

Trabajo científico**Evaluación toxicológica y farmacológica del extracto etanólico de las semillas de *Swietenia humilis* Zucc (caobilla)****Toxicological and pharmacological evaluation of the ethanolic extract of seeds *Swietenia humilis* Zucc (caobilla)**

Lilia Rico-Rodriguez,¹ Delfina Esmeralda Gómez-Flores,¹ Rocío Ortiz-Butron,³
Edgar Cano-Europa,² Margarita Franco-Colín²

¹Laboratorio de cultivo de tejidos. Departamento de Fisicoquímica. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas –IPN. Campus Santo Tomás

²Laboratorio de Metabolismo I. Departamento de Fisiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas –IPN. Campus Zacatenco

³Laboratorio de Neurobiología. Departamento de Fisiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Campus Zacatenco –IPN

Resumen

Las semillas de *Swietenia humilis* Zucc, se consumen de forma tradicional, en muchas comunidades del estado de Sinaloa y en otras partes del interior de la República Mexicana, por sus propiedades curativas en el tratamiento de diferentes enfermedades como la parasitosis, la diarrea, la hiperglucemia y en algunas condiciones como el sobrepeso. Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo fue realizar el estudio farmacológico del extracto etanólico de las semillas de *Swietenia humilis* Zucc. Dicho estudio consistió en la determinación de la dosis letal 50 (DL₅₀) y las actividades antinociceptiva y anticonvulsiva, en ratones adultos de la cepa NIH (National Institute of Health). También, se evaluaron sus efectos espasmolítico *in vitro* y su capacidad antioxidante. Los resultados demuestran que la DL₅₀ resultó mayor a 100 mg/Kg, por lo que su uso es seguro. Con respecto a la actividad antinociceptiva, todas las dosis del extracto que fueron probadas disminuyeron el número de contorsiones inducidas por la administración de ácido acético. El extracto no presentó actividad anticonvulsiva ni antioxidante, pero si la actividad espasmolítica. Los efectos antinociceptivo y espasmolítico encontrados en el presente trabajo no se han reportado, por lo que se sugiere continuar con la evaluación del extracto para elucidar las estructuras responsables de dichos efectos.

Abstract

The seeds of *Swietenia humilis* Zucc, traditionally consumed in many communities in the state of Sinaloa and other parts of the interior of Mexico for its healing properties in the treatment of different diseases like parasitosis, diarrhea, hyperglycemia and some conditions as overweight. Therefore the objective of this study was performed a pharmacological study of the ethanolic extract of the *Swietenia humilis* Zucc seeds. This study consisted in the determination of antinociceptive, and anticonvulsant activities of lethal dose 50 (LD₅₀), in adults mice NIH. The *in vitro* spasmolytic effect and the antioxidant capacity were evaluated too. It was found that the LD₅₀ was higher than 100 mg/Kg so their use is secure. With respect to the antinociceptive activity, all the administered doses reduce the number of contortions induced by acetic acid administration. The extract had not anticonvulsant activity and they did not show antioxidant activity, however it had spasmolytic activity. There were not else where reports about its spasmolytic and antinociceptive effects, therefore it is suggested to continue the evaluation of this extract to elucidate the structures responsible for these effects.

Palabras clave: *Swietenia humilis* Zucc, dosis letal 50, antinociceptivo, anticonvulsivante, espasmolítico.

Key words: *Swietenia humilis* Zucc, Letal Dose 50, antinociceptive, anticonvulsant, spasmolytic

Correspondencia:

Dra. Margarita Franco Colín
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Departamento de Fisiología
Av. Wilfrido Massieu s/n, Esq. Manuel L. Stampa, Col.
Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Del. Gustavo A,
Madero, C.P. 07738 México D.F.
Tel. 57296300 ext. 52334
e-mail: mfc22405@yahoo.com.mx

Fecha de recepción: 03 de marzo de 2014
Fecha de recepción de modificaciones:
22 de agosto de 2014
Fecha de aceptación: 8 de septiembre de 2014

Introducción

El árbol de *Swietenia humilis* Zucc, pertenece a la familia Meliaceae es conocido como “zopilote”, “cobano”, “caobilla”, mide más de 20 m de altura, crece comúnmente en las áreas tropicales de México, Centro y Sudamérica, en algunos de estos lugares los árboles se pueden observar creciendo como individuos aislados, por el grado de fragmentación de sus poblaciones nativas, a causa de la deforestación.^{1,2} Desde 1973, *Swietenia humilis* Zucc, fue enlistada en el Apéndice II de la Convención Internacional de Comercio de Especies en Riesgo de la Flora y la Fauna (CITES). Se ha reportado que los extractos metanólicos de las semillas de *Swietenia humilis* Zucc presentan actividad insecticida,³ debido a la presencia de limonoides,⁴ también presenta tetranortriterpenoides⁵ a los cuales se les ha atribuido actividad anticancerígena, otros reportes mencionan un efecto antifúngico,⁶ también se ha reportado que el extracto presenta actividad antimicrobiana en la especie azadarita.⁷ Por otra parte se han realizado estudios fitoquímicos del extracto de las semillas de *Swietenia humilis* que muestran la presencia de al menos 11 humilinoídes⁴ también existen reportes que describen la presencia de alcaloides, ácidos grasos y taninos en especies de la familia Meliaceae.⁸ Además de un gran número de estudios que reportan el efecto hipoglucemiante de diferentes géneros de la familia Meliaceae como *Swietenia macrophylla*,^{9,10,11} *Polygonum senegalensis*, *Pseudocedrela kotschy*,¹² *Swietenia mahagoni*^{13,14} y *Toona sinensis*.^{15,16} El efecto antidiabético ha sido atribuido a la presencia de flavonoides,¹⁶ al contenido de swietenina¹⁰ y al contenido de un tetranortriterpenoide llamado meliacinolino que tiene capacidad para inhibir la actividad de las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa.¹⁷ También, existen reportes que mencionan el efecto hipolipemiante y antioxidante de *Swietenia mahagoni*¹³ sin embargo, en el caso de *Swietenia humilis* no existen reportes acerca de sus propiedades toxicológicas y farmacológicas¹⁸ por tal motivo, el objetivo general de este trabajo fue determinar la evaluación farmacológica del extracto etanólico de las semillas de *Swietenia humilis*. Los objetivos específicos fueron determinar 1) la toxicidad, 2) el efecto antinociceptivo, 3) el efecto anticonvulsivante, 4) la actividad espasmolítica y 5) la actividad antioxidante del extracto etanólico de las semillas de *Swietenia humilis*, resultados que demostrarían el consumo seguro de esta especie.

Material y métodos

Semillas

Se colectaron semillas del árbol *Swietenia humilis* Zucc.¹⁹ La colecta se realizó por la mañana durante la primavera del año 2010 y debido a que la concentración de principios activos se

modifica por la intensidad de la luz, se decidió realizar la colecta durante el día, en el Municipio de Salvador Alvarado, estado de Sinaloa, México. Las semillas de *Swietenia humilis* Zucc, fueron identificadas por el Dr. Rafael Fernández Nava y depositadas en el Herbario de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional (I.P.N.), ubicado en el Campus Santo Tomás, México DF.

Preparación del extracto etanólico

Se procedió a realizar la técnica de secado y maceración de las semillas de acuerdo con el método descrito por Angulo y colaboradores.⁶ Las semillas se secaron a la sombra durante 20 días, se pesaron y pulverizaron en un procesador de alimentos (Oster modelo 465-62). Debido a que extractos etanólicos obtenidos de algunas especies de la familia Meliaceae presentan alcaloides, ácidos grasos y taninos,⁸ se realizó el macerado de las semillas en 500 mL de etanol 96° por 10 días a 24 °C, en oscuridad. Se evaporó el disolvente en un evaporador (rotavapor Buchi R-114) a presión reducida de 10 pg. Hg y 60 °C. El extracto obtenido se conservó a 5 °C, hasta realizar las pruebas correspondientes al estudio farmacológico.

Todos los procedimientos experimentales descritos en este estudio, se realizaron con base en las Leyes y Códigos descritos en el Capítulo Séptimo del Reglamento de la Ley General de Salud y la Investigación en Salud de México.²⁰

Los animales fueron proporcionados por el bioterio de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del I.P.N. El número de éstos se apegó a la NOM-062-ZOO-1999, que se refiere a las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.²⁰

Dosis letal 50 (LD₅₀)

Para determinar la dosis letal 50 (DL₅₀) se utilizó el método modificado de Lorke.²¹ Se emplearon 12 ratones macho adultos de la cepa NHI, con un peso promedio de 30 g, los cuales se alojaron en una cámara con temperatura y humedad regulada (21 ± 1 °C y 40 – 60 %, respectivamente), ciclos de luz / oscuridad de 12/12 horas, con alimento para roedores (rat chow) y agua de la llave a libre demanda. Los animales se dividieron aleatoriamente en 4 grupos experimentales cada uno con tres animales, a los cuales se les administró el extracto completo por vía intraperitoneal (i.p.) en las siguientes dosis 1, 10 y 100 mg/Kg. El grupo control recibió por esta vía, únicamente el vehículo (solución salina). Los animales se mantuvieron en observación durante 15 días, tiempo en el cual se determinaron alteraciones físicas y motoras, piloerección, irritación ocular, convulsiones o muerte.

Efecto antinociceptivo

Para determinar si el extracto etanólico de *Swietenia humilis* Zuc

presenta efecto antinociceptivo, se realizó la prueba de dolor visceral²² medido por el número de contorsiones abdominales. Un lote de 12 ratones macho de la cepa NH1, con un peso promedio de 30 g se dividió aleatoriamente en 4 grupos experimentales (n=3). Los tres primeros recibieron por vía i.p. dosis crecientes (1, 10 y 100 mg/kg) del extracto etanólico de *Swietenia Humilis Zucc*, mientras que el grupo control sólo recibió el vehículo (solución salina). Los animales se colocaron en cajas de acrílico (26 x 15 x 12.5 cm) y luego de treinta minutos se administró por vía i.p. una dosis de 10 mL/kg de ácido acético al 0.6 %. Se cuantificó el número de estiramientos abdominales (contorsiones) que presentaron los animales de experimentación, cada cinco minutos durante veinte minutos.

Efecto anticonvulsivante

Se emplearon 10 ratones macho de la cepa NH1, con un peso promedio de 30 g, los cuales se colocaron en cajas de acrílico (26 x 15 x 12.5 cm). Las dosis del extracto probadas fueron 50 y 100 mg/Kg. Treinta minutos después de la administración del extracto, se administró 5 mg/kg de pentilenotetrazol (PTZ) (SIGMA).²³ Se cuantificó durante veinte minutos, la presencia o ausencia de convulsiones y el tiempo de duración de éstas.

Actividad espasmolítica

La actividad espasmolítica se determinó en duodeno de conejo, debido a que es un modelo ampliamente utilizado para determinar la actividad contráctil intestinal. Se utilizaron 6 conejos macho albinos, con un peso promedio de 3.5 kg. Se mantuvieron en jaulas individuales, en una cámara con temperatura y humedad regulada (20 ± 1 °C y 40 – 60 %, respectivamente), ciclos de luz / oscuridad de 12/12 horas, con alimento y agua a libre demanda. Antes de la prueba estos animales tuvieron un ayuno de 4 h.

Se utilizaron cámaras para órgano aislado llenas con la solución fisiológica de Tyrode (tabla 1), las cuales se colocaron en un baño de agua a 37 °C \pm 1 °C, con aireación constante (1 burbuja/segundo) y un sifón eficiente, para realizar lavados del órgano.

Constituyentes de la solución fisiológica.

Tabla 1. Composición de la solución fisiológica de Tyrode en la cual se mantiene al intestino de conejo

Constituyentes	g/L
NaCl	8
KCl	0.2
CaCl ₂	0.2
MgCl ₂ 6H ₂ O	0.1
NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	0.05
NaHCO ₃	1
Glucosa	1

Los conejos se sacrificaron con una dosis de 70 mg/Kg de pentobarbital sódico administrado por vía intraperitoneal. De cada animal, se obtuvo una porción de intestino de 2 cm (duodeno, localizado inmediatamente a continuación del estómago), el cual se sujetó con ayuda de hilo de algodón, a un extremo del soporte de la cámara teniendo cuidado que la luz intestinal no quedara ocluida, mientras que el otro extremo se sujetó a un transductor de fuerza (Biopac system Inc.), el cual se encuentra conectado a un equipo de Biopac, para registrar las contracciones del músculo liso intestinal.

Se dejó estabilizar la preparación durante 10 min, realizando dos lavados cada 10 min, abriendo el desagüe de la cámara y posteriormente, se llenó la cámara con solución de Tyrode a 37°C.²⁴ Cuando se obtuvo la actividad contráctil basal, se agregaron los fármacos de referencia (acetilcolina 10⁻⁵ mg/mL y adrenalina 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷ y 10⁻⁸ mg/mL) y posteriormente el extracto etanólico de *Swietenia humilis Zucc* a las dosis de 1, 0.3, 0.1, 0.03, 0.01 mg/mL.

El sacrificio de los animales se realizó siguiendo las especificaciones de la NOM-033-ZOO-1995.

Una vez concluidas las pruebas, los cadáveres de los animales se manejaron de acuerdo a la norma NOM-087-ECOL-1995 (disposición final de productos biológicos, excretas y cadáveres).

Actividad antioxidante

Se determinó el efecto neutralizante del peróxido de hidrógeno, siguiendo la técnica descrita por Zhao.²⁵ Se agregó 1 mL de peróxido de hidrógeno (0.1 mM) a 1 mL del extracto etanólico de las siguientes concentraciones (1, 10 y 100 mg/mL), posteriormente a cada uno, se adicionaron 2 gotas de molibdato de amonio (3 %), más 10 mL de ácido sulfúrico (2M) y 7 mL de yoduro de potasio (1.8 M). Después de 3 minutos, se tituló con una solución de sulfito de sodio (5.09 mM) hasta la desaparición del color.

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como la media \pm el error estándar y se analizaron mediante una prueba ANOVA de una vía. Los valores que presentaron * $P < 0.05$ fueron considerados estadísticamente diferentes. El análisis de los datos se realizó empleando el paquete estadístico SIGMA STAT.

Resultados y discusión

La figura 1 muestra la fotografía de *Swietenia humilis Zucc*, un árbol que alcanza una altura de 20 a 45 m, sus hojas son caducifolias a siempre verdes presenta inflorescencias sueltas

de cinco pétalos color verde amarillento, su fruto se presenta en una forma capsular de 8 a 20 cm de largo, con numerosas semillas aladas de 5 a 9 cm de longitud.¹⁹

Por otra parte la dosis letal media (DL₅₀) se ha establecido como un marcador tradicional de toxicidad aguda. Al realizar dicha prueba se encontró que, los animales administrados con las diferentes dosis del extracto, no presentaron ningún signo de toxicidad o muerte y la DL₅₀ calculada fue mayor a 100 mg/kg, de acuerdo a la escala de Loomis y Hayes,²⁶ y la clasificación de la OMS,²⁷ se sugiere que el extracto no presenta actividad tóxica.

El modelo de dolor visceral se realiza con base en la inyección de ácido acético,²⁸ la cual produce dolor abdominal provocando la estimulación de las fibras nociceptivas aferentes, esta estimulación es generada por la disminución del pH en la región abdominal y la producción de un proceso inflamatorio, caracterizado por la síntesis de prostaglandinas (PGE₂), productos de la ciclooxigenasa²⁹ y prostaciclina (PGI₂), así como citosinas proinflamatorias (IL8, IL1) y factor de necrosis tumoral (TNF α), todo esto genera la excitación de las fibras A δ que producen sensación de dolor.^{30,31} Los resultados del presente trabajo indican que la dosis de 1mg/mL disminuye en un 77.5% el número de contorsiones, en tanto la dosis de 10 mg/mL disminuyó un 62.5% y la dosis de 100mg/mL disminuyó en 80% el número de contorsiones. En resumen todas las dosis probadas del extracto etanólico de *Swietenia humilis* Zucc disminuyen significativamente el número de contorsiones provocadas por la administración de ácido acético, comparados con el grupo control (figura 2). Considerando, que la analgesia se manifiesta como un aumento en el período de latencia y la disminución del número de contorsiones, o ambos, los resultados obtenidos sugieren que el extracto presenta efecto analgésico posiblemente, contiene algún metabolito responsable de dicho efecto como es la presencia de alcaloides.



Figura 1. *SwieteniaHumilisZucc.*¹⁹

Por otro lado, se sabe que algunas plantas se utilizan de manera tradicional, por sus efectos sobre problemas nerviosos, neurológicos³² y sus propiedades relajantes, es por ello que en el presente trabajo, se evaluó el efecto anticonvulsivante del extracto etanólico de *Swietenia humilis* Zucc. Los resultados muestran que ninguna de las dosis probadas del extracto genera actividad anticonvulsiva (figura 3).

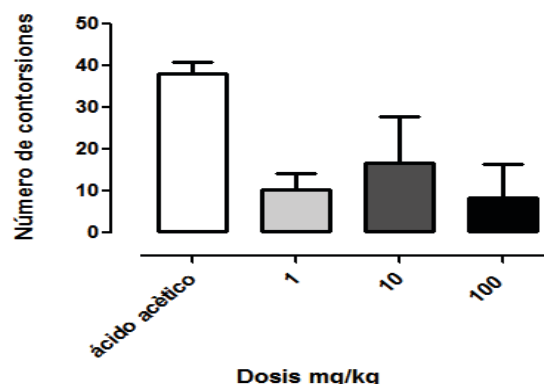


Figura 2. Muestra el número de contorsiones que se presentaron durante 20 min. En todo los grupos de experimentación. Los datos representan la media \pm el error estándar, n=6. * P = < 0.05 ANOVA unifactorial y Newman - Keuls.

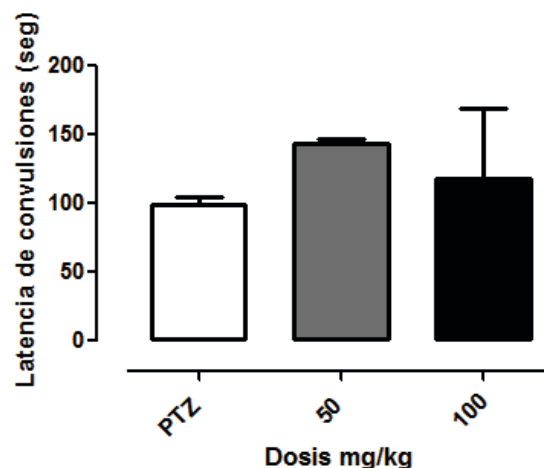


Figura 3. Representa el tiempo de duración de las convulsiones. Los datos representan la media \pm el error estándar, n = 3. ANOVA unifactorial NS.

El intestino delgado es un órgano, cuya actividad es modulada por el sistema nervioso autónomo (SNA). Es bien sabido que el tono y la motilidad intestinal son incrementados por la liberación de acetilcolina de las fibras parasimpáticas, que se une a receptores muscarínicos de los subtipos M₂ y M₃,^{32,33} activando una proteína Rho.³⁴ La actividad del músculo liso disminuye por la descarga de la división simpática y sus efectos son mediados por la liberación de noradrenalina al unirse a sus receptores adrenérgicos α_1 , β_3 y β_2 .^{35,36} En el presente experi-

mento se determinó la viabilidad del músculo liso al agregar diferentes dosis de adrenalina dosis dependiente (figura 4). Al administrar las diferentes dosis del extracto etanólico de *Swietenia humilis* Zucc se encontró una disminución de la frecuencia de contracción (figura 5), de la fuerza de contracción (figura 6) y del tono muscular del músculo liso intestinal (figura 7), lo que sugiere que el extracto contiene metabolitos que actúan como agonistas de receptores adrenérgicos, probablemente humilinoídes.³⁷ Algunos autores describen que la estimulación de receptores adrenérgicos β_2 ³⁸ disminuye la actividad contráctil del músculo liso intestinal. También, se ha señalado que la activación de receptores M_1 , induce la relajación del músculo liso. Otros autores mencionan la participación del neurotransmisor GABA en la disminución de la actividad contráctil del músculo liso intestinal.^{39, 40} Además, se ha reportado que el efecto espasmolítico de extractos de plantas podría deberse a la disminución de la concentración de calcio.⁴¹ También se ha encontrado el efecto espasmolítico en algunas plantas de uso tradicional para curar la diarrea, como *Coniza filaginoides*, *Roton fragilis*, *Dodonae viscosa*, *Gimnosperma glutinosum*, *Parfemiu tomentosum*. Se ha sugerido que este efecto, puede deberse a la presencia de algunos compuestos contenidos en el extracto etanólico, como alcaloides, saponinas, flavonoides o aceites esenciales.⁴² Por otro lado también se ha reportado que, algunos alcaloides derivados de los hongos como son la ergovalina y la ergotamina tienen un efecto opuesto al incrementar la actividad del músculo liso intestinal.⁴³

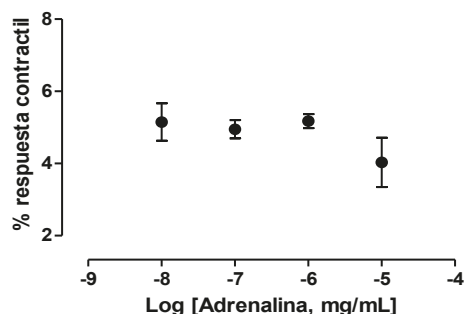


Figura 4. Muestra el porcentaje de respuesta contráctil de músculo liso intestinal, dependiendo de la dosis de adrenalina.

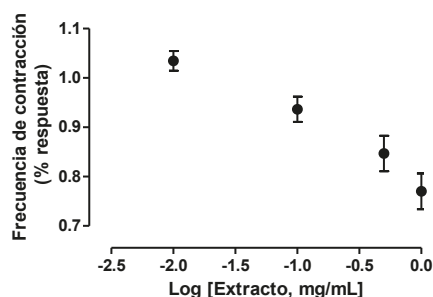


Figura 5. Efecto de dosis crecientes del extracto sobre la frecuencia de contracción del músculo liso intestinal, n = 6. * P = 0.0403 ANOVA unifactorial.

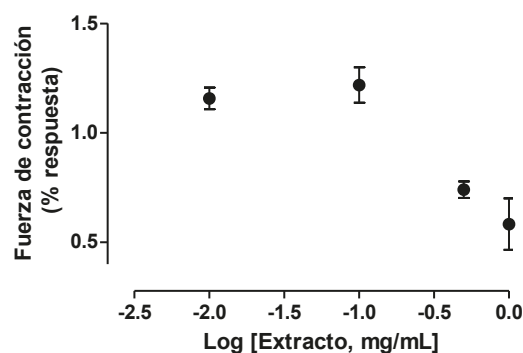


Figura 6. Efecto del extracto sobre la fuerza de contracción del músculo liso intestinal, n = 6. * P = 0.0383 ANOVA unifactorial.

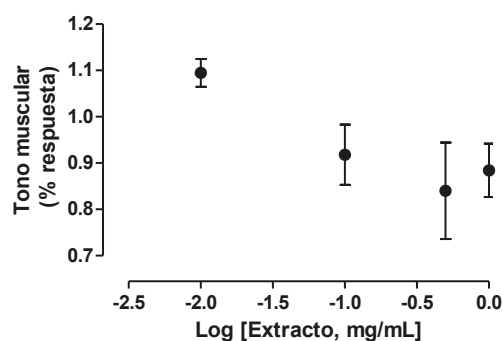


Figura 7. Efecto del extracto sobre el tono muscular del músculo liso intestinal, n = 6. * P = 0.0231 ANOVA unifactorial.

Muchas plantas medicinales presentan actividad antioxidante, la cual es responsable de los beneficios curativos, ya que las alteraciones en la función de los tejidos se desencadenan por el aumento de especies oxidantes. Al realizar la prueba de neutralización del peróxido de hidrógeno del extracto etanólico de *Swietenia humilis* Zucc no presentó actividad antioxidante.

El uso tradicional de las semillas de *Swietenia humilis* Zucc en la diabetes mellitus ha sido científicamente confirmado, sin embargo, los efectos antinociceptivo y espasmolítico encontrados en el presente trabajo no han sido reportados, por lo que se sugiere continuar con el análisis del extracto para dilucidar las estructuras responsables de estos efectos.

Conclusiones

El extracto etanólico de *Swietenia humilis* Zucc presenta efectos antinociceptivo y espasmolítico.

El extracto etanólico de *Swietenia humilis* Zucc no presenta efectos anticonvulsivante ni antioxidante.

Referencias

- White GM, Boshier DH, Powell W. Genetic variation within a fragmented population of *Swietenia humilis* Zucc. Mol Ecol. 1999; 8(11):1899-909.
- White GM, Boshier DH, Powell W. Increased pollen flow counteracts fragmentation in a tropical dry forest: an example from *Swietenia humilis* Zuccarini. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002; 19(4):2038-42.
- Jiménez A, Mata R, Pereda-Miranda R, Calderón, Isman JM, Nicol R, Arnaso J T. Insecticidal Limonoids From *Swietenia humilis* and *Cedrela salvadorensis*. Journal of Chemical Ecology 1997; 23:5.
- Jiménez A, Villarreal C, Toscano R A, Cook M, Arnason JT, Bye R, Mata R. Limonoids from *Swietenia humilis* and *Guarea grandiflora* (Meliaceae). Phytochemistry 1998; 49:1981-1988.
- Segura-Correa Rosabel, Mata Rachel, Anaya Ana Luisa, Hernández-Bautista Blanca, Villena Rene, Soriano-García Manuel, Bye Robert, Linares Edelmira. "Nuevos tetranotriterpenoides de *Swietenia humilis*" Journal of Natural 1993; 56(9):1567-1574.
- Angulo-Escalante MA, Armenta-Reyes E, García-Estrada RS, Carrillo-Fasio JA, Salazar-Villa E, Valdéz-Torres JB. Extractos de semilla de *Swietenia humilis* Zucccon actividad antifúngica en *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. Revista Mexicana de Fitopatología. 2009; 27(2):84-92.
- Cala AC, Chagas AC, Oliveira MC, Matos AP, Borges LM, Sousa LA, Souza FA, Oliveira GP. In vitro anthelmintic effect of *Melia azedarach* L. and *Trichilia clausenii* C. against sheep gastrointestinal nematodes. Exp Parasitol. 2012; 130(2):98-102.
- Vardamides JC, Dongmo AB, Meyer M, Ndom JC, Azebaze AG, Zounda MR, Sielinou VT, Ndemangou B, Nkengfack AE, Ngando TM, Fomum ZT. Alkaloids from the stem bark of *Turraeanthus africanus* (Meliaceae). Chem Pharm Bull (Tokyo) 2006; 54 (7):1034-6.
- Dewanjee S, Maiti A, Das AK, Mandal SC. Swietenine: a potential oral hypoglycemic from *Swietenia macrophylla* seed. Dey SP. Fitoterapia. 2009; 80(4):249-51.
- Maiti A, Dewanjee S, Sahu R. Isolation of hypoglycemic phytoconstituent from *Swietenia macrophylla* seeds. Phytother Res. 2009; 23(12):1731-3.
- Kalpna K, Pugalendi KV. Antioxidative and hypolipidemic efficacy of alcoholic seed extract of *Swietenia macrophylla* streptozotocin diabetic rats. J Basic Clin Physiol Pharmacol. 2011; 17; 22(1-2):11-21.
- Bothon FT, Debiton E, Avlessi F, Forestier C, Teulade JC, Sohounhloue DK. In vitro biological effects of two anti-diabetic medicinal plants used in Benin as folk medicine. BMC Complement Altern Med. 2013; 1:13:51.
- Panda SP, Haldar PK, Bera S, Adhikary S, Kandar CC. Antidiabetic and antioxidant activity of *Swietenia mahagoni* streptozotocin-induced diabetic rats. Pharm Biol. 2010; 48(9):974-9.
- Hasan SM, Khan MI, Umar BU, Sadeque MZ. Comparative study of the effect of ethanolic extract of *Swietenia mahagoni* seeds with rosiglitazone on experimentally induced diabetes mellitus in rats. Bangladesh Med Res Counc Bull. 2013; 39(1):6-10.
- Wang PH, Tsai MJ, Hsu CY, Wang CY, Hsu HK, Weng CF. *Toona sinensis* Roem (Meliaceae) leaf extract alleviates hyperglycemia via altering adipose glucose transporter 4. Food Chem Toxicol. 2008; 46(7):2554-60.
- Zhang JF, Yang JY, Wen J, Wang DY, Yang M, Liu QQ. Experimental studies on hypoglycemic effects of total flavonoid from *Toona sinensis*. Zhong Yao Cai. 2008; 31(11):1712-4.
- Perez-Gutierrez RM, Damian-Guzman M. Meliacinolin: a potent α -glucosidase and α -amylase inhibitor isolated from *Azadirachta indica* leaves and in vivo antidiabetic property in streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetes in mice. Biol Pharm Bull. 2012; 35(9):1516-24.
- [http://www.google.com.mx/Pruebas de toxicidad/Swietenia humilis/iqb.es/cbasicas/farma/farma05/tox/tox01.htm](http://www.google.com.mx/Pruebas%20de%20toxicidad/Swietenia%20humilis/iqb.es/cbasicas/farma/farma05/tox/tox01.htm). Acceso 17 Nov 2013.
- [https://www.google.com.mx/search/Swieteniahumilis/imagenes/Alvaro Fernández, 1992](https://www.google.com.mx/search/Swieteniahumilis/imagenes/Alvaro%20Fern%C3%A1ndez,%201992). Acceso 3 Mar 2014.
- [http://www.cofepris.gob.mx/Normaoficialmexicana/animales de laboratorio](http://www.cofepris.gob.mx/Normaoficialmexicana/animalesde laboratorio). Acceso 23 Oct 2013.
- Lorke D. A new approach to practical acute toxicity testing. Archives of toxicology. 1983; 54:275-287.
- Miño J, Gorzalczyk S, Moscatelli V, Ferraro G, Acevedo C, Hnatyszyn O. Actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de *Erythrina crista-galli* L. ("Ceibo"). Acta Farm. Bonaerense. 2002; 21(2):93-98.
- Guerrero PMF, García de García CL, Meneses de Góngora B. Actividad anticonvulsivante del extracto de *Apium graveolens* L en ratones. Rev Colomb Ciencias Quim Farm. 1997; (26):7-10.
- Morón-Rodríguez F, Furones-Mourelle J, Pineda-Gutiérrez Z. Actividad espasmolítica del extracto fluido de *Matricaria recutita* (manzanilla) en órganos aislados. Rev Cubana Plant Med. 1996; 1(1):0-0.
- Zhao XH, Zhao YQ. Decolouration of H₂SO₄ leachate from phosphorus-saturated alum sludge using H₂O₂ and advanced oxidation processes in phosphorus recovery strategy. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng. 2009; 44(14):1557-64.
- Loomis T, Hayes A. Loomis's essentials of toxicology. 4^a Ed. San Diego, California Academic press. 1996.

27. [https://www.google.com.mx/OrganizaciónMundialdeSalud/toxicidadpara sustancias sólidas](https://www.google.com.mx/OrganizaciónMundialdeSalud/toxicidadpara%20sustancias%20sólidas). Acceso 3 Sep 2013.
28. Salazar A, Santa María J, Zimic C, Salinas I, Sánchez L, Arrambide J, Zpater L, Arias M, Ulffe G, Páucar R, Lucy Ibañez V, Benjamín Castañeda C. Antinocicepción opioide del extracto metanólico del Chuchuhuasi (*Maytenus krukovii*) en un modelo de dolor visceral en ratón. *Revista Horizonte Médico*. 2006; 6(2):135–140.
29. Sulaiman MR, Hussain MK, Zakaria ZA, Somchit MN, Moin S, Mohamad AS, Israf DA. Evaluation of the antinociceptive activity of *Ficus deltoidea* aqueous extract. *Fitoterapia*. 2008;13(79):557–561.
30. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. *Pharmacology*. 5^a Ed. Edinburgh: Churchill Livingstone. 2003; 562–563.
31. Reynolds JEF, Martindale The Extra Pharmacopoeia 28. London: The Pharmaceutical Press. 1982; 245.
32. Ehlert FJ, Ostrom RS, Sawyer GW. Subtypes of the muscarinic receptor in smooth muscle. *Life Sci*. 1997; 61(18):1729–40. Review.
33. Ehlert FJ, Sawyer GW, Esqueda EE. Contractile role of M2 and M3 muscarinic receptors in gastrointestinal smooth muscle. *Life Sci*. 1999; 64(6–7):387–94. Review.
34. Shakirova Y, Bonnevier J, Albinsson S, Adner M, Rippe B, Broman J, Amer A, Sward K. Increased Rho activation and PKC-mediated smooth muscle contractility in the absence of caveolin-1. *Am. J Physiol Cell Physiol*. 2006; 291(6):C1326–35.
35. Seiler R, Rickenbacher A, Shaw S, Haefliger S, Balsiger BM. Role of selective alpha and beta adrenergic receptor mechanisms in rat jejunal longitudinal muscle contractility. *J Gastrointest Surg*. 2008; 12(6):1087–93.
36. Rickenbacher A, Seiler R, Honegger U, Shaw SG, Balsiger BM. Role of beta1-, beta2-, and beta3-adrenoceptors in contractile hypersensitivity in a model of small bowel transplantation. *Surgery*. 2008; 143(1):94–102.
37. Perusquia M, Hernández R, Jiménez MA, Pereda-Miranda R, Mata R. Contractile response induced by a limonoid (humilinolide A) on spontaneous activity of isolated smooth muscle. *Phytotherapy Research*. 1997; 11 (5): 354–363.
38. Micheletti R, Schiavone A, Giachetti A. Muscarinic M1 receptors stimulate a nonadrenergic noncholinergic inhibitory pathway in the isolated rat duodenum. *J Pharmacol Exp Ther*. 1988; 244(2):680–4.
39. Bayer S, Crenner F, Aunis D, Angel F. Effects of GABA on circular smooth muscle spontaneous activities of rat distal colon. *Life Sci*. 2002; 71(8):911–25.
40. Hamrouni AM, Gudka N, Broadley KJ. Investigation of the mechanism for the relaxation of rat duodenum mediated via M1 muscarinic receptors. *Auton Autacoid Pharmacol*. 2006; 26(3):275–84.
41. Ali N, Ahmad B, Shah SW. Spasmogenic and spasmolytic activities of *Onosmagriffithii* Vatke. *Pak J Pharm Sci*. 2011;24(4):553–8.
42. Rojas A, Cruz S, Rauch V, Bye R, Linares E, Mata R. Spasmolytic potential of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytomedicine*. 1995; 2(1):51–5.
43. Dalziel JE, Dunstan KE, Finch SC. Combined effects of fungal alkaloids on intestinal motility in an in vitro rat model. *J Anim Sci*. 2013; 91(11):5177–82.