

FACULTAD DE MEDICINA "DR. SALVADOR ALLENDE". LABORATORIO CENTRAL
DE FARMACOLOGIA

ACTIVIDAD ESPASMOLITICA DEL EXTRACTO FLUIDO DE *Matricaria recutita* (MANZANILLA) EN ORGANOS AISLADOS

Dr. Francisco Morón Rodríguez,¹ Dr. Juan Furones Mourelle²
y Tec. Zulima Pinedo Gutiérrez³.

RESUMEN

La *Matricaria recutita* L. (manzanilla) es una planta muy empleada en la medicina tradicional de Cuba y de otros muchos países. Entre sus propiedades se le atribuyen algunas relacionadas con una posible acción espasmolítica en el sistema digestivo. Se evalúa la actividad de un extracto fluido de *M. recutita*, elaborado con un mensturo de etanol-agua al 30 % en los modelos de yeyuno de conejo e íleon de curiel aislados y se empleó la papaverina como medicamento de referencia. El extracto fluido disminuyó de manera dosis dependiente la amplitud de las contracciones espontáneas en el modelo de yeyuno aislado de conejo y también inhibió las contracciones inducidas por cloruro de bario, acetil colina e histamina en el íleon aislado de curiel de forma similar a la papaverina. La actividad del extracto de *M. recutita* fue superior que la droga de referencia en ambos casos.

Palabras clave: Plantas medicinales; Agentes espasmolíticos; *Matricaria recutita* L.; Astereaceae; Organo aislado.

INTRODUCCION

La *Matricaria recutita* L. o *M. chamomilla*, conocida como manzanilla, pertenece a la familia Astereaceae (figura). Es oriunda de Europa con amplia distribución en toda América, y en Cuba se introdujo en 1939.^{1,2}

Los componentes químicos, descritos fundamentalmente en las flores, consideradas como la parte más activa de la planta, están en el aceite esencial donde se encuentran el camazuleno, el

bisabolol y la apigenina; estos dos últimos tienen actividad espasmolítica, además existen otros compuestos como cumarinas, flavonoides, antemidina, ácido antémico, matricina, taninos, ácidos grasos, carotenos, ácido ascórbico y ácido salicílico.²

A la planta se le atribuyen tradicionalmente diversas propiedades entre las que se encuentra la anti-espasmódica, que ha sido demostrada experimentalmente con diferentes extractos.³ Es por ello, el interés de evaluar esta actividad en el extracto fluido elaborado con manzanilla nacional.

¹ Doctor en Ciencias Médicas (PhD). Especialista de II Grado en Farmacología. Profesor Auxiliar.

² Especialista de II Grado en Farmacología. Profesor Auxiliar.

³ Técnica en Farmacología.



Figura. *Matricaria recutita* L. (*manzanilla*).

MATERIALES Y METODOS

Preparación del extracto fluido

El extracto fluido se elaboró según las normas nacionales,^{4,5} con un mensturo hidroalcohólico al 30 % (Empresa "Saúl Delgado", Ciudad de La Habana, Lote No. F-539211038), con las siguientes especificaciones: contenido alcohólico 25,8 %; sólidos totales 18,8 g/100 mL y aceites esenciales 0,12 mL/100mL.

La utilización de extracto fluido se debe a que constituyen formas más estandarizadas y empleadas para procesar drogas vegetales a nivel dispensarial, las cuales pueden servir como materia prima para elaborar otras formas farmacéuticas.^{6,7}

Evaluamos el extracto fluido con mensturo de etanol al 30 % porque es el más cercano a la forma tradicionalmente empleada que es la infusión.

Técnicas de órgano aislado

Existen diferentes modelos para evaluar la actividad antiespasmódica *in vitro*. Cuando se desea una preparación con poca motilidad espontánea, muchos autores emplean íleon de curiel, y cuando la motilidad resulta útil, el yeyuno o el íleon de conejo.^{8,9}

Yeyuno aislado de conejo

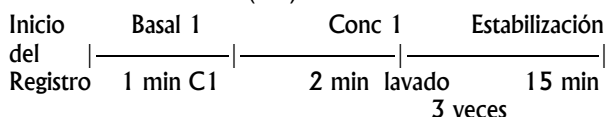
Se emplearon conejos híbridos (semigigante blanco con Nueva Zelanda, de uno y otro sexos y peso entre 3 y 3,5 kg), procedentes del CENPALAB.

Privados de alimentos por 24 horas antes del experimento, fueron sacrificados por dislocación cervical y desangrados seccionando los vasos del cuello. Realizamos una laparotomía y se extrajo un segmento de yeyuno de 20 cm de longitud, este fue sumergido en solución Tyrode a 37 °C, cortándolo en segmentos de 2 cm de longitud despojados de la envoltura mesentérica y atándoles con seda quirúrgica ambos extremos sin ocluir la luz intestinal. Una vez preparados se colocaron en baño para órgano aislado que contenía 15 mL de solución Tyrode a 37 °C⁸⁻¹⁰ con la siguiente composición en milimoles por litro: ClNa = 136,900; ClK = 2,680; Cl₂Mg . 6H₂O = 0,049; Cl₂Ca . 2H₂O = 1,800; NaH₂PO₄ . H₂O = 0,360; NaHCO₃ = 1,900 y C₆H₁₂O₆ = 5,550.

La solución fue burbujeadada con una mezcla de 95 % de oxígeno y 5 % de dióxido de carbono.⁹ Los segmentos se acoplaron a un transductor fuerza-desplazamiento conectado a un polígrafo Nihon-Khoden RM-6000 y esperamos 30 minutos, antes y después de aplicar una tensión de 1 g, para comenzar el registro (velocidad de 25 mm/minuto y con sensibilidad 20). Solo se utilizaron dos segmentos por cada animal y aplicamos el siguiente esquema:

Yeyuno de conejo: secuencia de trabajo

1. Basal 1 (motilidad espontánea inicial).
2. Concentración 1 (de la sustancia que se debe probar (C1))
3. Basal 2.
4. Concentración 2 (C2).
5. Basal 3.
6. Concentración 3 (C3).



...Continuación del registro para C2 y C3, se repiten los mismos pasos.

En cada registro determinamos las variables amplitud y frecuencia durante el tercer minuto. La amplitud de cada contracción fue la medida en milímetros del desplazamiento, desde la línea de base hasta el máximo alcanzado; consideramos la mayor contracción de la Basal 1 como el 100 % y calculamos los valores porcentuales de las restantes. Para la frecuencia, tomamos el número de contracciones producidas.

En todas las series experimentales consideramos control a la Basal 1 y la muestra fue igual a 10 (n=10).

Las dosis y el momento de administración del extracto de *M. recutita* (0,0188; 0,0940 y 0,1880 mg/mL) y de la papaverina (0,0046; 0,0066 y 0,0130 mg/mL) fueron determinados en experiencias previas, para que éstas provocaran en la amplitud alrededor del 20 % de inhibición para la dosis menor y el 80 % para la mayor.

Ileon aislado de curiel

Se utilizaron curieles albinos Dunkin-Hartley (de uno y otro sexos, 250-300 g) procedentes del CENPALAB, privados de alimentos por 24 horas antes del experimento.

Para la extracción y preparación de los segmentos de íleon se procedió de igual forma que en el yeyuno aislado de conejo, mediante la solución Tyrode modificada,⁹ con la siguiente composición en milimoles por litro: ClNa = 136,900; ClK = 2,680; Cl₂Mg . 6H₂ = 1,275; Cl₂Ca . H₂O = 1,183; NaH₂PO₄ . H₂O = 0,360; NaHCO₃ = 1,900 y C₆H₁₂O₆ = 5,550.

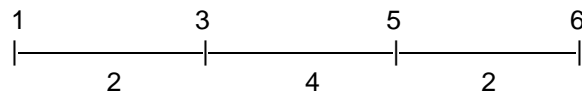
Los parámetros de registro del polígrafo fueron: velocidad 5 mm/min y sensibilidad 20; según el siguiente esquema para cada agonista (espasmógenos) en presencia de los antagonistas (*M. recutita* o papaverina):

Ileon de curiel: secuencia de trabajo

1. Primera contracción con agonista (Ag) 1.
2. Lavado tres veces-reposo 5 min, lavado una vez-reposo 5 min.
3. Segunda contracción con agonista 1.
4. Lavado tres veces-reposo 5 min, lavado una vez, añadir antagonista 1 e incubar 5 min.
5. Contracción con agonista 1 en presencia de antagonista 1.

6. Contracción con agonista 1 para observar recuperación.

Los pasos del 1 al 3 se repiten hasta obtener dos contracciones similares.



En cada registro determinamos la amplitud de la contracción, midiendo el desplazamiento en milímetros producido por la respuesta contráctil inducida por el espasmógeno a partir de la línea de base. Se consideró como el 100 % de respuesta a la mayor amplitud alcanzada al emplear el agonista correspondiente para cada serie experimental (control) y calculamos los valores relativos en por ciento de las restantes respuestas; contracciones con el agonista sólo y con el agonista en presencia del antagonista. Para cada serie la muestra fue igual a 10 (n=10).

Se utilizaron concentraciones fijas de los agonistas (cloruro de bario 0,2 mg/mL; acetil colina 0,06 mgx10⁻³/mL e histamina 0,05x10⁻³ mg/mL) cada uno fue evaluado frente a tres concentraciones de los antagonistas (extracto fluido de *M. recutita* 0,188; 0,564 y 0,940 mg/mL y papaverina 0,0033; 0,0066 y 0,0130 mg/mL). Las dosis y el tiempo de aplicación fueron determinadas en experiencias previas, se tuvo en cuenta que las concentraciones de los agonistas no produjeran respuestas máximas.

Análisis estadístico

Los datos de los diferentes experimentos se sometieron a prueba de normalidad. Cuando la distribución fue normal, se aplicó análisis de varianza modelo de clasificación simple y cuando éste fue significativo realizamos una "t" para la comparación de medias. Se tomó como nivel de significación p < 0,05.

La estimación de la dosis que produjo como promedio una respuesta del 50 % de relajación con respecto al control, se realizó mediante una regresión lineal y en el extracto al 30 % de *M. recutita* se calculó para la dosis de sólidos totales. El procesamiento se realizó con el programa Microstat.

RESULTADOS

Efectos sobre la motilidad espontánea del yeyuno aislado de conejo

El extracto fluido y la papaverina modificaron la amplitud significativamente (tabla 1).

Tabla 1. Efecto de la *M. recutita* sobre la motilidad espontánea (amplitud) en yeyuno aislado de conejo

	B1	C1	B2	C2	B3	C3
Extracto fluido 30 %	87,66 ±5,90	78,16* ±12,30	85,75 ±10,42	47,08* ±13,85	86,41 ±10,47	27,91* ±11,78
Papaverina	87,60 ±2,19	66,68* ±29,99	91,92 ±18,83	65,65* ±41,62	97,67 ±14,08	34,60* ±21,19

Valores: Medias ± desviaciones estándares.

Basales 1, 2 y 3: B1, B2 y B3. * $p < 0,05$.

Tabla 2. Efecto de la *M. recutita* sobre la motilidad espontánea (frecuencia) en yeyuno aislado de conejo

	B1	C1	B2	C2	B3	C3
Extracto de fluido 30 %	14,30 ±6,62	14,00 ±2,72	15,00 ±2,36	14,50 ±2,32	15,00 ±1,82	14,00 ±1,83
Papaverina	13,50 ±1,58	11,90 ±2,23	12,70 ±1,88	11,60 ±2,06	12,30 ±1,16	11,50 ±2,32

Tabla 3. Efecto de la *M. recutita* sobre las contracciones inducidas por espasmógenos en íleon aislado de curiel

	B1	C1	B2	C2	B3	C3
Cloruro de bario 200 mg/mL	97,31 ±1,73	61,17* ±8,67	95,06 ±4,10	12,43* ±5,30	94,09 ±4,30	7,60* ±7,24
Acetilcolina 0,06 mg/mL	96,19 ±2,51	52,71* ±15,12	92,29 ±4,05	14,42* ±5,23	95,73 ±4,80	15,09* ±8,10
Histamina 0,05 mg/mL	90,49 ±7,28	48,25* ±15,74	95,39 ±6,05	34,53* ±17,00	95,44 ±3,91	12,03* ±5,56

Valores: Medias ± desviaciones estándares.

Basales 1, 2 y 3: B1, B2 y B3. * $p < 0,05$.

Tabla 4. Efecto de la papaverina sobre las contracciones inducidas por espasmógenos en íleon aislado de curiel

	B1	C1	B2	C2	B3	C3
Cloruro de bario	97,71 ±1,07	84,97* ±9,27	97,08 ±1,66	77,73* ±8,43	97,06 ±1,95	16,24* ±5,53
Acetilcolina	96,80 ±2,52	78,35* ±25,52	97,76 ±2,15	48,89* ±5,17	97,41 ±2,03	12,62* ±12,40
Histamina	96,40 ±2,91	78,68* ±19,64	98,18 ±8,45	55,04* ±8,45	98,52 ±2,01	21,92* ±10,53

Valores: Medias ± desviaciones estándares.

Basales 1, 2 y 3: B1, B2, B3. * $p < 0,05$.

Tabla 5. Dosis estimadas que producen 50 % de relajación para *M. recutita* y papaverina en íleon de curiel

Agonistas (mg. 10 ⁻³ /mL)	Dosis estimada de antagonista		
	Sólidos totales (mg/mL)	Aceite esencial (mg. 10 ⁻³ /mL)	Papaverina (mg/mL)
Cloruro de bario (220)	0,3668	2,34	0,0065
Acetilcolina (0,06)	0,4374	2,28	0,0061
Histamina (0,05)	0,3915	2,38	0,0068

Concentraciones en el baño (mg/mL)

	C1	C2	C3
Extracto fluido 30 %	0,0188	0,0940	0,1880
Papaverina	0,0046	0,0066	0,0130

El extracto fluido y la papaverina mostraron una tendencia de dosis dependiente.

El extracto fluido y la papaverina no provocaron una reducción significativa de la frecuencia de las contracciones en relación con las basales (control), y con las diferentes concentraciones aplicadas, aunque en ambos observamos una tendencia a disminuirla (tabla 2). El extracto fluido y la papaverina mostraron una tendencia dosis dependiente sobre la amplitud de las contracciones, por lo cual fue estimada la concentración que puede producir un 50 % de relajación respecto a la contracción máxima obtenida en las basales, resultó en el extracto de *M. recutita* de 0,1072 mg/mL de sólidos totales ($6,84 \times 10^{-3}$ mg/mL de aceites esenciales) y en la papaverina fue de 0,0087 mg/mL.

Efectos sobre las contracciones inducidas en el íleon aislado de curiel

El extracto fluido las concentraciones de 0,188; 0,564 y 0,940 mg/mL redujo significativamente la amplitud de las contracciones inducidas por cloruro de bario, acetilcolina e histamina; se aprecia que la dosis más alta provocó mayor reducción de la contracción (tabla 3).

Concentraciones de *M. recutita* en el baño (mg/mL): C1 = 0,188; C2 = 0,564 y C3 = 0,940.

La papaverina en las concentraciones de 0,0033, 0,0066 y 0,0130 mg/mL también provocó una reducción significativa ($p < 0,05$) de la amplitud de las contracciones inducidas por los diferentes espasmógenos (agonistas) (tabla 4).

Concentraciones de papaverina en el baño (mg/mL): C1 = 0,0033; C2 = 0,0066 y C3 = 0,0130.

Estimamos la concentración que puede producir una reducción del 50 % con respecto a la contracción máxima alcanzada con cada agonista (tabla 5).

DISCUSION

La *M. recutita* se utiliza en nuestra población y otros países como antiespasmódica,¹⁻³ hecho que nos motivó a estudiar el efecto del extracto fluido de la planta de producción nacional sobre la motilidad espontánea y las contracciones inducidas por varios

espasmógenos en órganos aislados.

Al analizar el efecto de nuestro extracto sobre el yeyuno de conejo, encontramos que redujo la amplitud de las contracciones espontáneas, lo que valida la acción antiespasmódica referida en la medicina popular¹⁻³ y se corresponde con lo hallado experimentalmente por otros autores.^{11-13,16}

Hay discrepancias en los reportes sobre la actividad relativa entre la papaverina y extractos de *M. recutita*; se ha indicado que la acción de esta última es de tres a cuatro veces más débil,¹³ que es superior¹⁴ o incluso similar a la papaverina.² Nuestros resultados indican que el extracto fluido al 30 % de *M. recutita* tiene menor actividad relativa al comparar las dosis, sobre la base de los sólidos totales, necesarias en relación con la papaverina en los modelos estudiados. Así, en el yeyuno de conejo se necesitó una dosis de *M. recutita* aproximadamente 12,3 veces mayor que de papaverina, mientras que en el íleon de curiel se requirieron dosis del extracto de 56,4, 57,5 y 71,7 veces mayores con respecto a la papaverina frente a los agonistas cloruro de bario, histamina y acetilcolina, respectivamente.

Sin embargo, las dosis empleadas de *M. recutita* calculadas sobre la base de aceite esencial parecen ser considerablemente menores que las referidas a sólidos totales y también sería más activo que la papaverina.

De forma similar la papaverina mostró un efecto relajante del músculo liso intestinal, que coincide con lo reportado sobre esta droga.¹⁵ No obstante, en la frecuencia de las contracciones hubo una tendencia a la disminución que no resultó significativa, lo que difiere de lo hallado por otros autores.^{15,16} Consideramos que este resultado se puede deber a nuestras condiciones experimentales, debido a que algunos investigadores también han encontrado comportamientos diferentes de la frecuencia; así Manzini *et al.*,¹⁶ hallaron que la papaverina redujo la frecuencia marcadamente en el colon de rata y en menor grado para el duodeno de conejo mediante el empleo de dosis similares a las nuestras. Otros, como Martin *et al.*¹⁷ reportan que la papaverina no modificó de forma importante esta variable en íleon y duodeno de rata.

En nuestro laboratorio hemos determinado que el etanol hasta el 56 % no provoca variaciones significativas en los parámetros evaluados, lo que está en concordancia con la literatura, donde se reporta que el alcohol en cantidades moderadas no influye significativamente y sólo en dosis tóxicas produce cese virtual de las funciones secretoras y motoras gastrointestinales.¹⁸

La ausencia de efecto del etanol sugiere que el efecto observado con el extracto fluido al 30 % de *M. recutita* es atribuible a las sustancias extraídas y contenidas en los sólidos totales, en el aceite esencial o en ambos.

Otro hecho que confirma el efecto espasmolítico de nuestro extracto es la respuesta obtenida en el íleon aislado de curiel, donde inhibió marcadamente las contracciones inducidas con cloruro de bario, acetilcolina e histamina, por lo que se observan mayores efectos al emplear dosis más altas. La papaverina mostró un comportamiento parecido.

Nuestros resultados no permiten concluir el modo de acción de la *M. recutita* pero podemos señalar que en general lo hace de manera similar a la papaverina.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los modelos estudiados y su coincidencia con otros autores que emplean preparaciones similares a las nuestras, al evaluar diferentes compuestos sintéticos e incluso plantas medicinales,^{17,19,20} podemos afirmar que el extracto fluido al 30 % de *M. recutita* tiene actividad espasmolítica en el músculo liso intestinal.

CONCLUSIONES

1. El extracto fluido al 30 % de *M. recutita* tiene acción espasmolítica, al inhibir la actividad espontánea del yeyuno aislado de conejo y las contracciones inducidas por los espasmógenos empleados en el íleon aislado de curiel.
2. El extracto fluido mostró una acción similar a la papaverina en los modelos estudiados.

SUMMARY

Matricaria recutita (chamomile) is a plant very used in Cuban traditional medicine and in other countries. Among its properties are some related to possible spasmolytic action in digestive system. Activity of fluid extract from *M. recutita*, processed with menstruum 30 % ethanol-water in isolated models of jejunum of rabbit and ileum of guinea pig is assessed; papaverin was used as reference drug. Fluid extract decreased, in a dose-dependent fashion, amplitude of spontaneous contractions in model of jejunum isolated from the rabbit and also inhibited induced contractions by barium chloride, acetylcholine and histamine in ileum isolated from guinea pig in similar way to papaverin. Activity of extract from *M. recutita* was superior to reference drug in both cases.

Key words: Medicinal plants; Spasmolytic agents; *Matricaria recutita* L.; Astereaceae; Isolated organ.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas en Cuba. La Habana; Editorial Científico-Técnica, 1988:624.
 2. Robineau L. Hacia una farmacopea caribeña. Seminario TRAMIL 5 y 6. Santo Domingo: Enda-Caribe, 1993:223.
 3. Acosta de la Luz L, Triana JE. La manzanilla prodigio de la medicina verde. 2. ed. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1990:66-78.
 4. Cuba. Ministerio de Salud Pública. Normas ramales de medicamentos de origen vegetal. Drogas crudas. La Habana: Editorial Ciencias Médicas, 1992:10-2.
 5. ———. Normas ramales de medicamentos de origen vegetal. Tinturas y extractos fluidos. La Habana: Editorial Ciencias Médicas, 1992.
 6. Martin EW. Farmacia práctica de Remington. La Habana: 1972:400-6. (Edición revolucionaria)
 7. Gennaro AR. Remington's pharmaceutical sciences. 18. ed. Pennsylvania: Mack, 1990:1543-4.
 8. Pharmacological experiments on isolated preparation. 2. ed. Edinburgh: E and S Livingstone, 1970:58-70.
 9. Blattner R, Classen HG, Dehnert H, Doring HJ. Studies on the isolated ileum of the guinea pig. En: Barnden IM, Colson R, eds. Experiments on isolated smooth muscle preparation. Freiburg: Hugo Sachs Elektronik KG, 1980:53-66.
 10. Sainz DF, Miyares C, García M. Técnicas de farmacología Experimental. La Habana: Editorial Ciencia y Técnica, 1972:131-4.
 11. Kreitmar H. Matricaria chamomilla L.- die echte kamile. Pharmazie 1951;6(1):65-7.
 12. Sorm F. Isolation of spasmolytic substances from Matricaria chamomilla. Chem Listy 1952;46:308-9.
 13. Hava M, Janku I. The broncodilating action of apigenine. J Physiol 1958;50:309-10.
 14. Hoerhammer L. Flavones of compositae and papilionaceae III. New flavone glucosides obtained from Matricaria chamomilla. Arzneimittel forschung. 1963;13:33-6.
 15. Needleman P, Johnson EM. Los vasodilatadores y el tratamiento de la angina. En: Gilman AG, Goodman LS, Gilman A. eds. Las bases farmacológicas de la terapéutica. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1984:820.
 16. Manzini S, Maggi CA, Meli A. System and organo selectivity of smooth muscle relaxants on in vitro spontaneously contracting preparations. Arch Int Pharmacodyn Ther. 1984;270(1):50-60.
 17. Martin JS, Tansy MF. Comparison of the inhibitory effects of spermine, papaverine and adrenaline upon isolated segments of the rats small intestine. Clin Exp Pharmacol Physiol 1986;13(1):87-90.
 18. Rall TW. Hipnóticos y sedantes. En: Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P, eds. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8.ed. México DF: Editora Médica Panamericana, 1991:369-75.
 19. Hazelhoff B, Malingre TM, Meijer DK. Antiespasmolytic effects of Valeriana compounds: an in vitro and in vivo study on the guinea-pig ileum. Arch Int Pharmacodyn Ther 1982;257(2):274-87.
 20. Marhuenda E, et al. Actividad espasmolítica de la fracción flavónica de Thymus carnosus Boiss. An R Acad Farm 1988;54 (4):644-54.
- Dr. Francisco Morón Rodríguez. Facultad de Medicina "Dr. Salvador Allende". Carvajal s/n esquina Agua Dulce, Cerro, Ciudad Habana, Cuba. CP: 12000