

# Propiedades antidiarreicas de *Diospyros peregrina* en el modelo de diarrea inducida con aceite de ricino en ratones

*Anti-diarrhoeal properties of Diospyros peregrina in the castor oil-induced diarrhoea model in mice*

ROUF R,<sup>1</sup> UDDIN SJ,<sup>1</sup> SHILPI JA,<sup>1</sup> TOUFIQ-UR-RAHMAN M,<sup>2</sup> FERDOUS MM,<sup>3</sup> SARKER SD<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup>Pharmacy Discipline, Life Science School, Khulna University, Khulna 9208 (Bangladesh)

<sup>2</sup>Department of Pharmacology, University of Cambridge, Cambridge CB2 1PD (United Kingdom)

<sup>3</sup>Department of Botany, University of Rajshahi 6205, Rajshahi (Bangladesh)

<sup>4</sup>School of Biomedical Sciences, University of Ulster at Coleraine, Cromore Road, Coleraine BT52 1SA, Co. Londonderry, Northern Ireland (United Kingdom)

e-mail: s.sarker@ulster.ac.uk

## RESUMEN

*Diospyros peregrina* (Gruke), de la familia de las ebenáceas, posee varias propiedades medicinales y se utiliza en la medicina tradicional de Bangladesh. En este estudio se investigaron los extractos de metanol de la corteza y las semillas de esta planta en el modelo de diarrea inducida con aceite de ricino en ratones. También se estudiaron las propiedades antibacterianas de los extractos frente a varias bacterias patógenas causantes de diarrea y disentería mediante el método de difusión en disco. Con una dosis de 250 y 500 mg/kg de peso corporal, los extractos retrasaron la aparición de la diarrea. Los extractos también redujeron la frecuencia y la gravedad de la diarrea en los animales de los grupos de prueba durante todo el período de estudio. A igual dosis, los extractos retrasaron el tránsito intestinal del preparado de carbón en los animales del grupo de prueba en comparación con los del grupo de control, y los resultados fueron significativos estadísticamente. En ambos casos, el extracto de semilla resultó más potente que el extracto de corteza. El extracto de corteza inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysentery*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, mientras que el extracto de semilla demostró poseer actividad inhibitoria frente a *S. aureus*, *S. dysentery* y *E. coli*.

PALABRAS CLAVE: *Diospyros peregrina*. Ebenáceas. Diarrea. Disentería. Medicina tradicional.

## ABSTRACT

*Diospyros peregrina* Gruke. (Ebenaceae) possesses a number of medicinal properties, and is used in Bangladeshi traditional medicine. In this study, the methanol extracts of the barks and seeds of this plant have been investigated in the castor oil induced diarrhoea model in mice. The extracts were also studied for their anti-bacterial properties by disc diffusion method against a number of pathogenic bacteria responsible for causing diarrhoea and dysentery. At the doses of 250 and 500 mg/kg body weight, the extracts delayed the onset of diarrhoea. The extracts also reduced the frequency and severity of diarrhoea in test animals throughout the study period. At the same doses, the extracts delayed the intestinal transit of charcoal meal in test animals as compared to the control, and the results were statistically significant. In both cases the seed extract was found to be more potent than the bark extract. The bark extract inhibited the growth of *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysentery*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, whereas the seed extract demonstrated inhibitory activity against *S. aureus*, *S. dysentery* and *E. coli*.

KEY WORDS: *Diospyros peregrina*. Ebenaceae. Diarrhoea. Dysentery. Traditional Medicine.

## INTRODUCCIÓN

*Diospyros peregrina* (Gruke), de la familia de las ebenáceas, es un árbol de hoja perenne de tamaño medio que crece en todo Bangladesh. Esta planta se ha utilizado tradicionalmente como afrodisíaco, astringente, bactericida y tónico, y para el tratamiento de aftas y otras muchas dolencias como, por ejemplo, la diarrea, el cólera, la disentería, la fiebre, la malaria, la menorragia y el dolor de garganta.<sup>1-4</sup> Se ha utilizado también para tratar mordeduras de serpientes.<sup>3</sup> Se ha demostrado que la actividad antiestrés del extracto de etilacetato (EtOAc) de *D. peregrina* es similar a la del *Panax ginseng*.<sup>4</sup> Se ha confirmado que el extracto alcohólico de la corteza del tallo de esta planta posee propiedades hipoalérgicas, diuréticas y anticancerígenas.<sup>5</sup> La corteza también se utiliza en el tratamiento de tumores, furúnculos y fiebre intermitente.<sup>5,6</sup> La infusión del fruto se utiliza para hacer gárgaras en casos de aftas y dolor de garganta. El zumo del fruto se utiliza para cicatrizar heridas y úlceras.<sup>3,7</sup>

La mayoría de los estudios fitoquímicos o farmacológicos previos sobre estas plantas se realizaron en extractos no polares o semipolares; sólo unos pocos se llevaron a cabo en extractos polares. Además de aislar un ketol alifático, onadecan-7-ol-2-ona y triterpenes del tallo, los frutos y las semillas de *D. peregrina*,<sup>8-10</sup> también se demostró que los frutos y las raíces producen flavonoides.<sup>11,12</sup>

La diarrea es una dolencia común en casi todos los países tropicales del mundo. Es una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en Bangladesh. Tradicionalmente se han utilizado durante mucho tiempo en Bangladesh distintas plantas medicinales y sus preparados para tratar la diarrea. Como parte de nuestra búsqueda continuada de plantas que posean actividad antidiarreica,<sup>2</sup> informamos ahora del potencial antidiarreico de la corteza y las semillas de *D. peregrina*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

*Material de la planta:* La corteza y las semillas de *D. peregrina* se recogieron en el sur de Khalishpur, Khulna (Bangladesh), en julio de 2003. La planta fue identificada por los taxonomistas del herbario nacional de Bangladesh (Bangladesh National Herbarium) donde se conservó

## INTRODUCTION

*Diospyros peregrina* Gruke. (Ebenaceae) is a medium-sized evergreen tree that grows throughout Bangladesh. This plant has traditionally been used as an aphrodisiac, astringent, bactericide and tonic, and for the treatment of many ailments, e.g. diarrhoea, cholera, dysentery, fever, malaria, menorrhagia and sore throat.<sup>1-4</sup> It has also been used to treat snake-bites.<sup>3</sup> The anti-stress activity of an ethylacetate (EtOAc) extract of *D. peregrina* was found to be similar to that of *Panax ginseng*.<sup>4</sup> The alcoholic extract of stem barks of this plant has been reported to possess hypoglycemic, diuretic and anti-cancer properties.<sup>5</sup> The bark is also used in the treatment of intermittent fever, boils and tumours.<sup>5,6</sup> Infusion of the fruit is used as gargle in apathae and sore throat. Fruit juice is used to heal wounds and ulcers.<sup>3,7</sup>

Most of the previous phytochemical or pharmacological studies of this plants were carried out on non-polar or semi-polar extracts, only a few on polar extracts. While an aliphatic ketol, onadecan-7-ol-2-one and triterpenes were isolated from the stem, fruits and seeds of *D. peregrina*,<sup>8-10</sup> the fruits and roots were found to produce flavonoids.<sup>11,12</sup>

Diarrhoea is a common ailment in almost all tropical countries of the world. It is one of the major causes of mortality and morbidity in Bangladesh. Various medicinal plants and their preparations have long been used traditionally in Bangladesh to treat diarrhoea. As part of our continuing search for plants possessing anti-diarrhoeal activity,<sup>2</sup> we now report on the anti-diarrhoeal potential of the barks and seeds of *D. peregrina*.

## MATERIALS AND METHODS

*Plant Materials:* The barks and seeds of *D. peregrina* were collected from southern Khalishpur, Khulna, Bangladesh in July 2003. The plant was identified by the taxonomists of the Bangladesh National Herbarium where a voucher specimen (DACB: 30323) has been retained. The barks were shade dried. The seeds were separated from the fruits, cut into small pieces and dried. The dried bark and seeds were ground into coarse powder by a hammer mill. The dried and powdered plant material was subjected to maceration by

un espécimen de muestra (DACB: 30323). La corteza se dejó secar a la sombra. Se separaron las semillas de los frutos, se cortaron en pequeños pedazos y se secaron. La corteza y las semillas secas se molieron con un molino de martillos hasta obtener un polvo grueso. El material de la planta, seco y convertido en polvo, se sometió a maceración con metanol (MeOH) a temperatura ambiente durante la noche. La solución se filtró y el disolvente se evaporó con la ayuda de un evaporador rotativo.

*Animales:* Se obtuvieron ratones albinos suizos de ambos sexos (20-25 g) de Animal House, Pharmacy Discipline, Khulna University, Khulna. Los animales se alojaron en condiciones estándar de laboratorio (humedad relativa 55-65%, temperatura ambiente  $23,0\pm 2,0$  °C y un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad). Los animales se alimentaron con dieta estándar y tuvieron agua corriente a su disposición en todo momento.

*Diarrea inducida con aceite de ricino:* Se siguió el método descrito por Shoba y Thomas.<sup>13</sup> Todos los animales se analizaron inicialmente proporcionándoles 0,5 ml de aceite de ricino. Sólo aquellos que sufrieron diarrea se seleccionaron para el experimento final. Los animales se dividieron en grupos de control, de control positivo y de prueba, y se incluyeron cinco ratones en cada grupo. Se administró el vehículo (1% de Tween 80 en agua) por vía oral al grupo de control en una dosis de 0,01 ml/g de peso corporal. Mientras tanto, se administraron por vía oral extractos de corteza y de semillas de *D. peregrina* a los grupos de prueba en dosis de 250 y 500 mg/kg de peso corporal, y loperamida al grupo de control positivo en una dosis de 3 mg/kg. Se introdujo a cada animal en una jaula individual, con el suelo cubierto de papel secante que se cambió cada hora. La diarrea se indujo mediante la administración oral de 0,5 ml de aceite de ricino a cada ratón, 45 minutos después de los tratamientos mencionados anteriormente. Se observaron los siguientes parámetros durante un período de 4 horas: el tiempo transcurrido entre la administración de aceite de ricino y la excreción de las primeras heces diarreicas (heces húmedas que dejan un halo en el papel de filtro), el número total de excreciones fecales y el número de heces diarreicas excretadas por los animales en 4 horas. Se asignó la siguiente clasificación

methanol (MeOH) at room temperature overnight. The solution was filtered and the solvent was evaporated using a rotary evaporator.

*Animals:* Swiss albino mice of either sex (20-25 g) were obtained from the Animal House, Pharmacy Discipline, Khulna University, Khulna. The animals were housed under standard laboratory conditions (relative humidity 55-65%, room temperature  $23.0\pm 2.0$  °C and 12 h light: dark cycle). The animals were fed with standard diet and had free access to tap water.

*Castor oil induced diarrhoea:* The method described by Shoba and Thomas<sup>13</sup> was followed. The animals were all screened initially by giving 0.5 ml of castor oil. Only those who showed diarrhoea were selected for the final experiment. The animals were divided into control, positive control and test groups containing five mice in each group. Control group received vehicle (1% Tween 80 in water) at a dose of 0.01 ml/g body weight orally. Whereas the positive control group received loperamide at the dose of 3 mg/kg and test groups received bark and seed extracts of *D. peregrina* at the doses of 250 and 500 mg/kg body weight orally. Each animal was placed in an individual cage, the floor of which was lined with blotting paper, which was changed every hour. Diarrhoea was induced by oral administration of 0.5 ml castor oil to each mouse, 45 min after the above treatments. The following parameters were observed for a period of 4h: the time elapsed between the administration of castor oil and the excretion of the first diarrhoeic faeces (wet faeces that leaves a halo on the filter paper), the total number of faecal output as well as the number of diarrhoeic faeces excreted by the animals in 4h. A numerical score based on stool consistency was assigned as follows: normal stool=1, semi solid stool=2 and watery stool=3.

*Effect on gastrointestinal motility:* The method described by Abdullahi et al<sup>14</sup> was adopted to study the effect of *D. peregrina* bark and seed extracts on gastrointestinal transit in mice. The test animals were starved for 24 h prior to the experiment but were allowed free access to water. The animals were divided into control and test groups containing five mice in each group. Control group received vehicle (1% Tween 80 in water) at a dose of 0.01ml/mg body weight

numérica en función de la consistencia de las deposiciones: deposición normal= 1, deposición semisólida= 2 y deposición acuosa= 3.

*Efecto en la motilidad gastrointestinal:* El método descrito por Abdullahi et al<sup>14</sup> se adoptó para estudiar el efecto de los extractos de corteza y de semillas de *D. peregrina* en el tránsito gastrointestinal de los ratones. Los animales de los grupos de prueba permanecieron en ayunas durante las 24 horas previas al experimento, pero tuvieron agua a su disposición en todo momento. Los animales se dividieron en grupos de control y grupos de prueba, incluyendo cinco ratones en cada grupo. Se administró vehículo (1% Tween 80 en agua) por vía oral al grupo de control en una dosis de 0,01 ml/g de peso corporal. Se administraron los extractos de corteza y de semillas de *D. peregrina* a los grupos de prueba en dosis de 250 y 500 mg/kg de peso corporal. Pasados 30 minutos, se alimentó a los ratones de cada grupo con 1 ml de preparado de carbón (3% suspensión de carbón desactivado en 0,5% de metilcelulosa acuosa). Transcurridos 30 minutos tras la administración del preparado de carbón, se sacrificaron los animales de cada grupo y se midió la longitud del intestino (desde el esfínter pilórico al ciego) y la distancia recorrida por el carbón como fracción de esa longitud. El movimiento del carbón en el intestino se expresó como un porcentaje.

*Análisis antibacteriano:* Se investigaron los extractos de MeOH de corteza y de semillas de *D. peregrina* para evaluar su actividad antibacteriana frente a varias cepas de bacterias patógenas *in vitro* mediante el método de difusión en disco (Cruickshank, 1969; Bauer et al., 1966).<sup>15,16</sup> Se impregnaron discos de papel de filtro estériles Matricel (BBL, Cocksville, EE.UU.) de una cantidad conocida de sustancias de prueba con una micropipeta y se dejaron secar. Estos discos se colocaron, junto con los discos estándar (Kanamycin, Oxoid Ltd., Reino Unido) y los discos de control, en placas de Petri que contenían un medio de ágar adecuado sembrado de los organismos de prueba con una aguja de transferencia estéril y se conservaron a 4 °C para facilitar una difusión máxima. Las placas se conservaron en un incubador (37 °C) para favorecer el crecimiento de la bacteria. La actividad antibacteriana de los agentes de prueba se determinó mediante

orally. Test groups received the bark and seed extracts of *D. peregrina* at the doses of 250 and 500 mg/kg body weight. After 30 min, mice of each group were fed with 1ml of charcoal meal (3% suspension of deactivated charcoal in 0.5% aqueous methyl cellulose). After 30 min of the administration of charcoal meal, the animals of each group were sacrificed and the length of the intestine (pyloric sphincter to caecum) as well as the distance traversed by charcoal as a fraction of that length was measured. The charcoal movement in the intestine was expressed as a percentage.

*Anti-bacterial screening:* The MeOH extracts of *D. peregrina* barks and seeds were investigated for anti-bacterial activity against a number of pathogenic bacterial strains *in vitro* by disk diffusion method (Cruickshank, 1969; Bauer et al., 1966).<sup>15,16</sup> Sterile Matricel (BBL, Cocksville, USA) filter paper discs were impregnated with known amount of test substances using micropipette and dried. These discs, along with standard disks (Kanamycin, Oxoid Ltd., UK) and control disks were placed in petri dishes containing a suitable agar medium seeded with the test organisms using sterile transfer loop and kept at 4 °C to facilitate maximum diffusion. The plates then kept in an incubator (37 °C) to allow the growth of the bacteria. The anti-bacterial activity of the test agents was determined by measuring the diameter of the zone of inhibition in terms of millimeter. The anti-bacterial activity was tested against *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae*, *S. boydii*, *S. flexneri*, *S. sonnei*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermis*, *S. pyogenes* and *Pseudomonas aeruginosa*.

*Statistical analysis:* The experimental results are represented as mean  $\pm$  S.E (Standard error of the mean). Student's t-test was used for the evaluation of data.

## RESULTS AND DISCUSSION

The MeOH extracts of *D. peregrina* barks and seeds were found to delay the onset of diarrhoea (appearance of first diarrhoeic stool) in test animals as compared to the control at the dose levels of 250 and 500 mg/kg body weight.

la medición del diámetro de la zona de inhibición en milímetros. La actividad antibacteriana se probó en *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae*, *S. boydii*, *S. flexneri*, *S. sonnei*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermis*, *S. pyogenes* y *Pseudomonas aeruginosa*.

*Análisis estadístico:* Los resultados de este experimento se presentan como la media  $\pm$  E.S.M. (error estándar de la media). Se utilizó la prueba t-Student para la evaluación de los datos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se demostró que los extractos de MeOH de corteza y de semillas de *D. peregrina* retrasan la aparición de la diarrea (primera deposición diarreica) en los animales del grupo de prueba en comparación con los del grupo de control a niveles de dosis de 250 y 500 mg/kg de peso corporal. Los extractos retrasaron moderadamente la aparición de la diarrea en ratones en comparación con el grupo de control positivo (loperamida), pero el resultado no fue significativo estadísticamente en el caso del extracto de corteza en dosis de 250 mg/kg. El extracto de semilla resultó más potente que el extracto de corteza ( $P < 0,01$  y  $P < 0,001$ ) (Tabla 1). En el mismo experimento se observó a los animales durante 4 horas para estudiar el efecto de las sustancias de prueba en el número total de deposiciones y en el número total de deposiciones húmedas. A niveles de dosis de 250 y 500 mg/kg, se demostró que tanto los extractos de corteza como los de semillas redujeron el número total de deposiciones y el número total de deposiciones húmedas o heces diarreicas durante todo el período de estudio de una forma dosis-dependiente. Los resultados fueron significativos estadísticamente ( $P < 0,01$  y  $P < 0,001$ ). El extracto de semillas mostró una mayor actividad antidiarreica que el extracto de corteza (Tabla 1).

The extracts moderately delayed the onset of diarrhoea in mice as compared to positive control (loperamide), but the result was not statistically significant for bark extract at the dose of 250 mg/kg. The seed extract was found to be more potent than the bark extract ( $P < 0.01$  and  $P < 0.001$ ) (Table 1). In the same experiment, the animals were observed for 4h to perceive the effect of test substances on the total number of stool and the total number of wet stool. At the dose levels of 250 and 500 mg/kg, both the bark and seed extracts were found to reduce the total number of stool as well as total number of wet stool or diarrhoeic faeces throughout the study period in a dose dependent manner. The results were statistically significant ( $P < 0.01$  and  $P < 0.001$ ). Seed extract exhibited greater anti-diarrhoeal activity than the bark extract (Table 1).



**TABLA 1.** Efecto del extracto de corteza y de semillas de *D. peregrina* en la diarrea inducida con aceite de ricino en ratones<sup>a</sup>.

**TABLE 1.** Effect of *D. peregrina* bark and seed extract on castor oil induced diarrhoea in mice<sup>a</sup>.

Tratamiento <i>Treatment</i>	Dosis (mg/kg, por vía oral) <i>Dose (mg/kg, p.o.)</i>	Período de latencia (horas) <i>Latent period (h)</i>	Número total de heces en 4 horas <i>Total number of faeces in 4 h</i>	Número total de heces húmedas en 4 horas <i>Total number of wet faeces in 4 h</i>
Control (vehículo, 0,01 ml/gm, por vía oral) <i>Control (vehicle, 0.01ml/gm, p.o.)</i>	-	0,9 ± 0,17	13,60 ± 1,03	9,0 ± 0,71
Loperamida <i>Loperamide</i>	3	2,18 ± 0,24*	2,60 ± 0,75**	1,20 ± 0,37**
Corteza de <i>D. peregrina</i> <i>D. peregrina bark</i>	500	1,78 ± 0,13*	4,40 ± 0,51**	2,60 ± 0,75**
	250	1,34 ± 0,19	7,40 ± 1,03*	4,20 ± 0,86*
Semilla de <i>D. peregrina</i> <i>D. peregrina seed</i>	500	2,08 ± 0,16**	3,0 ± 0,95**	1,80 ± 0,58**
	250	1,75 ± 0,09*	5,20 ± 0,86**	2,80 ± 0,86**

<sup>a</sup>Los valores son la media ± SEM (n=5)

\*\*P<0,001, \*P<0,01 frente a control, prueba t-Student.

<sup>a</sup>Values are mean ± SE (n=5)

\*\*P<0.001, \*P<0.01 vs. control, Student's t-test.

En la prueba de motilidad gastrointestinal, con las dosis mencionadas anteriormente, los extractos retrasaron significativamente el tránsito gastrointestinal del preparado de carbón en los animales del grupo de prueba en comparación con los del grupo de control. El extracto de semilla retrasó el tránsito intestinal en mayor medida que el extracto de corteza (P <0,01 y P<0,001) (Tabla 2).

In the gastrointestinal motility test, at the above doses the extracts delayed gastrointestinal transit of charcoal meal significantly in test animals as compared to the control. The seed extract delayed the intestinal transit to a greater extent than the bark extract (P <0.01 and P<0.001) (Table 2).

**TABLA 2.** Efecto del extracto de corteza y de semillas de *D. peregrina* en el tránsito intestinal del preparado de carbón en ratones<sup>a</sup>.

**TABLE 2.** Effect of *D. peregrina* bark and seed extract on the intestinal transit of charcoal meal in mice<sup>a</sup>.

Tratamiento <i>Treatment</i>	Dosis (mg/kg, por vía oral) <i>Dose (mg/kg, p.o.)</i>	% recorrido por preparado de carbón <i>% Traversed by charcoal meal</i>
Control (vehículo, 0,01 ml/gm, por vía oral) <i>Control (vehicle, 0.01ml/gm, p.o.)</i>	-	74,70 ± 2,68
Corteza de <i>D. peregrina</i> <i>D. peregrina bark</i>	500	45,04 ± 2,17**
	250	60,58 ± 1,21*
Semilla de <i>D. peregrina</i> <i>D. peregrina seed</i>	500	37,35 ± 3,34**
	250	48,60 ± 3,13**

<sup>a</sup>Los valores son la media ± SEM (n=5)

\*\*P<0,001, \*P<0,01 frente a control, prueba t-Student.

<sup>a</sup>Values are mean ± SE (n=5)

\*\*P<0.001, \*P<0.01 vs. control, Student's t-test.

Se demostró que el extracto de MeOH de corteza de *D. peregrina* (600 µg/disco) inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus* (11 mm), *Shigella dysentery* (10 mm), *E. coli* (13 mm) y *Pseudomonas aeruginosa* (9 mm). Mientras tanto, el extracto de semilla inhibió el crecimiento de *S. aureus* (14 mm), *S. dysentery* (12 mm) y *E. coli* (15 mm) (Tabla 3).

The MeOH extract of *D. peregrina* bark (600 µg/disc) was found to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* (11 mm), *Shigella dysentery* (10 mm), *E. coli* (13 mm) and *Pseudomonas aeruginosa* (9 mm). Whereas the seed extract inhibited the growth of *S. aureus* (14 mm), *S. dysentery* (12 mm) and *E. coli* (15 mm) (Table 3).

**TABLA 3.** Actividad antibacteriana del extracto de corteza y de semillas de *Diospyros peregrina*.  
**TABLE 3.** Antibacterial activity of *Diospyros peregrina* bark and seed extract.

Microorganismo <i>Microorganism</i>	Diámetro de zona de inhibición en mm <i>Diameter of zone of inhibition in mm</i>		
	Corteza <i>Bark</i>	Semilla <i>Seed</i>	Kanamicina <i>Kanamycin</i>
	(600 µg/disco)	(600 µg/disco)	(30 µg/disco)
<i>Escherichia coli</i>	13	15	30
<i>Vibrio cholerae</i>	-	-	29
<i>Shigella dysenteriae</i>	10	12	29
<i>Shigella boydii</i>	-	-	27
<i>Shigella flexneri</i>	-	-	25
<i>Shigella sonnei</i>	-	-	30
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	14	27
<i>Staph. epidermis</i>	-	-	28
<i>Staphylococcus pyogenes</i>	-	-	25
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	28
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	-	27
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	30

En función del mecanismo, la diarrea se puede clasificar en varias áreas patofisiológicas principales: diarrea secretora, diarrea osmótica/malabsorción y diarrea infecciosa/inflamatoria.<sup>17</sup> La diarrea inducida con aceite de ricino se clasifica como diarrea secretora ya que el ácido ricinoléico, el ingrediente activo del aceite de ricino, induce la diarrea mediante una respuesta hipersecretora.<sup>18,19</sup> Por lo tanto, la inhibición de la diarrea inducida con aceite de ricino se puede deber a la inhibición de la hipersecreción como, por ejemplo, la síntesis de la prostaglandina.<sup>20</sup> El retraso del tránsito gastrointestinal también contribuye en cierta medida a la actividad antidiarreica. Por ejemplo, se cree que el efecto terapéutico de la loperamida se debe a sus propiedades antisecretoras y antimotílicas.<sup>21</sup> Debido a que los extractos de corteza y de semillas de *D. peregrina* retrasaron el tránsito intestinal en los animales del grupo de prueba, su actividad antidiarreica también se puede asociar al retraso del tránsito gastrointestinal.

Depending on the mechanism, diarrhoea can be categorised into major pathophysiological areas: infective/inflammatory, osmotic diarrhoeas/malabsorptive and secretory diarrhoea.<sup>17</sup> Castor oil induced diarrhoea demonstrates secretory diarrhoea, since ricinolic acid, the active ingredient of castor oil induces diarrhoea by a hypersecretory response.<sup>18,19</sup> Thus, inhibition of castor oil induced diarrhoea may be due to inhibition of hypersecretion e.g. prostaglandin synthesis.<sup>20</sup> Delaying the gastrointestinal transit also contributes to some extent in the anti-diarrhoeal activity. For example, the therapeutic effect of loperamide is believed to be due to its anti-motility and anti-secretory properties.<sup>21</sup> Since *D. peregrina* barks and seeds extracts delayed the intestinal transit in test animals, their anti-diarrhoeal activity may also be associated with the delay in the gastrointestinal transit.

Further investigation with the extracts against a number of bacterial strains was conducted to seek whether the report of anti-diarrhoeal activity

Se realizó una investigación adicional con los extractos frente a varias cepas bacterianas para descubrir si el informe de actividad antidiarreica de *D. peregrina* se debió a alguna actividad antibacteriana. La diarrea infecciosa está causada por varios virus, bacterias y parásitos. La disentería bacilar, que provoca hasta 500.000 muertes infantiles cada año en países en vías de desarrollo, está causada por *Shigella dysentery*, *S. flexneri*, *S. boydii* y *S. sonnei* así como un determinado *E. coli* enterotóxico de tipo O. La bacteria *Vibrio cholera* ha causado varias grandes epidemias de larga duración (pandemias) de enfermedades diarreicas, muchas de las cuales se originaron en el valle del Ganges de India y Bangladesh. *S. aureus* y otras enterotoxinas estafilocócicas virulentas se asocian a alimentos contaminados y provocan vómitos y diarrea.<sup>22</sup> La actividad antibacteriana in vitro, la inhibición del crecimiento de algunas cepas bacterianas implicadas generalmente en enfermedades diarreicas, indicaron que esta actividad antibacteriana puede haber contribuido, al menos hasta cierto punto, al efecto antidiarreico de estos extractos.

### CONCLUSIÓN

El notable efecto antidiarreico de los extractos de corteza y de semillas de *D. peregrina* observados en el modelo de diarrea inducida con aceite de ricino demostraron su utilidad en diarreas funcionales y secretoras. Sin embargo, este estudio no se desarrolló para demostrar si los extractos alteraban la actividad de la enzima Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATPasa o para activar los canales de cloro. Cualquiera que sea el mecanismo de acción, los extractos de *D. peregrina* podrían ser útiles en un gran número de estados diarreicos, debido a desórdenes en el tránsito como, por ejemplo, diarreas funcionales o diarrea por radiación, o debido a mecanismos de secreción anormales como en el caso de la diarrea inducida con enterotoxina *E. coli* o cólera.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dra. Lutfun Nahar (Coleraine, Reino Unido) sus valiosos comentarios durante la preparación de este manuscrito.

of *D. peregrina* was due to any anti-bacterial activity. Infectious diarrhoea is caused by a number of viruses, bacteria and parasites. Bacillary dysentery, which results in as many as 500,000 death among children in developing countries each year is caused by *Shigella dysentery*, *S. flexneri*, *S. boydii* and *S. sonnei* as well as certain O-type enterotoxic *E. coli*. *Vibrio cholera* has caused several great long lasting epidemics (pandemics) of diarrhoeal diseases, many of these pandemics begin in Ganges valley of India and Bangladesh. *S. aureus* and other virulent staphylococci enterotoxins are associated with food poisoning and cause vomiting and diarrhoea.<sup>22</sup> The in vitro anti-bacterial activity, the inhibition of growth of some bacterial strains which are generally implicated to diarrhoeal diseases, indicated that the anti-diarrhoeal effect of these extracts might be, at least to some extent, contributed by this anti-bacterial activity.

### CONCLUSION

The remarkable anti-diarrhoeal effect of *D. peregrina* barks and seeds extracts observed in the castor oil diarrhoea model demonstrated their usefulness in secretory and functional diarrhoeas. However, this study did not go further to demonstration as to whether the extracts altered the activity of Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup>ATPase or activation of chloride channels. Whatever may be the mechanism of action, *D. peregrina* extracts could be useful in a wide range of diarrhoeal states, due to both disorders of transit e.g. functional diarrhoeas, radiation diarrhoea or due to abnormal secretory mechanisms like in cholera or *E. coli* enterotoxin induced diarrhoea.

### ACKNOWLEDGEMENT

Dr Lutfun Nahar (Coleraine, UK) is thanked for her valuable comments during the preparation of this manuscript.



## BIBLIOGRAFÍA/BIBLIOGRAPHY

1. Phytochemical and Ethnobotanical Databases. USDA, ARS, Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland, USA. 2005. Available online at: <http://www.ars-grin.gov/duke/>
2. Uddin SJ, Shilpi JA, Alam SMS, Alamgir M, Rahman MT, Sarker SD. Antidiarrhoeal activity of the methanol extract of the barks of *Xylocarpus molucensis* in castor oil and magnesium sulphate-induced diarrhoea models in mice. 2005; *J. Ethnopharmacol.* 2005; 101: 139-143.
3. Kirtikar KR, Basu BD. *Indian Medicinal Plants*, 2<sup>nd</sup> edition. 1999; International Book Distributors, Dehradun, India p 1503.
4. Singh N, Nath R, Gupta ML. A pharmacological evaluation of antistress activity of *Diospyros peregrina* Gurke. *Ind. J. Pharmacol.* 1988; 20:102-108.
5. Ghani A. *Medicinal Plants of Bangladesh*. 1998; Asiatic Society of Bangladesh, Dhaka, p 164.
6. Yusuf M, Chowdhury JU, Yahab MA, Begum J. (*Medicinal Plants of Bangladesh 1994*; BCSIR Laboratories, Bangladesh, p 95.
7. Joshi SG. *Medicinal Plants*. 2000; Oxford and IBH Publishing Co Pvt. Ltd India, p173.
8. Misra PS, Misra G, Nigam SK, Mitra CR. Constituents of *Diospyros peregrina* fruit and seed. *Phytochemistry.* 1971; 10: 904-905.
9. Chauhan JS, Kumari G. Nonadecan-7-ol-2-one an aliphatic ketol from *Doiospyros peregrina*, *Phytochemistry.* 1980; 19: 2637-2638.
10. Jain N, Yadav RN. Peregrinol, a lupane type triterpene from the fruits of *Diospyros peregrina*. *Phytochemistry.* 1994; 35: 1070-1072.
11. Jain N, Yadav RN. Furano-(2'',3'',7,8)-3',5'-dimethoxy-5-hydroxyflavone: A new furanoflavone from the fruits of *Diospyros peregrina* Gurke. *Asian J. Chem.* 1997; 9: 442-444.
12. Chauhan JS, Saraswat M, Kumari G. Structure of a new flavanone glycoside from *Doiospyros peregrina* roots. *Ind. J. Chem.* 1982; 21: 169-170.
13. Shoba FG, Thomas M. Study of antidiarrhoeal activity of four medicinal plants in castor oil induced diarrhoea. *Journal of Ethnopharmacol.* 2001; 76: 73-76.
14. Abdullahi AL, Agho MO, Amos S, Gamaniel KS, Watanabe C. Antidiarrhoeal activity of aqueous extract of *Terminalia avicennoides* roots. *Phytother. Res.* 2001; 15: 431-434.
15. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Truck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *The Amer. J. Clin. Pathol.* 1966; 45: 493-496.
16. Cruickshank R. *Medical Microbiology, A guide to diagnosis and control of infection*. 1968; E. and S. Livingstone Ltd., Edinburgh and London, p 888.
17. Hardman JG, Limbird LE. Goodman Gillman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9<sup>th</sup> edition. 1996; McGraw-Hill, USA., p 925.
18. Gaginella TS, Stewart JJ, Olsen WA, Bass P. Action of recinoleic acid and structurally related fatty acid on the gastrointestinal tract. II. Effect on water and electrolyte absorption in-vitro. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic.* 1975; 195: 355-356.
19. Ammon HV, Thomas PJ, Phillips S. Effect of the oleic acid and recinolic acid on net jejunal water and electrolyte movement. *Journal of Clinical Investigation.* 1974; 53: 374-379.
20. Karim SMM, Adaikan PG. The effect of loperamide on prostaglandin-induced diarrhoea in rat and man. *Prostaglandins.* 1977; 13: 321-331.
21. Couper IM. Opioid action on the intestine: the importance of the intestinal mucosa, *Life Sci.* 1987; 41: 917-925.
22. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *Robins Pathologic Basis of Disease*. 1994; 5<sup>th</sup> edition, Prism Books (Pvt) Ltd, India, pp328-335.