que todas las pruebas fueron en animales íntegros o en sistemas *in vitro*.

Cuadro 2. Actividades reportadas del género *Ternstroemia*.

| Actividad farmacológica | Especie | Parte responsable de la actividad | Referencia |
|---|-----------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| Anticonvulsivante | <i>T. pringlei</i> | Extracto | Aguilar- |
| Inhibición de la contracción en íleon de cobayo | | metanólico de flores | Santamaría y Tortoriello (1996) |
| Sedante | <i>T. sylvatica</i> | Extracto acuoso de flores | Molina <i>et al</i> (1999) |
| Antirretroviral (contra VIH) | <i>T. gymnanthera</i> | Ácido oleanólico | Tori <i>et al</i> (2005) |
| Adhesivas | | Taninos | Luo <i>et al</i> (1994) |
| Astringente | | | Chen y Yu (1989) |
| Antioxidante | <i>T. japonica</i> | Jacaranona y derivados | Jo <i>et al</i> (2005) |
| Antitermitica | | Saponinas | Saeki <i>et al</i> (1968) |
| Citotóxica | <i>T. gitingensis</i> | Extracto metanólico de raíces | Horgen <i>et al</i> (2001) |

De las especies que se nombran indiferentemente como “Tila” o “Flor de Tila” Las especies *Ternstroemia pringlei* y *Ternstroemia sylvatica* son las especies más utilizadas en la medicina tradicional y son las que se encuentran distribuidas en más regiones de México.

A. *Ternstroemia pringlei*

Ternstroemia pringlei (Figura 1) arbusto o árbol de 1.5 a 15 metros de alto, flores blancas y fruto duro de color café parecido a una flor, flores axilares, solitarias situadas en la base del cáliz, pétalos blancos (Rzedowsk y Rzedowsk, 1985).

Florece de febrero a mayo y se observa con frutos de mayo a diciembre.



Figura 1. *Ternstroemia pringlei*.

Planta común en el norte de Michoacán, en bosques mesófilos de montaña, así como en encinares y pinares húmedos a una altura de 2000-2800 metros sobre el nivel del mar.

Se distribuye principalmente en la Sierra Madre Occidental, el Eje Neovolcánico y la Sierra Madre del Sur (Semarnat, 2006). (Figura 2)

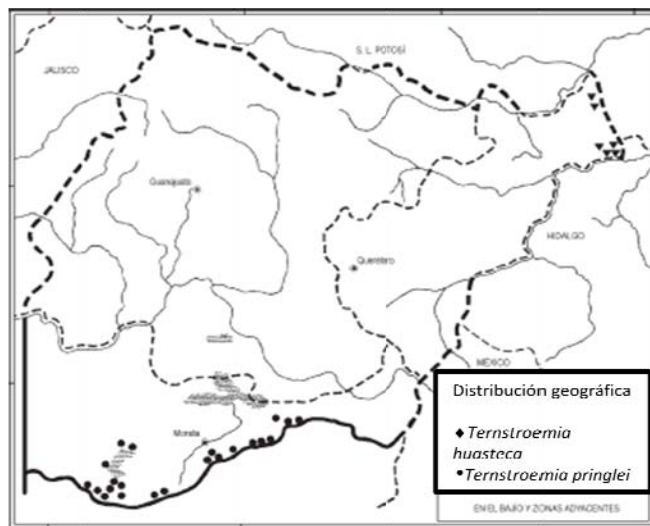


Figura 2. Distribución de *T. pringlei* en la zona del Bajío, México.

B. *Ternstroemia Sylvatica*

T. sylvatica (Figura 3) es un árbol de 5 metros de altura aproximadamente. Sus hojas son ovaladas, un poco gruesas, son más claras de atrás que del frente, son pequeñas.

Sus flores cuando están en botón son de color blanco, redondos, cuando abren los pétalos son rosados y blandos, luego se ponen duros y de color rojo y queda en el centro un botoncito amarillo. Los frutos son como bellotas de encino, de color amarillo.



Figura 3. *Ternstroemia sylvatica* (Trompillo).

Planta muy común en las zonas boscosas del noreste de la zona del bajío, en pinares, encinares, bosques de Ciprés y mesófilos de montaña de altura de 1200-2700 m. Florece entre agosto y febrero y se observa con fruto de abril a octubre. (Semarnat, 2006).

Se distribuye principalmente hacia la vertiente del Golfo de México, sobre la Sierra Madre Oriental en los estados de Tamaulipas, San Luis Potosí, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, D.F., Puebla y Oaxaca (Semarnat, 2006). (Figura 4)

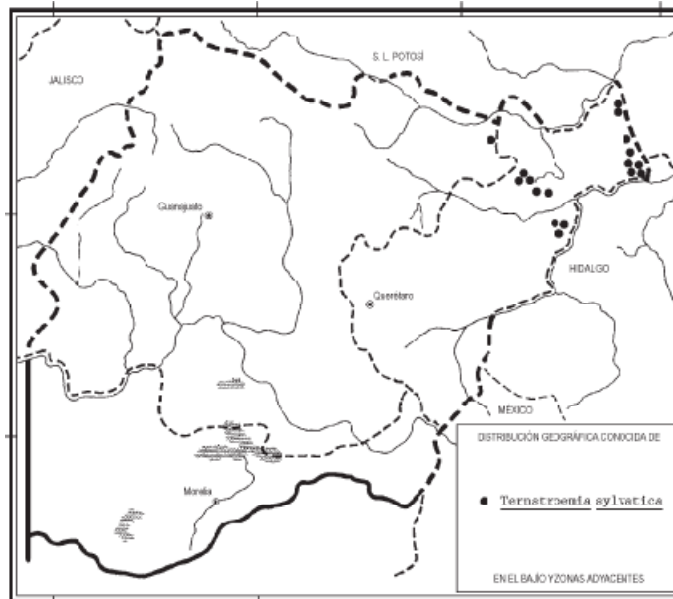


Figura 4. Distribución de *T. sylvatica* en la zona del Bajío, México.

III. HIPÓTESIS

Se espera encontrar un efecto relajante de la musculatura lisa vascular provocado por los extractos de *T. sylvatica* y *T. pringlei*, como uno de los efectos relacionados con su efecto tranquilizante sobre el SNC.

Dado que en el género *Ternstroemia* se ha descrito la presencia de saponinas, se espera encontrar un efecto hemolítico por la administración *in vivo* de los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica* como una de las alteraciones hematológicas.

IV. OBJETIVOS

Realizar la evaluación del efecto vasorrelajante de los extractos acuosos y metanólicos de *Ternstroemia pringlei* y de *Ternstroemia sylvatica* utilizando el modelo *in vitro* de la aorta de rata.

Evaluar el efecto sobre los parámetros hematológicos de los extractos acuosos y metanólicos de *Ternstroemia pringlei* y de *Ternstroemia sylvatica* en ratas Wistar.

V. METODOLOGÍA

5.1 Material Vegetal

Los frutos de *T. pringlei* fueron recolectadas en el Rancho García en Zirahuato en el Estado de Michoacán el 27 de marzo de 2004, una muestra de referencia se depositó en el Herbario del Centro Médico Siglo XXI con el número IMSSN117 y *T. sylvatica* en la Sierra Norte de Puebla; los ejemplares de esta especie fueron depositados en el Herbario de la FES Iztacala, UNAM (IZTA42169).

Los frutos secos fueron utilizados para la preparación de los extractos de metanol y también para la obtención de la decocción. El fruto de *T. sylvatica* se separo en semillas y pericarpio, para luego ser triturado el pericarpio y la semilla de forma independiente, y de esta manera preparar los extractos de cada uno. En el caso del fruto de *T. pringlei* se trituro completo antes de ser usado en la preparación del extracto de metanol y de la decocción.

5.2 Preparación de los extractos de metanol

El fruto de *T. pringlei* (443.0 g) así como el pericarpio de *T. sylvatica* (374.0 g) fueron macerados en forma consecutiva con hexano (2 L), diclorometano (2L) y metanol (2L) a temperatura ambiente por períodos de 24 horas y por triplicado. Se eliminó el disolvente a presión reducida

en un evaporador rotatorio, obteniéndose los extractos respectivos:
152.7 g de extracto hexánico, 50.17 g de extracto de diclorometano y
3.80 g de extracto metanólico.

5.3 Obtención de la decocción

Diez gramos de material vegetal seco y molido se extrajeron con 100 mL de agua destilada por ebullición durante 10 minutos. La decocción se filtró y se secó a temperatura ambiente con una corriente de aire obteniéndose 1.42 g de extracto.

5.4 Animales

En todos los experimentos se emplearon ratas Wistar machos con peso corporal entre 250 – 300 g mantenidos en condiciones normales de alojamiento para esta especie con libre acceso al alimento y al agua. Los animales se trataron siguiendo los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

5.5 Fármacos y sustancias

El bitrato de (-)-noradrenalina, clorhidrato de carbacol, cloruro de acetilcolina, serotonina, tartrato de ketanserina, clorhidrato de prazosina, ácido acetilsalicílico, clorhidrato de L-NAME y nitroprusiato de sodio

dihidratado. Se adquirieron en Sigma Aldrich Co. (St. Louis MO, USA). Las soluciones se prepararon en el momento de su utilización. El éter etílico se obtuvo de J.T. Baker, S.A. de C.V. (Xalostoc, Estado de México, México).

5.6 Ensayo biológico

5.6.1 Disección de la aorta y montaje de la preparación

Los animales se sacrificaron en una cámara de CO₂. Posteriormente se diseccionó la aorta, se retiró el tejido conjuntivo y la grasa. La aorta se cortó en 8 anillos de 2-3 mm de largo aproximadamente; cada preparación se suspendió en una cámara para órgano aislado con ganchos de nicromel. Cada cámara contenía 10 mL de solución Krebs–Henseleit (KHS) a 37±1°C con burbujeo constante de gas carbógeno (5% CO₂/95% O₂).

La preparación se fijó en uno de sus extremos con un gancho de nicromel a la cámara y con otro gancho se unió a un transductor de fuerza (Grass FT 03E) conectado a un polígrafo BIOPAC System Inc. Provisto del software Acqknowledge MP versión 3.8 para el procesamiento de datos.

Una vez colocada la preparación se aplicó una tensión inicial de 4 g dejando un período de estabilización de 30 minutos. Se aplicó un lavado

con solución KHS a los 15 minutos. Al término de este tiempo se estimuló el tejido con noradrenalina 10^{-6} M, a intervalos de 30 minutos. Después de cada estimulación los tejidos fueron lavados con KHS.

Para evaluar la integridad del endotelio, al estimular con noradrenalina se dejó alcanzar la meseta de contracción y se agregó carbacol o acetilcolina a una concentración de 10^{-6} M. La respuesta vasorrelajante indicó la integridad del endotelio.

5.6.2 Estabilidad de la preparación

Para demostrar la estabilidad de la preparación en el tiempo en el que se efectuaron los experimentos, se realizaron dos curvas acumulativas dosis-respuesta con noradrenalina (10^{-10} M – 10^{-5} M) (Figura 5), con un espacio de 60 minutos entre cada curva, aplicando lavados con KHS cada 15 minutos durante este intervalo de tiempo.

5.6.3 Evaluación de los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica* sobre el tejido liso vascular

Se evaluó el efecto de los extractos de ambas especies en concentraciones crecientes de 10 – 316 $\mu\text{g/mL}$.

5.6.4 Inhibición de las contracciones inducidas por los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica* con prazosina.

La preparación se incubó con prazosina 10^{-6} M durante 10 minutos para posteriormente adicionar el extracto en concentraciones crecientes de 10 – 316 $\mu\text{g/mL}$. Como testigo se utilizó noradrenalina.

5.6.5 Inhibición de las contracciones inducidas por los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica* con ketanserina.

La preparación se incubó con ketanserina 10^{-6} M durante 10 minutos para posteriormente adicionar el extracto en concentraciones crecientes de 10 – 316 $\mu\text{g/mL}$. Como testigo se utilizó serotonina.

5.6.6 Evaluación del efecto relajante los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica* sobre el tejido liso vascular

Las preparaciones se contrajeron con noradrenalina (10^{-6} M) hasta alcanzar la meseta de contracción, entonces se inició la adición los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica* a las concentraciones de 10, 31.6, 52.6, 100, 177 y 316 $\mu\text{g/mL}$.

Al mismo tiempo se utilizó una preparación con carbacol (10^{-10} a 10^{-5} M) como testigo durante el experimento.

5.6.7 Inhibición del efecto relajante de los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica* con L-NAME.

La preparación se incubó con L-NAME por 15 minutos, posteriormente se contrajo con noradrenalina (10^{-6} M) hasta alcanzar la meseta de contracción. Se adicionaron los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica*, en concentraciones crecientes de 10, 31.6, 52.6, 100, 177 y 316 $\mu\text{g/mL}$. Como testigo se utilizó Carbacol (10^{-10} a 10^{-5} M). Para verificar que el tejido conservaba sus propiedades relajantes al final del experimento se agregó nitroprusiato de sodio (10^{-5} M) y al llegar al estado basal se realizaron lavados con KHS.

5.6.8 Obtención de las muestras de sangre de rata y administración de los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica*.

Los animales fueron anestesiados con éter etílico para la toma de muestras sanguíneas (250-300 μL) por punción cardiaca y en seguida se les administraron los extracto por vía intraperitoneal (IP) en un volumen de 0.1ml/100g de peso. La sangre fue colocada en tubos microtainer de una capacidad de 500 μL conteniendo EDTA como anticoagulante. Después de la administración de los tratamientos se tomaron muestras sanguíneas a los 30, 60 y 90 minutos. Un grupo fue

tratado con ASS (100 mg/kg) 30 minutos antes de la administración de los extractos.

5.6.9 Realización de frotis sanguíneo y tinción de Wright

Una gota de sangre se colocó sobre un porta objeto y con otro portaobjeto en un ángulo de 45° se extendió la sangre. En seguida se fijaron con metanol absoluto durante 2 minutos, se adicionó el colorante de Wright, se dejó por 5 minutos y se enjuago con agua destilada hasta eliminar el exceso de agua. Las preparaciones se observaron en el microscopio a 100 aumentos.

5.6.10 Biometría hemática de las muestras sanguíneas

Las muestras fueron analizadas por un analizador automático de la marca SYSMEX modelo XS-1000. Para determinar número de plaquetas, eritrocitos, concentración de hemoglobina y porcentaje de hematocrito.

5.6.11 Tratamiento estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron por una ANADEVVA de una, dos y tres vías dependiendo del diseño de los experimentos.

VI. RESULTADOS

6.1.1 Obtención de los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica*.

Los rendimientos de los extractos obtenidos se muestran en el Cuadro 3, el porcentaje es respecto al peso seco de la planta.

Cuadro 3. Rendimiento de los extractos acuoso y metanólico de *T. pringlei* y de *T. sylvatica*

| Especie | Parte usada | Extracto | Rendimiento (%) |
|---------------------|----------------|------------|-----------------|
| <i>T. pringlei</i> | Fruto completo | Acuoso | 34.46 |
| | | Metanólico | 15.38 |
| <i>T. sylvatica</i> | Pericarpio | Acuoso | 13.41 |
| | | Metanólico | 13.99 |
| | semillas | Acuoso | 14.32 |

6.1.2 Estabilidad de la preparación

Para evaluar la estabilidad de la preparación se realizaron dos curvas concentración-respuesta, con una diferencia de tiempo de 60 minutos. Las curvas fueron reproducibles en las condiciones experimentales evaluadas, por lo cual la preparación conserva su integridad durante el periodo de experimentación (Figura 5)

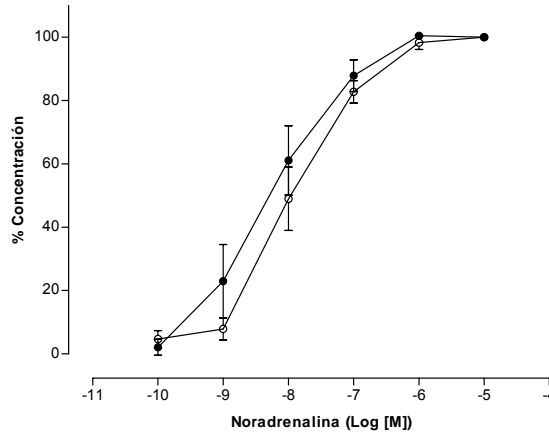


Figura 5. Curva concentración de NA -respuesta contráctil en la evaluación de la estabilidad de la preparación. Vasoconstricción de la aorta con NA a tiempo 0 (•) y después de 60 minutos (o).

6.1.3 Evaluación de los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica* sobre el tejido liso vascular

Los extractos del fruto de *T. pringlei* y del pericarpio de *T. sylvatica* tanto acuosos como metanólico al adicionarse directamente en la preparación no mostraron actividad consistente. Sin embargo se observó que al dejarse la preparación en contacto con estos extractos por periodos aproximados de 15 minutos, se observó una contracción (Figura 6) Dicha contracción no es dependiente de la dosis ya que a todas las concentraciones utilizadas se observaba la misma contracción.

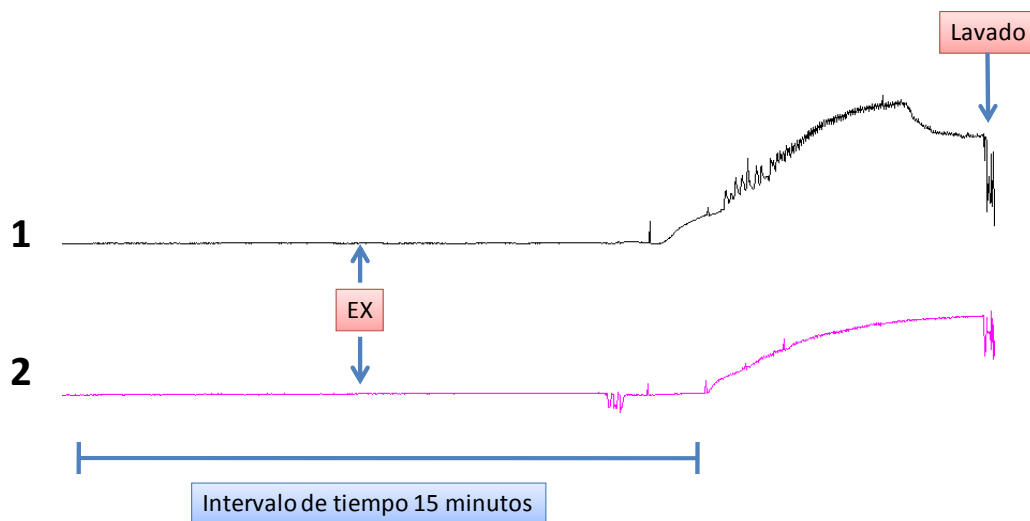


Figura 6. Registro del polígrafo de la contracción de aorta de rata por la administración de extracto acuoso de *T. pringlei* (1) y de extracto acuoso de pericarpio *T. sylvatica* (2)

El extracto de semilla no mostro actividad al administrarse ni después de transcurrido el tiempo como en el caso de los otros extractos.

6.1.4 Inhibición de las contracciones inducidas por los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica* con prazosina.

El efecto contráctil de los extractos acuosos y metanólicos del fruto de *T. pringlei* y el pericarpio de *T. sylvatica*, no fueron inhibidas por prazosina (Figura 7). En cambio el efecto contráctil de noradrenalina fue inhibido con la misma concentración de prazosina (Figura 8)

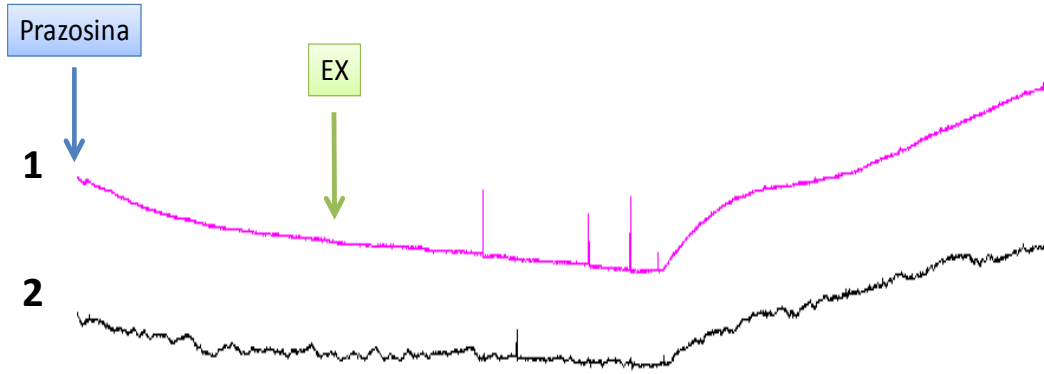


Figura 7. Registro de la contracción de aorta de rata por la administración de extracto acuoso de *T. pringlei* (1) y de extracto acuoso del pericarpio de *T. sylvatica* (2) en presencia de prazosina.

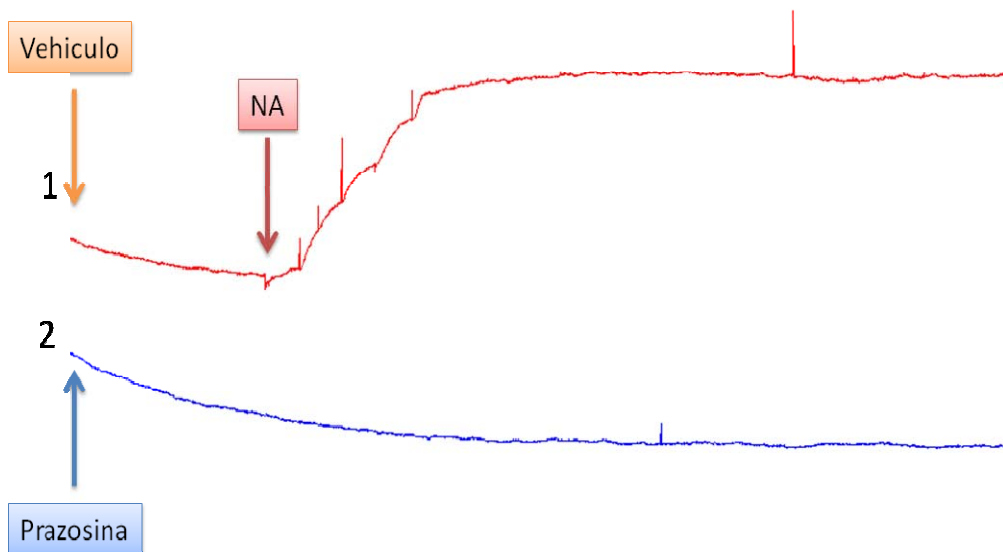


Figura 8. Registro de la contracción de aorta de rata con noradrenalina (NA) en ausencia (1) y presencia (2) de prazosina.

6.1.5 Inhibición de las contracciones inducidas por los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica* con ketanserina.

De igual manera sólo se utilizaron extractos acuosos y metanólicos del fruto de de *T. pringlei* y el pericarpio de *T. sylvatica*. Se utilizó en esta ocasión serotonina como testigo.

El experimento reveló que las contracciones inducidas por los extracto tampoco se inhiben con ketanserina (Figura 9), por lo que el efecto no es por activación de receptores 5-HT₂. En tanto que la curva dosis-respuesta de serotonina fue inhibida por la ketanserina (Figura 10).

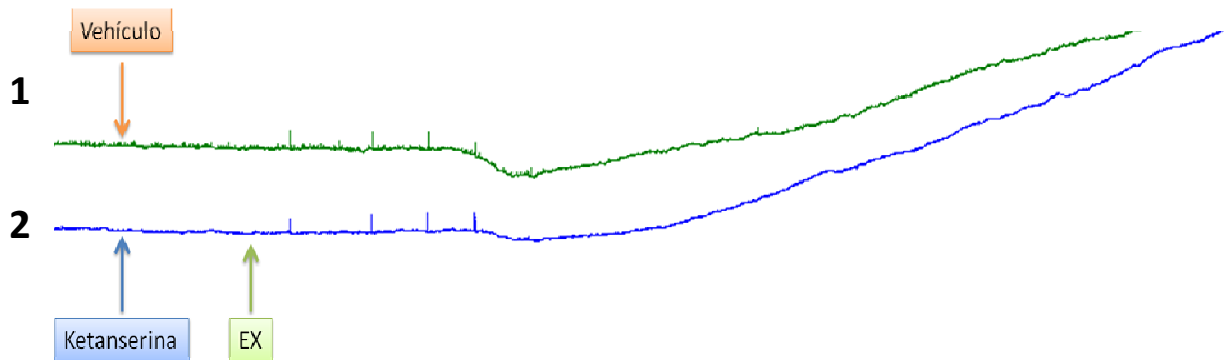


Figura 9. Registro de aorta contraída con extracto acuoso de *T. pringlei* en ausencia (1) y en presencia de ketanserina (2).

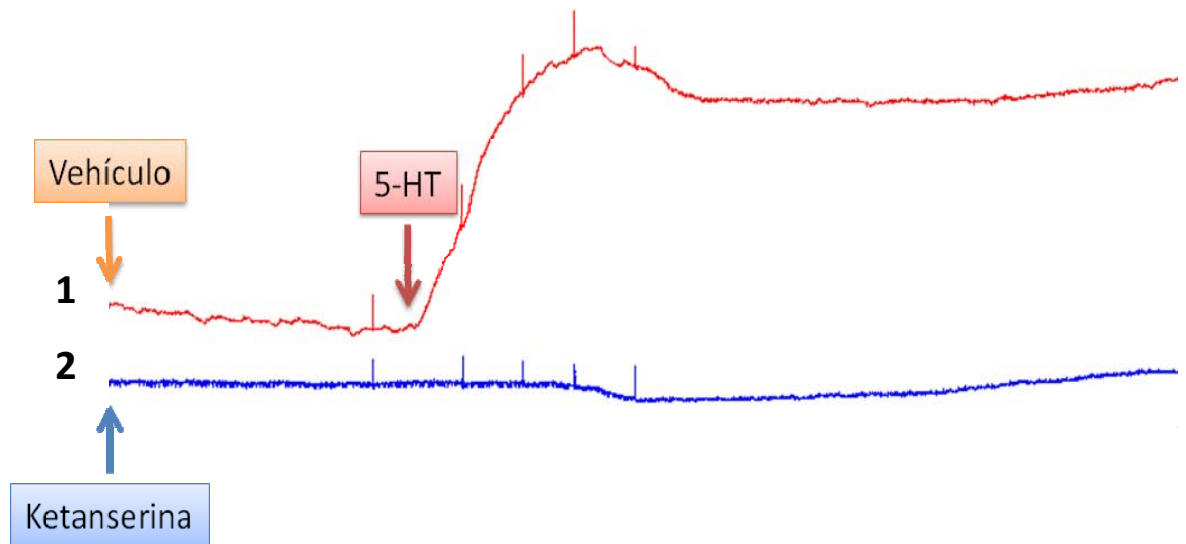


Figura 10. Registro de la contracción de aorta de rata con serotonina (5-HT) en ausencia (1) y presencia (2) de prazosina.

6.1.6 Evaluación del efecto relajante los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica* sobre el tejido liso vascular

Los extractos acuosos y metanólicos del fruto de *T. pringlei* y del pericarpio de *T. sylvatica*, mostraron un efecto vasorrelajante sobre las contracciones inducidas por noradrenalina. En el caso del extracto acuoso de semilla no se observó este efecto.

La relajación no fue dependiente de la dosis. Al parecer los extractos causan un daño irreversible a la preparación la cual pierde tono y toma una coloración anaranjada.

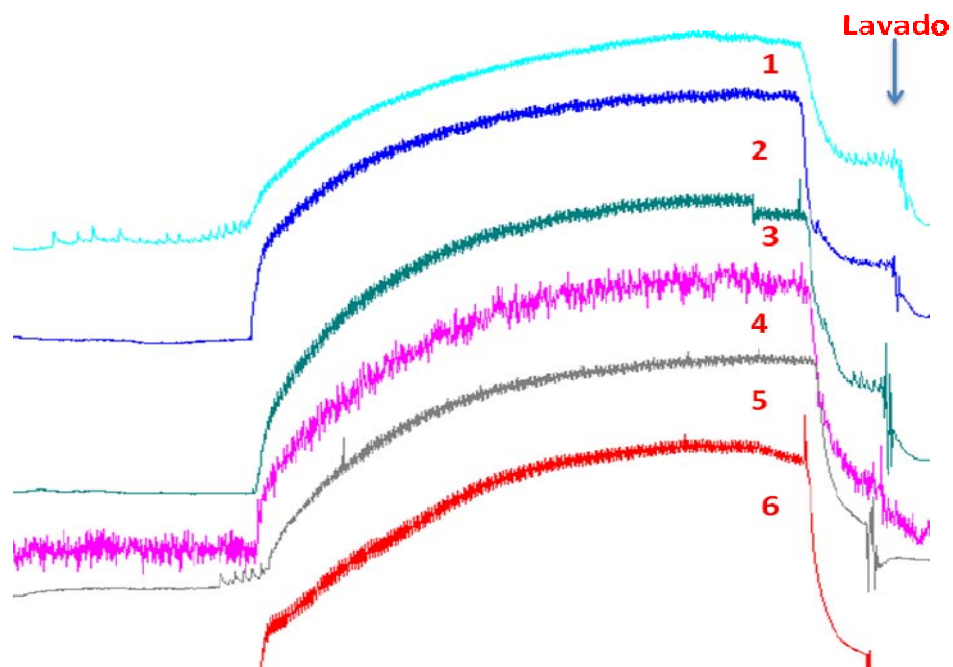


Figura 11. Registro de polígrafo, vasorrelajación de aorta al administrar diversas concentraciones de extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica*. (1)10 µg/mL (2)31.6 µg/mL (3)56.1 µg/mL (4)100 µg/mL (5)177 µg/mL (6)316 µg/mL.

6.1.7 Inhibición del efecto relajante de los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica* con adición de L-NAME.

El efecto relajante de los extractos acuosos y metanólicos del fruto de *T. pringlei* y del pericarpio de *T. sylvatica* fue inhibido en su totalidad por la incubación previa de L-NAME (Figura 12).

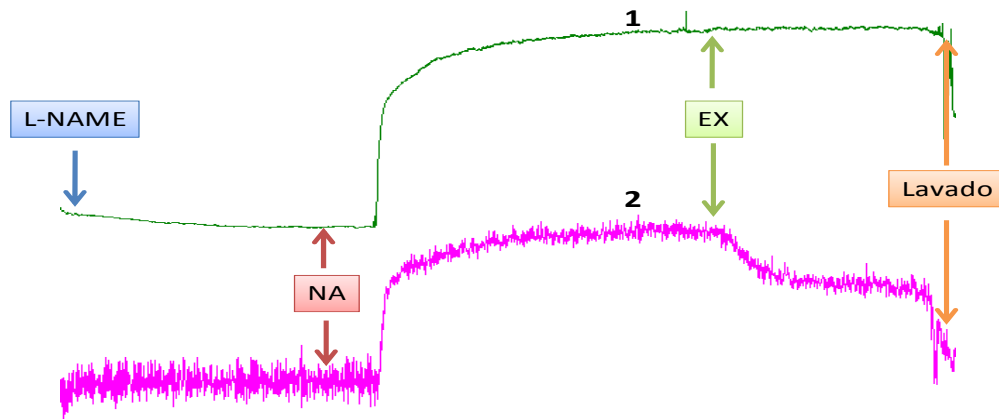


Figura 12. Registro de aorta de rata contraída con NA y tratada con extracto de *Ternstroemia* en presencia de (1) y en ausencia (2) de L-NAME.

El extracto acuoso de *T. sylvatica* al parecer destruye el tejido y no sólo al endotelio, ya que más que la ausencia de efecto se aprecia un deterioro del tejido pues ya no responde a los agentes contráctiles o relajantes.

6.1.8 Tinción de células sanguíneas con colorante de Wright

Las tinciones no mostraron diferencias visuales entre la sangre de los controles y la sangre obtenida de los animales tratados con los extractos acuosos del fruto de *T. pringlei*, el pericarpio y semilla de *T. sylvatica*. Como se puede apreciar en la figura 13 los eritrocitos están íntegros.

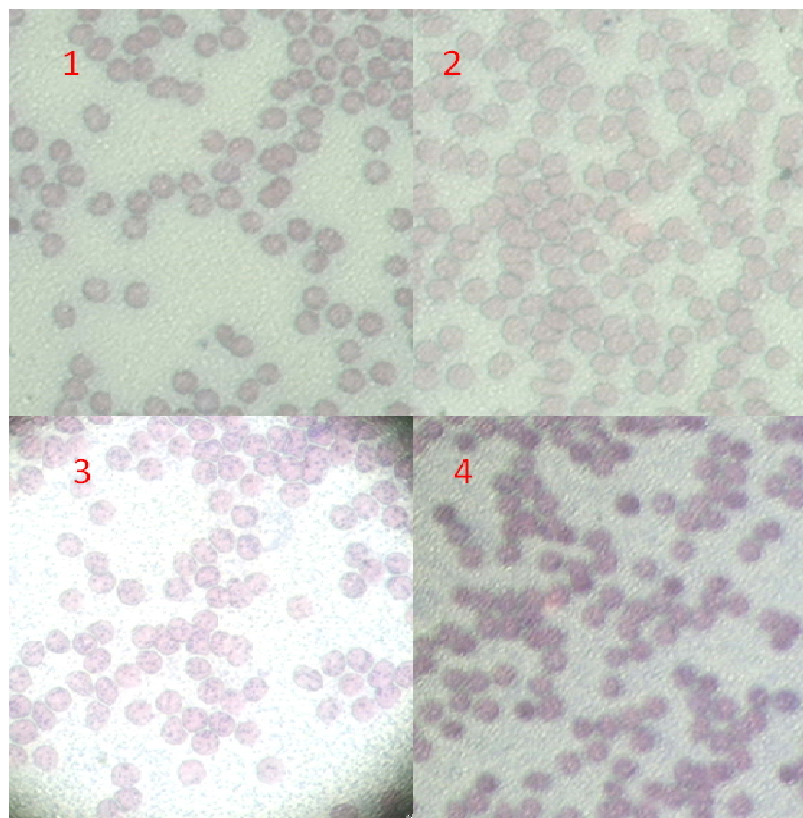


Figura 13. Fotografía de sangre tenida con el colorante de Wright. (1) Control, (2) *T. pringlei* (100 µg/kg), (3) pericarpio *T. sylvatica* (100 µg/kg), (4) semilla *T. sylvatica* (100 µg/kg).

6.1.9 Biometría hemática de las muestras sanguíneas

A. Eritrocitos

El número de eritrocitos no se alteró ($p > 0.05$) con respecto al tiempo en el grupo control (Figura 14). Sin embargo, el tratamiento con *T. pringlei* (Figura 15) y *T. sylvatica* pericarpio (Figura 16) provocó una disminución significativa ($p < 0.05$) en el número de eritrocitos independientemente de la dosis y del tiempo posterior a su administración.

Para el caso del tratamiento con semillas de *T. sylvatica* no se observó una disminución significativa ($p < 0.05$) en el número de eritrocitos para las dosis empleadas (Figura 17).

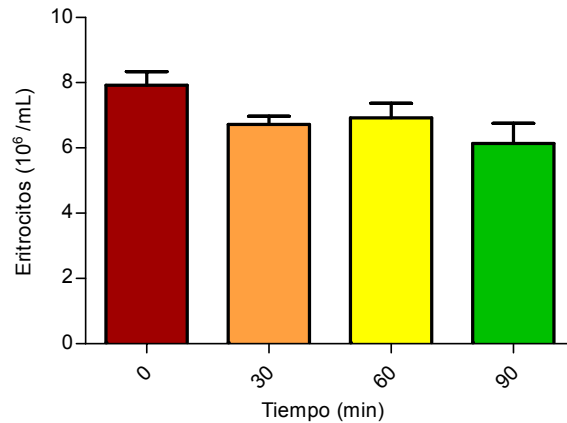


Figura 14. Número de eritrocitos con respecto al tiempo en el grupo control (n=5).

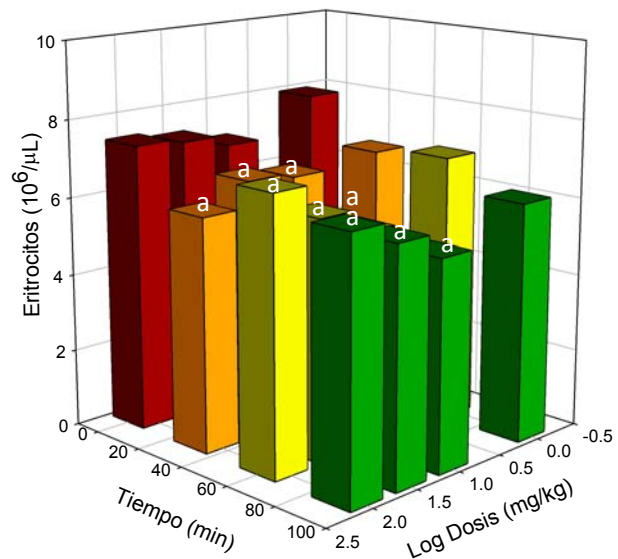


Figura 15. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. pringlei* sobre la cuenta de eritrocitos a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

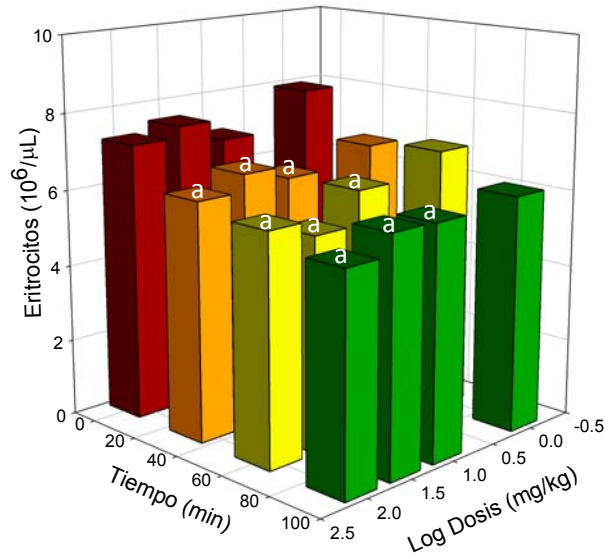


Figura 16. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. sylvatica* sobre la cuenta de eritrocitos a diferentes dosis. (n=5).
(a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

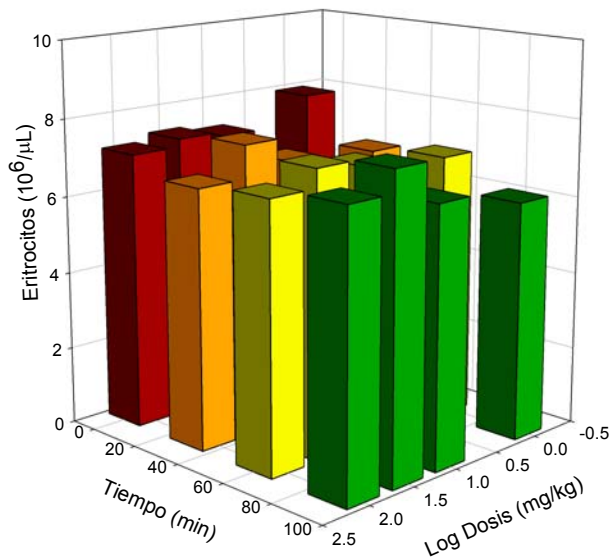


Figura 17. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de semillas de *T. sylvatica* sobre la cuenta de eritrocitos a diferentes dosis. (n=5).

B. Hematocrito

El porcentaje de hematocrito no se alteró ($p>0.05$) con respecto al tiempo en el grupo control (Figura 18). Sin embargo, el tratamiento con *T. pringlei* (Figura 19) y *T. sylvatica* pericarpio (Figura 20) provocó una disminución significativa ($p<0.05$) en el porcentaje de eritrocitos independientemente de la dosis y del tiempo posterior a su administración.

Para el caso de la semilla de *T. sylvatica* (Figura 21) esta mostro una disminución ($p<0.05$) en el hematocrito a las dosis de 10 y 100 mg/kg independiente del tiempo posterior a su administración.

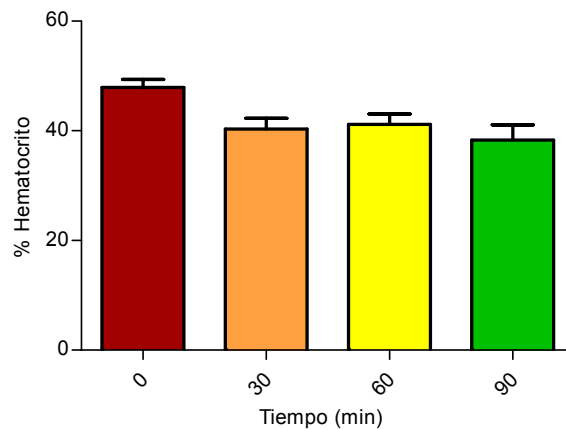


Figura 18. Curso temporal del porcentaje de hematocrito a diferentes dosis en el grupo control. (n=5).

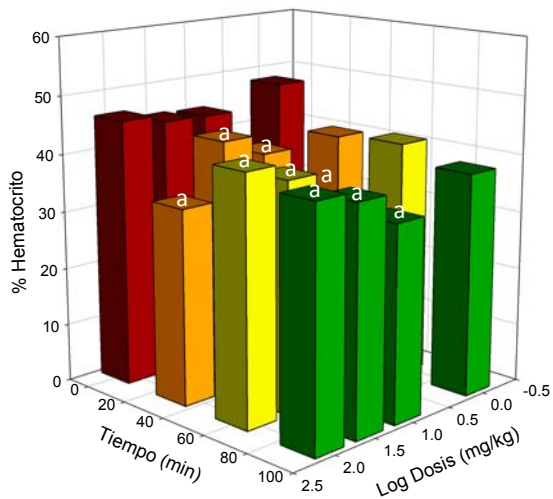


Figura 19. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. pringlei* sobre el porcentaje de hematocito a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

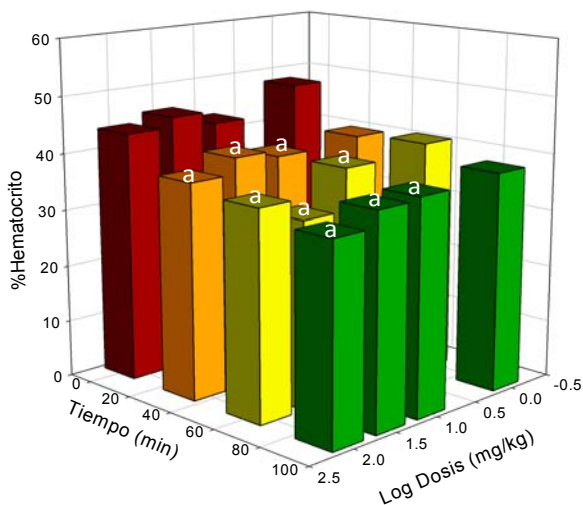


Figura 20. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. sylvatica* sobre el porcentaje de hematocito a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

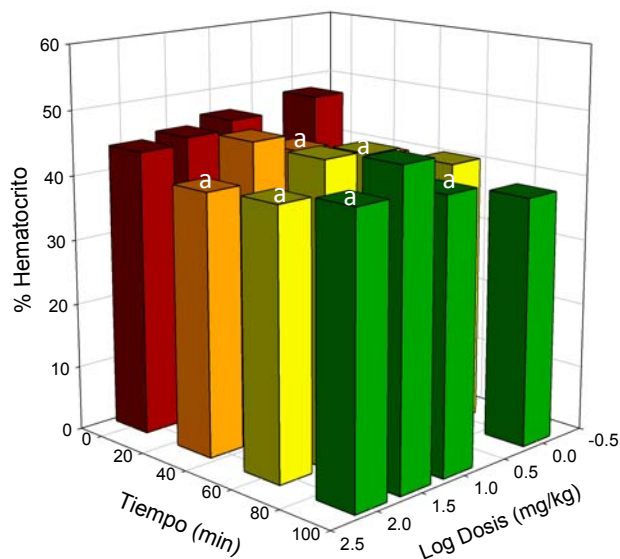


Figura 21. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de semillas de *T. sylvatica* sobre el porcentaje de hematocrito a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

C. Hemoglobina

La concentración de hemoglobina no se alteró ($p > 0.05$) con respecto al tiempo en el grupo control (Figura 22). Sin embargo, el tratamiento con *T. pringlei* (Figura 23) y *T. sylvatica* pericarpio (Figura 23) provocó una disminución significativa ($p < 0.05$) en la concentración de hemoglobina independientemente de la dosis y del tiempo posterior a su administración. Para el caso del tratamiento con semillas de *T. sylvatica* se observó la disminución significativa de la concentración de hemoglobina para la dosis de 10 y 100 mg/kg ($p < 0.05$) en el tratamiento (Figura 25).

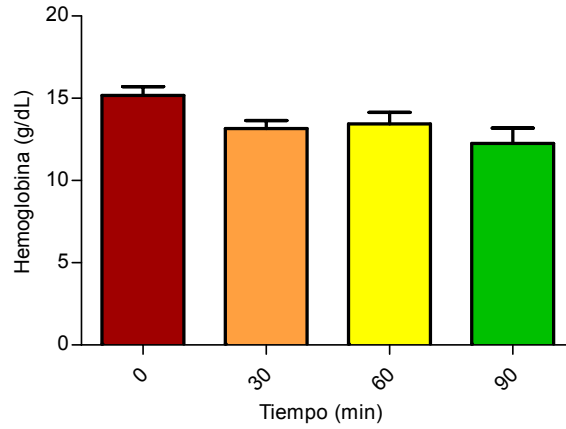


Figura 22. Curso temporal de la concentración de hemoglobina a diferentes dosis en el grupo control. (n=5).

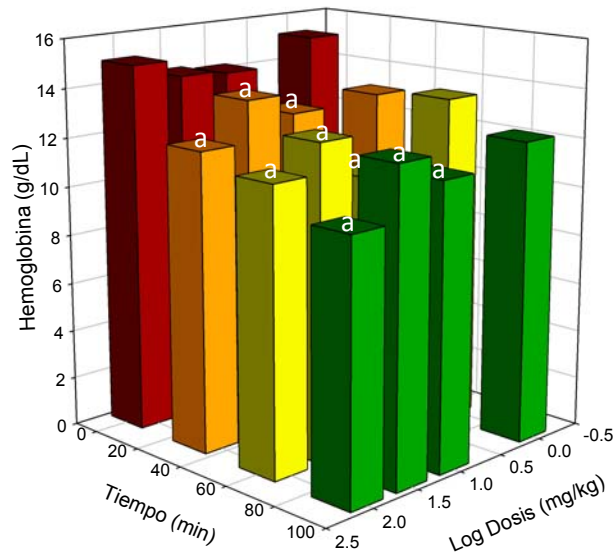


Figura 23. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. pringlei* sobre la concentración de hemoglobina a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

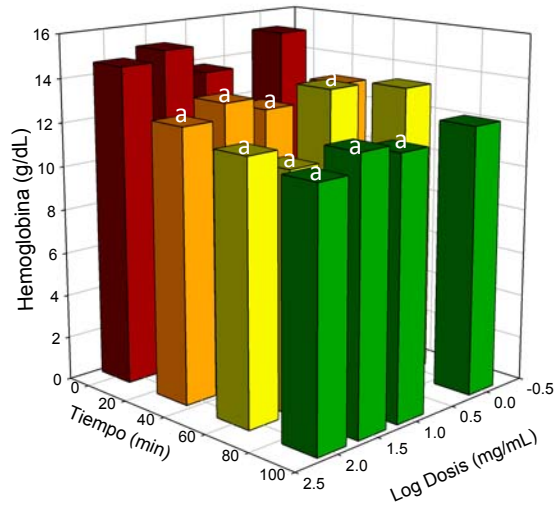


Figura 24. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. sylvatica* sobre la concentración de hemoglobina a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

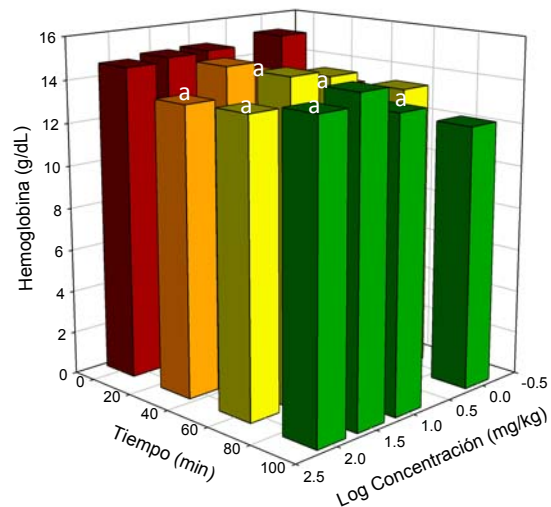


Figura 25. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de semillas de *T. sylvatica* sobre la concentración de hemoglobina a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

D. Plaquetas

El número de plaquetas no se alteró ($p>0.05$) con respecto al tiempo en el grupo control (Figura 26). Sin embargo, el tratamiento con *T. pringlei* (Figura 27) y *T. sylvatica* pericarpio (Figura 28) provocó una disminución significativa ($p<0.05$) en el número de plaquetas dependientemente del tiempo posterior a su administración y mostrando diferencia entre la dosis de 10 mg/kg y las de 31.6 y 100 mg/kg. Para el caso del tratamiento con semillas de *T. sylvatica* se observó la disminución significativa ($p<0.05$) en el número de plaquetas dependiente de la dosis y el tiempo posterior a su de administración (Figura 29).

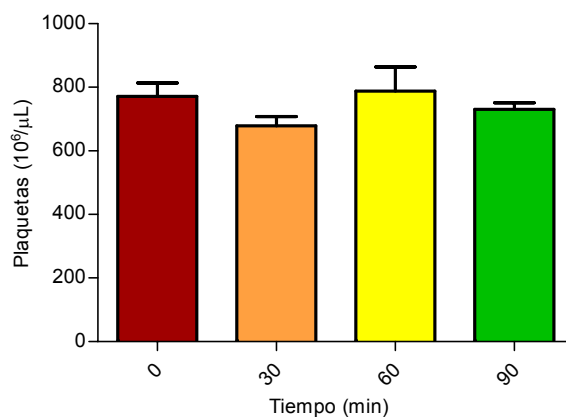


Figura 26. Curso temporal de la cantidad de plaquetas a diferentes dosis en el grupo control. (n=5).

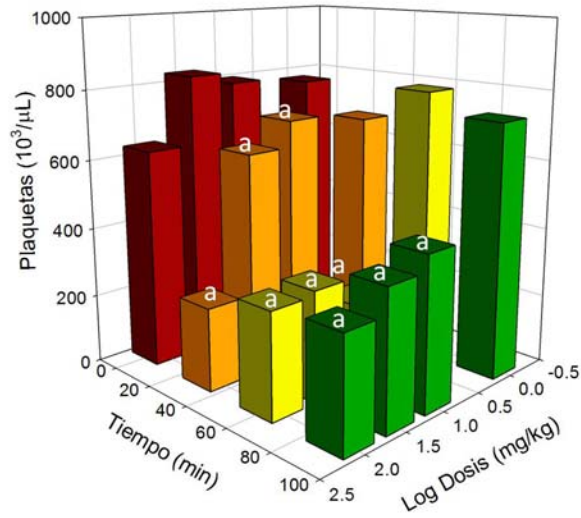


Figura 27. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. pringlei* sobre la cantidad de plaquetas a diferentes dosis. (n=5).
 (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

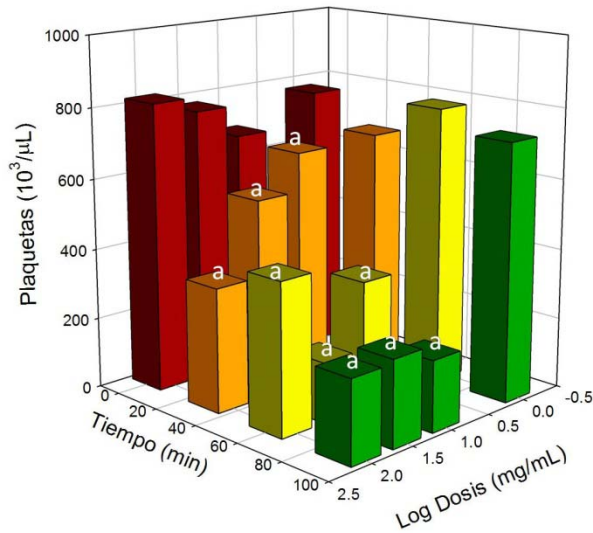


Figura 28. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. sylvatica* sobre la cantidad de plaquetas a diferentes dosis. (n=5).
 (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

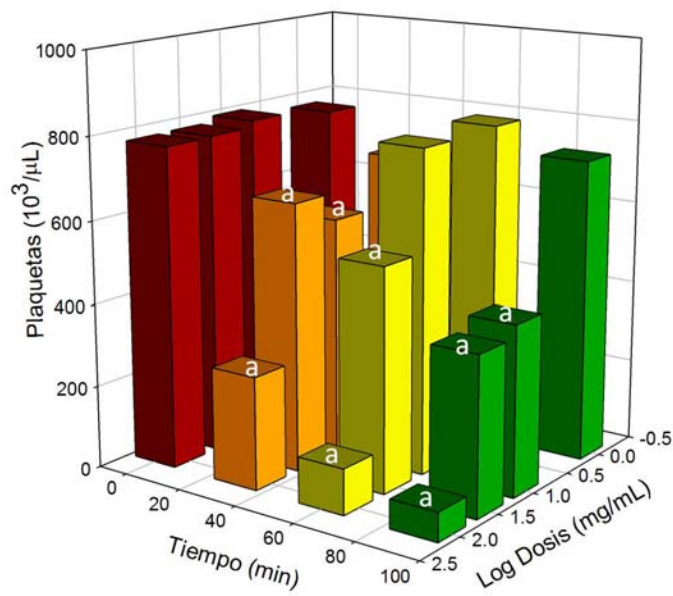


Figura 29. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de semillas de *T. pringlei* sobre la cantidad de plaquetas a diferentes dosis. (n=5). (a) Existe diferencia significativamente entre los controles y los tratamientos.

E. Efectos hematológicos de *T. pringlei* y *T. sylvatica* en presencia de ácido acetilsalicílico.

El pretratamiento con AAS 30 minutos antes de administrar los extractos de *T. pringlei* y *T. sylvatica* no modificaron el número de plaquetas (Figura 30, 31, 32 y 33). Sin embargo en general se acortó el tiempo en el que se alcanzó la muerte de los animales, principalmente en las dosis más altas del extracto de la semilla de *T. sylvatica*, que murieron antes de llegar a los 90 minutos.

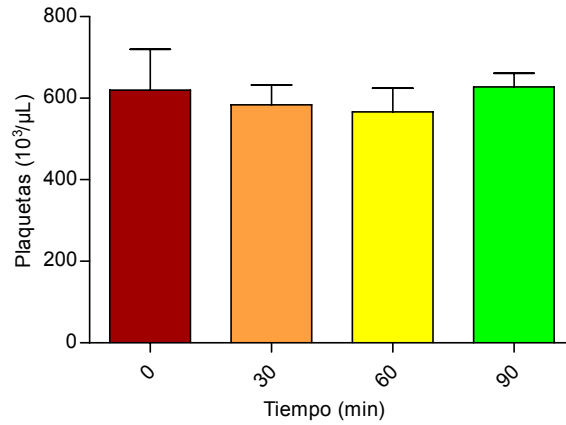


Figura 30. Curso temporal de la cantidad de plaquetas en el grupo control tratado con ASS. (n=5).

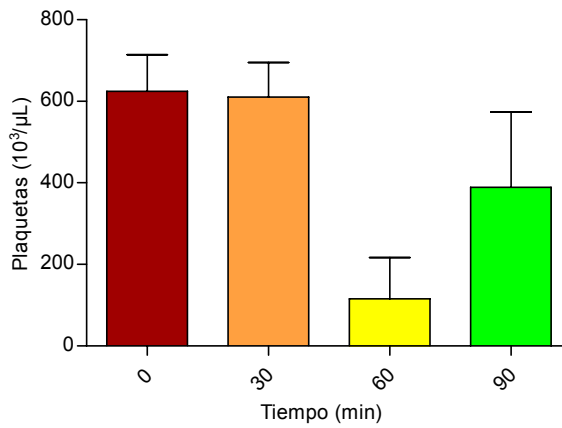


Figura 31. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. pringlei* sobre la cantidad de plaquetas en un grupo pretratado con ASS. (n=5).

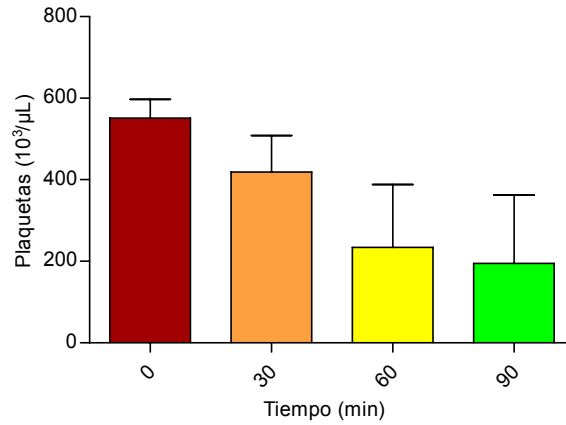


Figura 32. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de *T. sylvatica* sobre la cantidad de plaquetas en un grupo pretratado con ASS. (n=5).

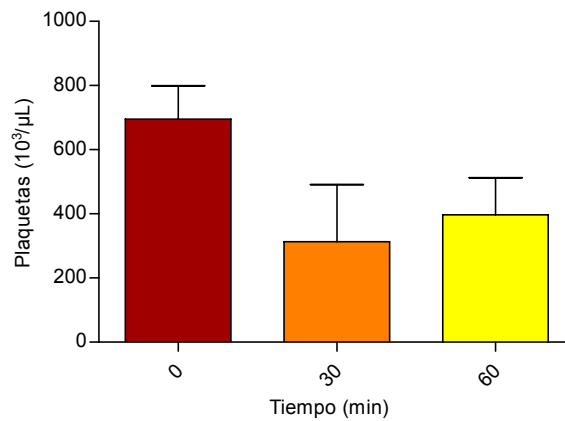


Figura 33. Curso temporal del efecto del extracto acuoso de semillas de *T. sylvatica* sobre la cantidad de plaquetas de un grupo pretratado con ASS. (n=5). El valor de 90 minutos no se determino porque los animales murieron antes cumplirse el tiempo.

VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La preparación mantiene su integridad durante todo el trascurso de la evaluación biológica, como puede apreciarse en la evaluación de la estabilidad de la preparación (Figura 5) por lo tanto podemos atribuir cualquier cambio en esta como un efecto de las sustancias y no a una pérdida de tono o daño tisular.

La evaluación de los extractos de extractos del fruto de *T. pringlei* y del pericarpio de *T. sylvatica* mostraron actividad contráctil sobre el tejido liso vascular de rata, sin embargo, este no es constante y cuando se presenta es después de un periodo de tiempo por lo general mayor a 10 minutos (Figura 6). Estas contracciones se intentaron inhibir incubando con prazosina (Figura 8), un antagonista α 1-adrenérgico, o con ketanserina (Figura 10), un antagonista 5HT₂; en ambos casos las contracciones no fueron inhibidas.

Tanto los extractos acuosos como metanólicos del fruto de *T. pringlei* y del pericarpio de *T. sylvatica* tienen efecto relajante independiente de la dosis (Figura 11), que es inhibido por L-NAME, lo cual sugiere que el mecanismo de acción relajante de los extractos es por vía del óxido nítrico (Tsuji *et al*, 1994). Posterior a la relajación se presentó un efecto contráctil en todas las preparaciones, las cuales después de lavados sucesivos alcanzan el tono basal.

Estas preparaciones responden a la contracción con noradrenalina pero pierden la capacidad de relajarse con acetilcolina o con el extracto, en cambio con nitroprusiato de sodio, un agente generador de NO (Rang *et al.* 2007), se presenta la relajación. Esto se puede atribuir a la presencia de saponinas en los extractos, que se sabe son comunes en el género *Ternstroemia* (Shin *et al.*, 2003) y como se ha descrito, existen saponinas que remueven de forma parcial o total a las células endoteliales de la lámina basal del tejido vascular. Este efecto depende de la dosis aplicada (Samata *et al.*, 1986; Tsuji *et al.*, 1994). También se ha sugerido que las saponinas no sólo pueden eliminar a las células endoteliales, sino que también puede dañar a las células del músculo liso vascular (Samata *et al.*, 1986). Las saponinas se han utilizado para eliminar químicamente tejido para tener fibras de músculo esquelético, músculo cardíaco y de músculo liso debido a su acción perforadora de membrana celular (Samata *et al.*, 1986).

Es posible que el efecto contráctil observado minutos después de haber aplicado el extracto se deba a la misma razón del daño provocado por las saponinas en el tejido vascular. Esto último tomando como base el trabajo de Tsuji *et al.* (1994), quienes encuentran un comportamiento distinto contráctil y relajante después de eliminar el endotelio de la arteria basilar de perro con saponinas, comparado con el comportamiento en el tejido intacto (Tsuji *et al.*, 1994).

La administración *in vivo* de los mismos extractos provoca la muerte de los animales en un lapso de tiempo entre 90 minutos y 24 horas, que se relaciona con la dosis administrada, tanto en ratas como en ratones, en quienes se observa cianosis en las orejas, nariz, cola y patas, es decir en donde se puede observar la piel sin pelo. Se presenta hipoxia, disminución del movimiento, piloerección, que termina con la muerte del animal en el sitio en el que se encuentra.

La necropsia permitió observar que se encontraba una alta extravasación con acumulación de líquidos en el peritoneo, hemorragias en el estómago y en el intestino, sin cambios en la coloración de hígado, riñón y pulmón. Con el diafragma contraído. Esto motivó a revisar la alteración de los parámetros hematológicos, debido a la cianosis y a la observación de cambios en la textura de la sangre y a la formación de coágulos. Lo que se realizó con experimentos *exprofeso*, administrándose 10, 30 y 100 mg/kg de cada extracto acuoso, tomando muestras antes y a los 30, 60 y 90 minutos después de su administración.

En las tinciones de muestras sanguíneas de los animales control, como de los animales tratados con los extractos acuosos del fruto de *T. pringlei*, el pericarpio y semilla de *T. sylvatica*; no se observaron cambios morfológicos en las células (Figura 13).

No se observaron cambios en la biometría hemática de los animales controles en los diferentes tiempos de muestreo (Figura 14, 18, 22 y 26). Lo que indica que en el tiempo de muestreo no se alteran los parámetros hematológicos evaluados. Antes de administrar los diferentes tratamientos no se observaron cambios entre ellos, indicando que se partía de una población homogénea respecto a su biometría hemática.

En el caso de los eritrocitos, hemoglobina y hematocrito en general se observa una disminución de sus valores, que no se puede atribuir a la hemólisis ya que al microscopio no se observaron células lisadas. (Figura 13). El mayor cambio se observó en la cuenta de plaquetas, las cuales disminuyen drásticamente al aumentar la dosis (Figura 29). La disminución en el número de plaquetas llegó a reducirse hasta en un 90% para el caso del tratamiento con el extracto acuoso de semilla de *T. sylvatica*. Hasta donde se revisó no existe compuesto que baje el número de plaquetas en tan corto tiempo. Se tiene conocimiento que cloranfenicol y clorpromazina, presenta este efecto idiosincrático después de varias dosis y en un tiempo mayor, efecto que se revierte en cuanto se suspende el tratamiento con este fármaco (Pelta y Vivas, 1992; Mardomingo *et al*, 1997). También se sabe que el envenenamiento con metales como arsénico, cadmio, plomo y cobre provocan la disminución de plaquetas pero en un tiempo mayor al observado en estos experimentos (Manascero, 2003).

La interpretación que se le dio a los resultados observados sobre la disminución, no sólo de las plaquetas sino de los parámetros hematológicos medidos, se puede atribuir a la formación de coágulos, observado durante la necropsia de los animales, que fue mayor para cuando los animales se trataron con el extracto acuoso de la semilla de *T. sylvatica*. Si bien fue una observación cualitativa, fue muy evidente este cambio entre los animales tratados con los extractos y los animales control, en quienes no se presentaron problemas para la toma de muestras, en cambio en los animales tratados con los extractos al aumentar la dosis y el tiempo se dificultaba su obtención.

Con el propósito de comprobar si la disminución de plaquetas se debía a la agregación de estas, se realizó un experimento en el cual se administró la dosis de 100 mg/kg de peso de los extractos en animales pretratados con 100 mg/kg, de ácido acetilsalicílico (AAS) administrado por vía oral. Sin embargo los resultados obtenidos con los animales tratados con los extractos solos y los obtenidos con los animales pretratados con AAS no fueron distintos ($p > 0.05$), lo que sugiere que la disminución de plaquetas no se debe a su agregación. Sin embargo, se pudo observar que los animales mostraban la progresión de los síntomas previos a la muerte de manera más rápida y el tiempo de deceso era menor, al grado que no fue posible obtener las muestras de sangre a los 90 minutos en el grupo tratado con el extracto de las semillas de *T. sylvatica*.

La extravasación de líquidos observada en la necrosis, puede relacionarse con las alteraciones del tejido vascular observada en los experimentos *in vitro*, referente a la destrucción del endotelio debida a la presencia de saponinas y a su acción perforadora de la membrana celular (Samata *et al.*, 1986).

Es importante resaltar el efecto tóxico observado por la administración de los extractos de *Ternstroemia pringlei* y *Ternstroemia sylvatica*, dos de las plantas medicinales de mayor uso como sedantes y tranquilizantes en la medicina tradicional Mexicana, debido a que tal vez el efecto atribuido se deba más bien a las manifestaciones de este efecto tóxico, sin embargo es necesario realizar mayor trabajo de investigación para entender los efectos tanto sedantes como los efectos sobre las propiedades hematológicas y sobre el tejido vascular de los extractos de esta planta. Por otro lado, se sabe poco de los efectos tóxicos de las plantas medicinales de México, por lo que este trabajo es una contribución importante en este sentido.

VI. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se derivan del presente trabajo son las siguientes:

1. Los extractos acuosos y metanólicos de *Ternstroemia pringlei* y el pericarpio de *Ternstroemia sylvatica* presentaron un efecto bifásico relajante de forma inmediata y contráctil de forma retardada en el tejido vascular de la aorta de rata.
2. El efecto relajante se inhibe por L-NAME, lo que sugiere que este efecto ocurre por la vía del óxido nítrico. Por otro lado el efecto contráctil no fue inhibido por Prazosina ni por Ketanserina, lo que indica que la contracción no es debida a la acción sobre los receptores α_1 -adrenérgicos ni 5-HT₂ serotoninérgicos.
3. Los extractos provocan alteraciones en el tejido vascular efecto que se atribuye a la alteración del tejido vascular debido a la presencia de saponinas.
4. La administración intraperitoneal provoca la disminución de los valores del número de eritrocitos, hematocrito, hemoglobina y de manera muy importante el número de plaquetas.

VII. PERSPECTIVAS

1. Aislar la sustancias responsables de la actividad vasorrelajante del extracto de *T. pringlei* y de *T.sylvatica*.
2. Elucidar en su totalidad el mecanismo de acción por el cual los extractos de las especies de *Ternstroemia* ejercen su efecto.
3. Evaluar los extractos en otros modelos de toxicidad y mutagenicidad.

VI. REFERENCIAS

1. Aguilar-Santamaría L y Tortoriello J. 1996. Anticonvulsant and sedative effects of crude extracts of *Ternstroemia pringlei* and *Ruta chalepensis*. *Phytotherapy Research*, 96:531-533.
2. Assa Y, Shany Gestetner B, Tencer Y, Birk Y y Bondi A. 1973. Interaction of alfalfa saponins with components of the erythrocyte membrane in hemolysis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 307:83-91
3. Carranza E. 1999. Theaceae. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fascículo 73. Instituto de Ecología.
4. Chen W, Wende M y Yu M. 1989. Chemical properties and tannin power of the Houpixiang (*Ternstroemia gymnanthera*) tannin. *Chengdu Keji Daxue Xuebao*, 2:125-138.
5. Horgen F, Edrada R, De los Reyes G, Agcaoili F, Madulid D, Wongpanich V, Angerhofer C y Pezzuto J. 2001. Biological screening of rain forest plot from Palawan Island (Philippines). *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 8(1):71-81.
6. Ikuta A, Tomiyasu H, Morita Y y Yashimura K. 2003. Ursane-Oleanane-Type triterpenes from *Ternstroemia gymnanthera* callus tissues. *Journal of Natural Products*, 66:1051-1054.
7. Jo Y, Suh J, Hee M, Jung J y Sik Im K. 2005. Jacaranone and related compounds from the fresh fruits of *Ternstroemia japonica* and their

- antioxidative activity. Archives of Pharmacal Research, 28(8):885-888.
8. Kikuchi K y Yamaguchi M. 1974. The structure of trenstroemioxanthin, a new aldehydic C40-carotenoid. Bulletin of the Chemical Society of Japan, 47(4):885-887.
 9. Luo Q, Ma W, Zeng X, Sun D, Foo L y Wong H. 1994. Study on tannins from *Ternstroemia gymnanthera* bark and their properties for adhesive preparation. Linchan Huaxue Yu Gongye, 14(3):15-20.
 10. Manascero (2003). Atlas de morfología celular, alteraciones y enfermedades relacionadas. Centro Editorial Javeriano, Págs. 70-71.
 11. Mardomingo S J, Rodriguez R P y Velasco M A (1997) Psicofarmacología del niño y del adolescente. Ediciones Díaz de Santos. Págs. 9-10.
 12. Molina M, Contreras M, Telléz-Alcántara P y Rodríguez F. Sedative actions of *Ternstroemia sylvatica* in the male rat. Phytomedicine, 6(2):115-118.
 13. Pelta F R y Vivas R E (1992). Reacciones adversas medicamentosas: Valoración clínica. Ediciones Díaz de Santos. Págs. 203-204.
 14. Rang H P, Dale M M, Ritter J M, Flower R J (2007). Rang and Dale's Pharmacology. Churchill Livingstone Inc Elsevier. China. Págs. 289-290.

15. Rzedowsk J y Rzedowsk G (editores). (1985). Flora fanerógámica del Valle de México. Volumen II. Dicotyledoneae (Euphorbiaceae-Compositae). Instituto de Ecología, México: 70-73.
16. Saeki I, Sumimoto M y Kondo T. 1968. Antitermitic substance of *Ternstroemia japonica* wood. III. Biological test of the antitermic substance. Mokuzaigakkaishi, 14(2):110-114.
17. Samata K, Kimura T, Satoha S y Watanabe H. (1968). Chemical removal of the endothelium by saponin in the isolated dog femoral artery. European Journal of Pharmacology 128(1-2):85-91
18. Semarnat. *Ternstroemia pringlei* (Rose) Standl. (Monografía en línea). Agosto del 2006. Vínculo disponible en:
<http://www.semanat.gob.mx/pfnm2/fichas/TernstroemiaPringlei.htm>
19. Semarnat. *Ternstroemia sylvatica* Schltdl. & Cham. (Monografía en línea). Septiembre del 2006. Vínculo disponible en:
http://www.semanat.gob.mx/pfnm2/fichas/Ternstroemia_sylvatica.htm
20. Shin M, Wang W, In Nam K, Jo Y, Jung J y Sik In K. 2003. Trieterpenoid saponins from the fruits of *Ternstroemia japonica*. Journal of Natural Products, 66:1351-1355.
21. Tori M, Fukuyama H, Nakashima K y Sono M. 2005. Degraded terpenoids and aromatic compounds from *Ternstroemia gymnanthera*. Letters in Organic Chemistry, 2:262-264.
22. Tsuji T, Kobayashi S, Chiba S y Cook A. 1994. Effects of endothelium removal by saponin and of oxyhemoglobin on canine

cerebrovascular responses. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 49 S139-S143

23. Wang H y Ng T. 2000. Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and antithrombotic activities. *Life Sciences*, 25(12), 2663-2677.
24. Yoshioka I, Takeda R, Matsuda A y Kitagawa I. 1972. Saponin and sapogenol. V. Sapogenol constituents of seeds of *Camelia sasanqua* and leaves of *Ternstroemia japonica*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 20:1237-1242.