

**EFFECTO DEL INFUSO DE HOJAS SECAS DE *Psoralea glandulosa*
SOBRE ÍLEON AISLADO DE *Cavia porcellus* TIPO ONDULADO ERIZADO**

**Effect of dried leaves infuse of *Psoralea glandulosa* on isolated ileum of Guinea
pigs wavy bristly type**

Plasencia Cotrina Edgar¹, Portilla Lecca Dahalia¹, Quispe Díaz Iván²

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del infuso de *Psoralea glandulosa* al 10% y 20% sobre íleon aislado de *Cavia porcellus*. Material y Método: Se utilizaron 8 especímenes de *Cavia porcellus*, machos adultos los cuales fueron divididos en dos grupos, donde sólo el segundo grupo fue expuesto a espasmógenos; los patrones antiespasmódicos utilizados para ambos grupos fueron atropina, clorfenamina y nifedipino. Las dosis de los infusos fueron 0.2mL, 0.5mL y 1mL. Resultados: Los infusos al 10% y 20% redujeron la amplitud de las contracciones a dosis menores, similar a los 3 patrones utilizados en el procedimiento sin espasmógeno y, con espasmógenos, los infusos al 10% y 20% redujeron la amplitud similar a atropina y clorfenamina, mientras que a dosis menores lo hicieron de modo similar a nifedipino. Se concluye que el infuso de las hojas de *Psoralea glandulosa* disminuye la amplitud de las contracciones en íleon de *Cavia porcellus*.

Palabras claves: *Psoralea glandulosa*, atropina, acetilcolina, clorfenamina, histamina.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effect of *Psoralea glandulosa* 10% and 20% infuse on ileum of *Cavia porcellus*. Material and Methods: We used eight samples of *Cavia porcellus*., divided into two groups, only the second group was exposed to spasmogens, the patterns used for both groups were atropine, chlorpheniramine and nifedipine. The dose of infused were 0.2mL, 0.5mL and 1mL. Results. The infuse 10% and 20% decreased the amplitude of contractions to low doses similar to the three patterns, in the procedure without spasmogen, and using spasmogens the infuse at 10% and 20% decreases the amplitude in a similar mode of atropine and chlorpheniramine, whereas at lower doses they did it in a similar mode of nifedipine. Conclusion: The infuse of *Psoralea glandulosa* decreases the amplitude of ileum contractions in *Cavia porcellus*.

Key words: *Psoralea glandulosa*, atropine, acetylcholine, chlorphenamine, histamine, potassium chloride.

¹ Estudiantes de la Fac. Farmacia y Bioquímica-Universidad Nacional de Trujillo-Perú

² Mg. en Farmacia Clínica. Docente Fac. Farmacia-Universidad Nacional de Trujillo-Perú

INTRODUCCION

Los trastornos gastrointestinales funcionales se definen como una combinación variable de síntomas crónicos o recurrentes como la dispepsia funcional, síndrome de intestino irritable, dolor abdominal, dependientes de la edad, que no pueden ser explicados por alteraciones estructurales o bioquímicas.^{1,2}

El cólico abdominal es un motivo frecuente de consulta en pediatría general con un 2 a 4%, como en gastroenterología infantil con un 7 a 25% y en los servicios de urgencia 10%.³ El consenso ROMA III en Europa, esta afección, es una de las razones más comunes de consulta médica en pediatría con un 28-46%²

Los antiespasmódicos son un grupo farmacológico diverso teniendo como fármaco principal a la atropina, hioscina y la escopolamina junto a sus derivados sintéticos cuyo mecanismo farmacológico convencional es la actividad como antagonista competitivo.³

La medicina natural en el Perú posee un gran potencial terapéutico debido a la mega diversidad de plantas que existen, con propiedades medicinales que en forma empírica los pobladores realizan; entre ellas tenemos a *Melissa officinalis L* (melisa), *Ocimum basilicum* (albahaca), *Foeniculum vulgare* (hinojo), *Mentha arvensis* (menta), *Pimpinella anisum* (anís) y *Chamaemelum nobile* (manzanilla).⁴

Otra planta medicinal a la que se le atribuye actividad espasmolítica es la *Psoralea glandulosa* (Culén), que actualmente no cuenta con estudios científicos respecto a la actividad

espasmolítica, pero es utilizada empíricamente por la sociedad en el tratamiento del cólico intestinal.^{5,6} Por lo cual surge la motivación para investigar acerca de sus efectos sobre intestino de *Cavia porcellus*.

Objetivo general.

Determinar el efecto del infuso de las hojas secas de *Psoralea glandulosa* sobre íleon aislado de *Cavia porcellus*.

Objetivos específicos.

Evaluar el efecto de *Psoralea glandulosa* al 10 y 20% sobre la amplitud de las contracciones en íleon aislado de *Cavia porcellus* tipo ondulado erizado, sin espasmógeno.

Evaluar el efecto de *Psoralea glandulosa* al 10 y 20% sobre las contracciones inducidas por espasmógenos respecto a amplitud en íleon aislado de *Cavia porcellus* tipo ondulado erizado.

MATERIAL Y METODOS

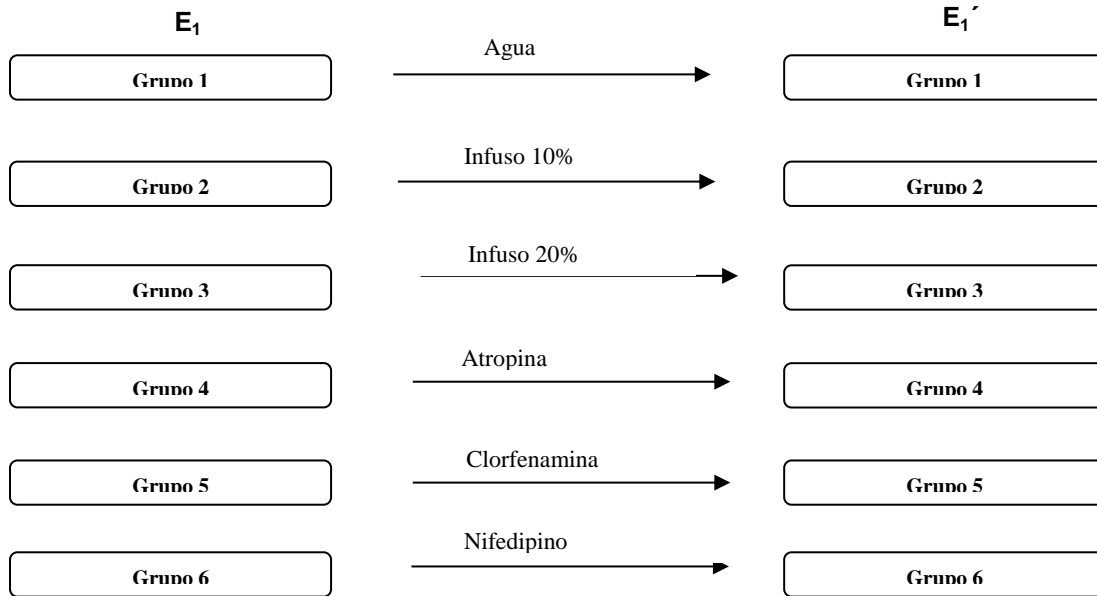
MATERIALES

Material Botánico. Se adquirió muestras de *Psoralea glandulosa* en el mercado Mayorista –Trujillo en agosto del 2012 y se llevó al *Herbarium Truxillensis* (HUT) (Trujillo) para respectiva identificación.

Material biológico. Se utilizaron ocho especímenes de *Cavia porcellus* tipo ondulado erizado, machos, de 300-350 g, procedentes del Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo.

MÉTODO. Estudio experimental con estímulo creciente.⁷

Sin espasmógeno



E_1 : Estuvo conformado por 3 muestras de ileon de *Cavia porcellus*, que fueron sometidas a la secuencia de los seis grupos. * La actividad sin espasmógeno se aplicó a cuatro especímenes.

Con espasmógeno : E2

E_2 : Estuvo conformado por 3 muestras de ileon de *Cavia porcellus*, que fueron sometidas a la secuencia de los seis grupos.

x, y, z: Acetilcolina, histamina y cloruro de potasio respectivamente.

* La actividad frente a espasmógenos se aplicó a cuatro especímenes.

PROCEDIMIENTO

Preparación del infuso de las hojas secas de *Psoralea glandulosa*:

- **Secado de la muestra:** Se tomó muestras (200 g, por triplicado) y se procedió a secar en estufa a 33°C, hasta peso constante y seguidamente se trituró.⁸
- **Preparación del infuso:** Se preparó el infuso pesando 10 y 20 gramos de muestra por separado, colocándose en dos vasos de precipitación que contienen 100 mL. de agua hirviendo respectivamente, se dejó por 10 minutos en contacto y luego se filtró y colocó en frascos color ámbar. Antes de su utilización se llevó a un pH de 7.4.⁶

Preparación de la solución Tyrode pH 7.4

En un recipiente de plástico que contenía agua destilada, se añadieron 64 g de cloruro de sodio, 1.6 g de cloruro de calcio, 0.08 g de cloruro de magnesio, 0.4 g de fosfato de sodio monobásico, 8 g de glucosa anhidra, 8 g de bicarbonato de sodio hasta disolución, finalmente se agregó agua destilada hasta completar los 8 L.⁹

Preparación del ileon de *Cavia porcellus*^{10,11}

Los especímenes fueron privados de alimentos 24 horas antes del experimento y se sacrificaron con inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico al 18 %, a la dosis de 200 mg/kg p.c, según el AVMA.

Posteriormente se abrió la cavidad abdominal y extrajo la porción de íleon, colocándose en placa petri para ser lavado y fijado en el equipo de órgano aislado.

Determinación de la amplitud de la contracción, sin espasmógenos^{10, 11}

Se dejó estabilizar las muestras de íleon (3 porciones de intestino por cada espécimen), al menos, por 20 minutos y luego se aplicó 0.5mL de agua destilada a cada órgano aislado, se registró el tono por 10 minutos, luego se realizó el lavado de las cámaras de órgano aislado con la solución de Tyrode (2 veces) y se estabilizó la muestra por 10 minutos. Luego se aplicó 0.2, 0.5 y 1.0 mL del infuso de las hojas secas de *Psoralea glandulosa* al 10%, con un intervalo de dosis de 3 minutos respectivamente. Luego de aplicada la última dosis, se registró el tono durante 10 minutos, posteriormente se realizó el lavado de las cámaras de órgano aislado (2 veces) y se estabilizó la muestra por 10 minutos.

Luego de estabilizada la pieza intestinal se aplicaron 0.2, 0.5 y 1.0ml del infuso de las hojas secas de *Psoralea glandulosa* al 20%, con un intervalo de dosis de 3 minutos. Luego de aplicada la última dosis, se registró el tono durante 10 minutos, posteriormente se realizó el lavado de las cámaras de órgano aislado (2 veces) y se estabilizó la muestra por 10 minutos.

Posteriormente se aplicó 0.3mL de atropina al 5×10^{-5} M, se registró el tono por 10 minutos, luego se realizó el lavado de las cámaras de órgano aislado con la solución de Tyrode (2 veces) y se estabilizó la muestra por 10 minutos. Se desarrolló el proceso en cuatro

especímenes (tres muestras de íleon por cada espécimen).

Luego se aplicó 0.3 mL de clorfenamina al $4,5 \times 10^{-8}$ M, siguiendo la misma secuencia anterior. Finalmente se aplicó 0.3 mL de nifedipino al 5×10^{-8} M Al con procedimiento similar al anterior.

Determinación de la amplitud frente a espasmógenos^{10, 11}

Se dejó estabilizar las muestras de íleon (3), al menos, por 20 minutos y luego se añadió a cada cámara de órgano aislado 0.3 mL de Acetilcolina 5×10^{-4} M, se registró el tono por 3 minutos. Posteriormente se aplicó 0.5 mL de agua destilada a cada órgano aislado, se registró el tono por 10 minutos, luego se realizó el lavado de las cámaras de órgano aislado (2 veces) con solución de Tyrode y se estabilizó la muestra por 10 minutos.

Se añadió a cada cámara de órgano aislado 0.3 mL de acetilcolina 5×10^{-4} M, se registró el tono por 3 minutos. Luego se aplicó 0.2, 0.5 y 1.0 mL del infuso de las hojas secas de *Psoralea glandulosa* al 10%, con un intervalo de dosis de 3 minutos. Luego de aplicada la última dosis, se registró el tono durante 10 minutos, luego se realizó el lavado de las cámaras de órgano aislado (2 veces) y se estabilizó la muestra por 10 minutos.

Se añadió a cada cámara de órgano aislado 0.3mL de acetilcolina 5×10^{-4} M, se registró el tono por 3 minutos. Luego se aplicó 0.2, 0.5 y 1.0 mL del infuso de *Psoralea glandulosa* al 20%, con un intervalo de dosis de 3 minutos. Luego de aplicada la última dosis, se registró el tono durante 10 minutos, luego se realizó el lavado de las cámaras de órgano aislado (2 veces) y se estabilizó la muestra por 10 minutos.

Se añadió a cada cámara de órgano aislado 0.3mL de acetilcolina 5×10^{-4} M, se registró el tono por 3 minutos. Luego se aplicó 0.3 mL de atropina 5×10^{-5} M, se

registró el tono por 10 minutos, luego se realizó el lavado de las cámaras de órgano aislado (2 veces) y se estabilizó la muestra por 10 minutos. Se desarrolló el proceso en cuatro especímenes (tres muestras de íleon por cada espécimen). Al término del procedimiento se siguió la misma secuencia añadiendo histamina $4,5 \times 10^{-8} \text{M}$ en vez de acetilcolina y clorfenamina $7,6 \times 10^{-6} \text{M}$ en vez de

atropina. Finalizado este procedimiento se sigue la misma secuencia añadiendo cloruro de potasio $5 \times 10^{-2} \text{M}$ en vez de histamina y nifedipino $5 \times 10^{-8} \text{M}$ en vez de clorfenamina.

Análisis estadístico.

Los datos fueron analizados mediante el ANOVA y el Prueba HSD de Tukey.¹²

RESULTADOS

Tabla 1: Efecto de las hojas secas del infuso de *Psoralea glandulosa* al 10 y 20% sobre la amplitud (cm) de las contracciones de íleon aislado de *Cavia porcellus* tipo ondulado, sin espasmógeno

Estímulo	AMPLITUD (cm)			
	Cobayo			
	1	2	3	4
Agua dest.	0,6	0,6	0,5	0,7
Infuso 10% 0.2ml	0,3	0,2	0,2	0,2
Infuso 10% 0.5ml	0,3	0,2	0,2	0,2
Infuso 10% 1ml	0,5	0,4	0,3	0,3
Infuso 20% 0.2ml	0,2	0,2	0,2	0,2
Infuso 20% 0.5ml	0,2	0,3	0,3	0,3
Infuso 20% 1ml	0,3	0,4	0,4	0,4
Atropina 0.3ml	0,2	0,3	0,2	0,2
Clorfenamina 0.3ml	0,2	0,2	0,2	0,2
Nifedipino 0.3ml	0,3	0,2	0,1	0,2

Tabla 2. Análisis de varianza del efecto de *Psoralea glandulosa* al 10 y 20% sobre la amplitud de las contracciones de íleon aislado de *Cavia porcellus* tipo ondulado, sin espasmógeno

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,591	9	,066	18,762	,000
Intra-grupos	,105	30	,003		
Total	,696	39			

Tabla 3. Análisis Post Hoc- Prueba HSD de Tukey del efecto de *Psoralea glandulosa* al 10 y 20% sobre la amplitud de las contracciones de íleon aislado de *Cavia porcellus* tipo ondulado, sin espasmógeno

Estimulo aplicado	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Infuso 20% 0.2ml	4	,200		
Clorfenamina	4	,200		
Nifedipino	4	,200		
Infuso 10% 0.2ml	4	,225		
Infuso 10% 0.5ml	4	,225		
Atropina	4	,225		
Infuso 20% 0.5ml	4	,275	,275	
Infuso 10% 1ml	4		,375	
Infuso 20% 1ml	4		,375	
Agua	4			,600
Sig.		,734	,366	1,000

Tabla 4: Efecto del infuso de las hojas secas de *Psoralea glandulosa* al 10 y 20% sobre las amplitud de las contracciones inducidas por Acetilcolina, histamina y cloruro de potasio, en íleon aislado de *Cavia porcellus* tipo ondulado erizado

Estimulo espasmógeno	Amplitud (cm)											
	Cobayo											
Ach	1,5	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4
Histamina		0,5			0,5			0,6			0,3	
KCl			0,3			0,3			0,3			0,2
Agua	1,4	0,3	0,2	1,4	0,3	0,2	1,4	0,4	0,2	1,4	0,3	0,2
Infuso 10% 0.2ml	0,6	0,1	0,1	0,4	0,2	0,1	0,3	0,3	0,1	0,3	0,2	0,1
Infuso 10% 0.5ml	0,5	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	0,3	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1
Infuso 10% 1ml	0,5	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,1	0,1	0,1
Infuso 20% 0.2ml	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2	0,1	0,2
Infuso 20% 0.5ml	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
Infuso 20% 1ml	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2
Atropina	0,2			0,1			0,1			0,1		
Clorfenamina		0,1			0,1			0,1			0,1	
Nifedipino			0,1			0,1			0,1			0,1

Tabla 5. Análisis de varianza del efecto de *Psoralea glandulosa* al 10 y 20% sobre las amplitud de las contracciones inducidas por espasmógenos en íleon aislado de *Cavia porcellus* tipo ondulado erizado

Estímulos espasmógenos	Acetilcolina	Histamina	Cloruro de potasio
	Atropina	Clorfenamina	Nifedipino
	Infuso 20% 0.5ml	Infuso 20% 0.5ml	Infuso 20% 0.5ml
	Infuso 20% 0.2ml	Infuso 20% 0.2ml	Infuso 20% 0.2ml
Tratamientos	Infuso 20% 1ml	Infuso 20% 1ml	Infuso 20% 1ml
	Infuso 10% 0.5ml	Infuso 10% 0.5ml	Infuso 10% 0.5ml
	Infuso 10% 1ml	Infuso 10% 1ml	Infuso 10% 1ml
	Infuso 10% 0.2ml	Infuso 10% 0.2ml	Infuso 10% 0.2ml
	Agua	Agua	Agua
	57,325	2,597	14,571
Sig.	p= 0,000	p= 0,038	p= 0,000

Tabla 6. Análisis Post Hoc-Test de Tukey del efecto de *Psoralea glandulosa* al 10 y 20 % respecto a la amplitud de las contracciones inducidas por espasmógenos en íleon aislado de *Cavia porcellus* tipo ondulado erizado

Patrones	Atropina (p=0.125)	Clorfenamina (p=0.100)	Nifedipino (p=0.100)
Tratamientos			
Infuso 10% 0.2ml	0.325	0.200	0.100
Infuso 10% 0.5ml	0.300	0.175	0.100
Infuso 10% 1ml	-	0.225	-
Infuso 20% 0.2ml	0.200	0.200	-
Infuso 20% 0.5ml	0.175	0.125	0.100
Infuso 20% 1ml	0.225	0.200	-
Agua	-	-	-
Sig. prom	0.214	0.442	1.000

DISCUSION

En las tablas 1,2 y 3 observamos que existe diferencia muy altamente significativa ($p < 0.0001$) al comparar los grupos de tratamiento en la motilidad espontánea con respecto a la amplitud de las contracciones; esto conlleva al análisis Post Hoc-Test de Tukey donde se observa que el infuso de las hojas de *Psoralea glandulosa* al 10% en volúmenes administrados 0.2mL y 0.5mL ($p = 0.225$ para cada uno) y 20% de 0.2mL y 0.5mL ($p = 0.200$ y $p = 0.275$ respectivamente), no presentan diferencia estadísticamente significativa con respecto a los patrones atropina ($p = 0.225$), clorfenamina ($p = 0.200$) y

nifedipino ($p = 0.200$). El efecto se determinó en función a la amplitud de las contracciones intestinales, la que representa la altura máxima de una contracción siendo tomada de un tiempo de inicio de la contracción hasta el final de la relajación, se aplica esta medida debido a que nos indica la intensidad de la contracción en el músculo liso del intestino delgado de *Cavia porcellus*.¹³

En algunas investigaciones del infuso de *Psoralea glandulosa*, presentan metabolitos secundarios como flavonoides, taninos y fenoles, presentes en un extracto acuoso que sirven de base para inferir actividad en nuestro

trabajo, de los cuales los flavonoides y taninos presentan evidencia de efecto espasmolítico al disminuir el número de contracciones en unos intervalos de tiempo en intestino de *Cavia porcellus* y *Oryctolagus canaliculus*.^{14, 15}

En las tablas 4,5 y 6, se evidencia que los infusos al 10% y 20% en volúmenes de 0.2 mL y 0.5 mL, presentan efecto espasmolítico, debido a que los metabolitos secundarios; flavonoides y taninos, a las dosis indicadas, tienen efecto antagonista similar a los patrones (atropina, clorfenamina y nifedipino), pero al incrementar el volumen (10% y 20% de 1mL) genera un efecto agonista directo sobre los receptores, esto se debería a que estos metabolitos agonistas desplazarían de los receptores a los metabolitos antagonistas. La doble respuesta (espasmolítico y espasmógena) la corroboramos en algunos estudios de los cuales los extractos presentan metabolitos como taninos y flavonoides responsables de esta diferencia.^{16, 17, 18}. También se observa que existe diferencia estadística muy significativa al comparar los grupos de tratamiento cuando se los expone a los espasmógenos; acetilcolina ($p < 0.0001$), histamina ($p = 0.038$) y cloruro de potasio ($p < 0.0001$) respecto a la amplitud. Esto conlleva al análisis Post Hoc – Test de Tukey de los grupos mencionados. Se evidencia además que para acetilcolina, el patrón usado es la atropina que actúa como un antagonista competitivo reversible frente a los receptores M3 y se observa por el análisis del Test de Tukey que el infuso de *Psoralea glandulosa* al 10% en volúmenes de 0.2 y 0.5 mL ($p = 0.325$ y un $p = 0.300$ respectivamente) y al 20% de 0.2, 0.5 y 1 mL ($p = 0.200$, $p = 0.175$ y un $p = 0.225$ respectivamente), poseen un efecto similar al de la atropina no observándose una relación dosis–

respuesta dependiente; esto se debería a que los metabolitos secundarios flavonoides y taninos, a las dosis indicadas tienen efecto antagonista similar al patrón de atropina, mientras que al 10% (1mL) genera el efecto espasmolítico pero no es estadísticamente significativo.^{15, 19, 20}

La respuesta antimuscarínica del infuso de *Psoralea glandulosa* por flavonoides y taninos se fundamenta con algunos estudios realizados con *Acasia leucophloea*, *Valeriana wallichii* que explican la acción relajante a bajas dosis por acción antimuscarínica en M3.¹⁴

Mediante análisis de Test de Tukey, se observó que el infuso de *Psoralea glandulosa* al 10% en volúmenes de 0.2, 0.5 y 1 mL ($p = 0.200$, $p = 0.175$ y $p = 0.225$ respectivamente) y al 20% en volúmenes de 0.2, 0.5 y 1 mL ($p = 0.200$, $p = 0.175$ y $p = 0.200$ respectivamente), poseen un efecto similar a clorfenamina pero no relacionadas a un efecto dosis–respuesta dependiente (estadísticamente), ya que el efecto del infuso de *Psoralea glandulosa* podría deberse a que esté desplazando a la histamina de su receptor evitándose su actividad intrínseca.

Estudios realizados con *Melissa officinalis* y *Casuarina equisetifolia*, menciona que la fracción acuosa de un infuso tiene más actividad histaminérgica en íleon, además que los flavonoides, taninos y otros metabolitos generan este efecto antihistamínico.^{13, 16, 17}

Así mismo para cloruro de potasio se usó el patrón nifedipino, fármaco antagonista de calcio que actúa selectivamente sobre canales de calcio voltaje dependiente tipo L, siendo un potente inhibidor de la contracción tónica. Al realizar el análisis de Test de tukey se observó que el infuso de *Psoralea glandulosa* al 10% en volúmenes de 0.2 y 0.5 mL ($p < 0.100$

cada uno) presenta similar efecto al patrón mencionado descartando una dosis -respuesta dependiente, porque al incrementar la dosis (10% de 1mL), genera un efecto agonista directo sobre los canales de calcio voltaje dependientes, siendo una posible causa la afinidad inestable de los fitoconstituyentes del infuso hacia los canales de calcio operados por voltaje (tipo VOC), debido a que los metabolitos secundarios flavonoides y taninos, a las dosis indicadas, tienen efecto antagonista similar al patrón (nifedipino) y a la concentración del 20% de 0.5ml se observa un efecto espasmolítico no presenciado en las dosis de 0.2y 1mL; esto se debería a que esta dosis 0.5mL sería el punto de inflexión para este efecto, otra posible explicación sería que a la dosis indicada la solución presenta un pH necesario para la estabilidad de los fitoconstituyentes.¹⁸

La influencia del bloqueo de los canales de calcio tipo VOC se corrobora con estudios de plantas como *Borago officinalis*, *Hypericum hoglongligolium* donde la presencia de taninos y flavonoides conllevan a la relajación, un efecto antagónico al cloruro de potasio hiperpolar.^{19, 20}

CONCLUSIONES

El infuso de la hojas de *Psoralea glandulosa* al 10% y 20% a dosis menores, reduce la amplitud de las contracciones de íleon aislado de *Cavia porcellus* tipo ondulado, sin espasmógeno, similar a los patrones estudiados y, reduce la amplitud de las contracciones inducida por espasmógenos similar a atropina y clorfenamina, mientras que a dosis menores lo hace de modo similar a nifedipino.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rasquin A. Infancia trastornos gastrointestinales funcionales: niño / adol Gastroent-Pediat. [Revista en línea]. Abril-2006. [Fecha de acceso: 15 de noviembre del 2012]. 130 (5): 1519-26. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16678566escente>.
2. Moreno J. Gastroenterología. Dolores abdominales recurrentes: orientación diagnóstica y tratamiento. RevPediatr Aten Primaria. [Revista en línea]. Noviembre - 2011. [Fecha de acceso: 15 de noviembre del 2012]. 13(20). Disponible en:http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=76322011000400017&script=sci_arttext
3. Katzung G. Principios De La Farmacología. 10ªed. ElSevier. España. 2006. p 841-850
4. Molina Y. Estudio etnobotánico y etnofarmacológico de plantas medicinales de Tambopata, Madre de Dios, Perú. Revista Mundo Natural. [Revista en línea]. 2009 [Fecha de acceso: 06 de agosto del 2012]. 14 (7). Disponible en: http://www.uap.edu.pe/Investigaciones/Esp/Revista_14_Esp_07.pdf
5. Ruiz A. Actividad espasmolítica de una tintura de *Melissa officinalis* L. en modelos experimentales. Rev Cubana Plant Med. [Revista en línea]. Agosto 2004. [Fecha de acceso: 09 de agosto del 2012].9(3). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol9_3_04/pla03304.htm
6. Alba R, Camacho R, Polanco M, Gómez S. Efecto relajante de las hojas de *Ocimum basilicum* y *Foeniculum vulgare* colombianas en íleon aislado de rata. Univ. Med. Bogotá. [Revista en línea]. Marzo 2009.[Fecha de acceso: 09 de agosto del 2012]. 50 (1): 98-109.

7. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación Científica. 4a ed. Mc Graw -Hill, Interamericana; México. 2006.
8. Urquiza F, Torres M. Estudio farmacognóstico de las hojas de *Pluchea carolinensis* (Jacq.) G. Don (salvia del país). Rev Cubana PlantMed. Mayo-Agosto 2004. 9 (2).
9. Velasco A. Compendio de Farmacología General. 1º ed. Diaz de Santos S.A. España. 2001. p 289-291.
10. AVMA. Report of the JAVMA panel on euthanasia. JAVMA.2000. 18 (5). 669-696.
11. Benjamín L. Actividad antiespasmódica de extractos de plantas medicinales en preparaciones de íleon de cobayo (tesis doctoral). México. UNAM; 2005.
12. Devora J. Probabilidad estadística para ingeniería y ciencias. 7º ed. Cengage Learning Editores. Santa Fe. 2008. p 288-291
13. Carlota A, Brizuela Y. Efectos de ruda SSP sobre la actividad del músculo liso gastrointestinal aislado de rata. RevFacCienMéd.7(2): 73-76.
14. Gutiérrez R, Alva B. Fitoconstituyentes de las hojas de *Psoralea glandulosa* y efecto del infuso sobre la Glicemia en *Rattus rattus var. albinus* con hiperglicemia experimental. Rev. MedVallej. [Revista en línea]. 2006. [Fecha de acceso: 06 de enero del 2006].3 (2).
15. Gilani A, Bashir S, Khan A. Base farmacológica para el uso de *Borago officinalis* en los trastornos gastrointestinales, respiratorios y cardiovasculares. Rev. J Ethnopharmacol. [Revista en línea]. Agosto - 2007. [Fecha de acceso: 06 de enero del 2013]. 114 (3):393-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17900837>
16. Abbas S, Bashir S. Efecto estimulante Gastrointestinal de Urginea (Kunth) y la participación de receptores muscarínicos. Phytotherapy Research. mayo - 2012. [Fecha de acceso: 06 de enero del 2013]. 26 (5):704-708. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22006863>
17. Gilani A, Ghayur M. Pharmacological basis for the gut stimulatory activity of *Raphanus sativus* leaves. J Ethnopharmacol. 2004. [Fecha de acceso: 06 de enero del 2013]. 95(2-3): 169-172. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15507331D>
18. Arif K. Pharmacological basis for the medicinal use of *Valeriana wallichii* in constipation. Sedicl. [Revista en línea]. Enero - 2011. [Fecha de acceso: 06 de enero del 2013]. 30(1): 186-188. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/8121>
19. Khan A, Gilani A. Actividad antiespasmódica y broncodilatadora de *Artemisia vulgaris* son mediados a través del bloqueo dual de los receptores muscarínicos y el influjo de calcio. Rev. J Ethnopharmacol. 2009. [Fecha de acceso: 06 de enero del 2006]. 126 (3): 480-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
20. Das A, Rohini R, Hema A. Evaluation of Anti-diarrhea activity of *Rhizophora mucronata* bark extracts. The Internet Journal of Alternative Medicine. [Revista en línea].2009. [Fecha de acceso: 06 de enero del 2013]. 7(1). Disponible en: <http://www.ispub.com/journal/the-internet-journal-of-alternative->