



Influencia de la vía de administración sobre el efecto del extracto etanólico de la semilla de *Jatropha curcas* L., en la motilidad intestinal en ratones albinos

Miranda-Chavez H, Sakihara-Kobashigawa W, Reyna-Orozco P, Ricra-Morales P, Mundaca-Villanueva E, Muñoz-Espinoza M, Pante-Medina C¹, Castañeda-Castañeda B², Salazar-Granara A^{1,2}

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 01/03/2018

Aprobado: 02/05/2018

Autor correspondiente

Alberto Alcibíades Salazar Granara
Av. El Corregidor N°1531. La Molina
01 365 2300, anexo 151.
asalazarg@usmp.pe

Financiamiento

Este artículo ha sido financiado por los autores y por la Universidad de San Martín de Porres (USMP)

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Agradecimientos

Al Decano de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres, Dr. Frank Lizaraso Caparó, por el apoyo y licencias para el desarrollo del presente estudio.

Citar como

Miranda-Chávez M, Sakihara-Kobashigawa W, Reyna-Orozco P, Ricra-Morales P, Mundaca-Villanueva E, Muñoz-Espinoza M, Pante-Medina C, Castañeda-Castañeda B, Salazar-Granara A. Influencia de la vía de administración sobre el efecto del extracto etanólico de la semilla de *Jatropha curcas* L., en la motilidad intestinal de ratones albinos. Rev Peru Med Integrativa.2018;3(1):34-9.

Resumen

Objetivo: Determinar la influencia de la vía de administración sobre efecto de distintas dosis del extracto etanólico de la semilla de *Jatropha curcas* L en la motilidad intestinal de ratones. **Materiales y Métodos:** Se utilizaron ratones albinos machos con un peso promedio de 23 g, a los que, por vía oral e intraperitoneal, y a dosis escalonadas y no tóxicas, se les administraron extracto etanólico de la semilla de *Jatropha curcas* L. Los grupos experimentales fueron: suero fisiológico 0,1 mL/10 g, atropina 1 mg/Kg, extracto etanólico de semilla de *Jatropha curcas* L. 500, 750 y 1000 mg/Kg, respectivamente, y neostigmina 0,4 mg/Kg. Para la validación estadística se usó ANOVA con post-hoc de Sidak. **Resultados:** Se encontró diferencias significativas al analizar los porcentajes de motilidad intestinal de todos los grupos, sin embargo, al realizar la comparación por parejas solo se halló diferencias entre los grupos que recibieron atropina y neostigmina ($p=0,038$), *J. curcas* L. vía oral a dosis de 500 mg/Kg y 1000 mg/Kg ($p=0,001$ en ambos casos). Se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) en las comparaciones entre la administración por vía oral y por vía peritoneal del extracto de *J. curcas* L. a dosis de 500 mg/Kg y 1000 mg/Kg. **Conclusión:** Se encontró influencia de la vía de administración, sobre el efecto del extracto etanólico de *Jatropha curcas* L. en la motilidad intestinal en ratones albinos.

Palabras clave: *Jatropha curcas*; Motilidad Gastrointestinal; Semillas; Experimentación Animal (Fuente: DeCS)

Influence of the route of administration on the effect of ethanol extract of the *Jatropha curcas* L. seeds, on gut motility of albino mice

Abstract

Objectives. To determine the influence of administration route of *Jatropha curcas* L. seeds ethanol extract (in different doses) on intestinal motility of albino mice. **Methods.** Male albino mice were used with an average weight of 23 g., which the ethanolic extract of *Jatropha curcas* L. seeds were administered in different administration routes (oral and intraperitoneal), using staggered and non-toxic doses. The experimental groups were 0,1 mL/10 g physiological saline, atropine 1mg/Kg, neostigmine 0.4 mg/kg and *Jatropha curcas* L seed ethanolic extract in doses of 500, 750 and 1000mg/kg. One-way ANOVA test with Sidak post-hoc test were used to do a statistical inferences. **Results.** Significant differences were found when all-groups intestinal charcoal transit distance (%) were analyzed. However, when paired comparisons were made, significant differences were found between neostigmine group ($p=0,038$); and oral administration of *J. curcas* L extracts in doses of 500 mg/Kg and 1000 mg/Kg ($p=0,001$ in both cases). Significant differences were found ($p>0,05$) in comparisons made between orally and intraperitoneal administration of *J. curcas* L. extract in doses of 500 mg/Kg and 1000 mg/Kg. **Conclusion.** There is some influence caused by route of administration of *Jatropha curcas* L. seeds ethanolic extract on intestinal motility in albino mice.

Keywords: *Jatropha curcas*; Gastrointestinal Motility; Seeds; Animal Experimentation (Source: MeSH).

¹ Universidad de San Martín de Porres (USMP), Facultad de Medicina Humana (FMH), Centro de Investigación de Medicina Tradicional y Farmacología (CIMTFAR).

² Sociedad Peruana de Farmacología y Terapéutica Experimental (SOPFARTEX)

Introducción

Conocida como piñón de tempate, piñón blanco o *jatropha*, *Jatropha curcas* L. es un árbol pequeño que proviene de la familia Euphorbiaceae conformada por aproximadamente 8000 especies agrupadas en 317 géneros. Esta es la sexta familia con flores más diversas y se caracterizan por su variación morfológica, que vienen desde árboles y arbustos hasta lianas y hierbas¹. Esta especie es nativa de Sudamérica; sin embargo, actualmente se encuentra distribuida mundialmente y ha cobrado importancia por el uso del aceite proveniente de la semilla, como fuente de biodiesel^{2,3}. En el Perú, *Jatropha curcas* L. se distribuye en los departamentos de Loreto, San Martín, Ucayali, Piura, Cajamarca, Cusco y Lima^{4,5}.

Jatropha curcas L. es una especie usada en la medicina tradicional peruana y latinoamericana por sus propiedades como emenagogo, laxante, antidiarreico, analgésico, antiinflamatorio, y en usos tópicos diversos; se emplea para tales fines desde las hojas hasta las semillas, el látex, y la corteza^{4,6}. Estudios preclínicos del extracto total de la raíz de esta planta demuestran su efecto antidiarreico^{7,8}, en contraste con ensayos de toxicidad crónica del extracto total de la semilla que mostraron efecto diarreico⁹; además, un estudio previo² muestra que el extracto de alcaloides de la semilla del piñón blanco tiene efectos estimulantes de la motilidad gastrointestinal.

Por otra parte, es de resaltar que en la mayoría de los ensayos preclínicos encontrados, se ha empleado solamente la vía de administración oral, siendo la vía parenteral usada más frecuentemente en casos de estudios de toxicidad aguda¹⁰. Es reconocido que la vía de administración es un factor que puede modificar la respuesta de un fármaco, por ejemplo, la vía parenteral permite una mayor biodisponibilidad, en comparación con la vía enteral, en la cual muchas veces los medicamentos sufren el efecto de primer paso o biotransformación en el hígado, esto determina una menor biodisponibilidad del fármaco^{11,12}.

Reconociendo la acción farmacológica de *Jatropha curcas* L., es probable que los efectos de sustancias derivadas de esta especie vegetal sobre la motilidad intestinal puedan ser influenciados por la vía de administración utilizada. Por ello, el objetivo de este estudio se centró en explorar la influencia de la vía enteral (vía oral) y la vía parenteral (vía intraperitoneal), sobre el efecto del extracto alcohólico de la semilla de *Jatropha curcas* L., en la motilidad intestinal de ratones albinos (*Mus musculus*), mediante la prueba de recorrido intestinal del carbón activado.

Materiales y métodos

Material Vegetal

Se utilizaron semillas secas de *Jatropha curcas* L., las cuales fueron recolectadas en Tarapoto-San Martín, durante el periodo de enero a marzo del año 2016. La certificación taxonómica se realizó bajo los criterios del método de Cerrate¹³ en la Universidad San Martín de Porres, en Lima-Perú.

Preparación del extracto etanólico¹⁴

La elaboración del extracto utilizado en este estudio se realizó siguiendo el método referido por Marquez Vizcano y col¹⁵. En este caso, se usó 20 g de semillas molidas de *Jatropha curcas* L. maceradas en etanol al 70% durante una semana, aplicando ciclos de sacudidas de una hora. Posteriormente, esta mezcla fue filtrada y los residuos fueron secados en un Rotavapor por 5 días, para luego extraer muestras mediante raspado, y almacenarlas en envases herméticos a refrigeración para su uso posterior. La preparación de la solución a administrar consistió en combinar la muestra de *J. curcas* L. con 5 mL de etanol al 70%, diluyéndose en una plancha caliente con un agitador Cimarec (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) a una temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 3 minutos. Se agregó agua destilada hasta completar 100 mL de solución; después de ello, la solución permaneció en un sonicador (marca, modelo, país de procedencia) por un lapso de una hora. Como consecuencia, se obtuvo un 13% de concentración en la solución administrada, que fue aplicada en volúmenes diferentes de acuerdo a las recomendaciones estándares recopiladas del Handbook of Laboratory Animal Science¹⁶.

Animales de Experimentación

La población de estudio fueron 54 ratones albinos machos (*Mus musculus* L.), cuyos pesos oscilaron entre 10 a 35 gramos. Estos ratones se adquirieron del Instituto Nacional de Salud (INS) y fueron acondicionados en las instalaciones del Bioterio de la Facultad de Medicina Humana de la USMP por un periodo de 48 horas previos a la experimentación, a una temperatura de $27^{\circ}\pm 3^{\circ}\text{C}$, una humedad promedio del 70% y un nivel de ruido inferior a 70 dB. Éstos fueron distribuidos en jaulas y permanecieron provistos de alimento balanceado para ratón y agua *ad libitum* hasta 24 horas previas a la realización del experimento, momento en el cual se privó a los ratones de alimentos, dejándolos con agua *ad libitum*¹⁵.

Se utilizó atropina 0,5 mg/1mL (Sanderson S.A, Lote 06054-02-EF, Registro Sanitario EE00235) como control negativo y neostigmina metilsulfato 0,5 mg/Kg (Sanderson S.A, Lote

A031121, Registro Sanitario EE03852) como control positivo para la evaluación de motilidad intestinal. Nueve grupos experimentales fueron conformados de manera aleatoria por medio de sorteo, con seis ratones por grupo (Gráfico 01). la conformación de los mismos se realizó de forma aleatoria, utilizando la técnica de sorteo. En los casos donde se usó la vía oral, se contó con la ayuda de una sonda orogastrica, mientras que en el caso de la administración subcutánea se siguieron procedimientos previamente establecidos por la UBC Animal Care Guidelines¹⁷.

Evaluación de la motilidad gastrointestinal *in vivo*^{18,19}

Se administraron las sustancias en estudio de acuerdo a la conformación de grupos antes mencionada. En los casos en que se usó la vía oral (vo), después de 30 minutos de iniciar la intervención se procedió a administrar el marcador carbón activado al 5% a dosis de 0,1 mL/10 g de peso vo. Luego de 30 minutos, se procedió a sacrificar a los animales por dislocación cervical. Posteriormente, se realizó una disección tipo laparotomía, y se extrajo el intestino delgado desde la porción pilórica hasta el colon y se procedió a medir la distancia recorrida del carbón activado, que contenía por lo menos un cm continuo de carbón, entre la porción pilórica y la unión ileocecal. En los grupos en que se administró la sustancia en estudio por la vía intraperitoneal (ip) se realizó el mismo procedimiento, luego de 5 minutos de la administración intraperitoneal.

La distancia se expresó como la media del porcentaje de la longitud total del intestino recorrida por el carbón (en cm) $\pm$ error estándar. Dos personas se encargaron de la medición de la longitud total del intestino y del recorrido del carbono activado, sin saber a cuál grupo pertenecían estas muestras y así evitar sesgos en los datos obtenidos.

Aspectos Éticos

El estudio fue aprobado por el Instituto de Investigación de la facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres, ciñéndose a los principios y los lineamientos para las investigaciones en animales de laboratorio, referidos en los siguientes documentos: International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals²⁰, El Comité de Ética para el Uso de Animales (CIEA) – UPCH²¹, y el Comité de Institucional de Ética para el uso de animales en investigación – INS²².

Análisis Estadístico

Para evaluar las diferencias entre la distancia recorrida por el carbón activado y el grupo de estudio asignado, reflejado en el porcentaje de motilidad intestinal, se usó la prueba de ANOVA de una vía con prueba post-hoc de Sidak. Adicionalmente, se usó la R de Spearman para analizar la relación entre el porcentaje de motilidad intestinal y la dosis suministrada, por vía de administración. Se consideró

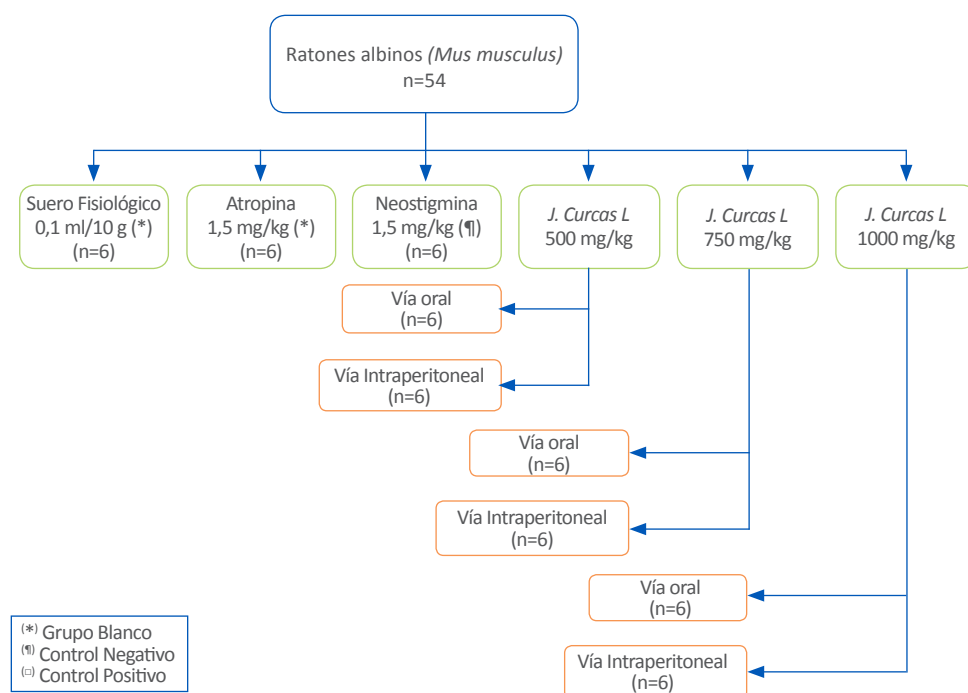


Gráfico 1. Conformación de grupos y número de animales de experimentación por intervención y dosis administrada.

significancia estadística cuando se obtuvo un valor $p < 0,05$; con un intervalo de confianza al 95%. El procesamiento de datos se realizó usando la estrategia de cegamiento, donde dos colaboradores realizaron el análisis estadístico sin conocer a que grupo estaban evaluando²³. Se empleó como soporte informático Microsoft Office Excel 2010 y el programa estadístico GraphPad Prism v. 5.01 para Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA, www.graphpad.com®.

Resultados

Se encontró una distribución normal en la variable del porcentaje de recorrido del carbón activado, siendo los grupos que recibieron el extracto de *Jatropha curcas* L. a dosis de 500 mg/Kg y 1000 mg/Kg vía oral, los que tuvieron un mayor recorrido en promedio, superando al control positivo (Gráfico 2). Se encontraron diferencias significativas al evaluar el porcentaje de motilidad intestinal por grupo de estudio ($p < 0,001$).

Se observó una tendencia a disminuir la motilidad intestinal cuando se administró *J. curcas* L. por la vía intraperitoneal, en especial a las dosis de 500 y 1000 mg/kg ($39.3\% \pm 15.1\%$ y $28.7\% \pm 14.3\%$, respectivamente), sin embargo, los promedios no fueron inferiores a lo mostrado por el control negativo atropina ($15.9\% \pm 4.9\%$).

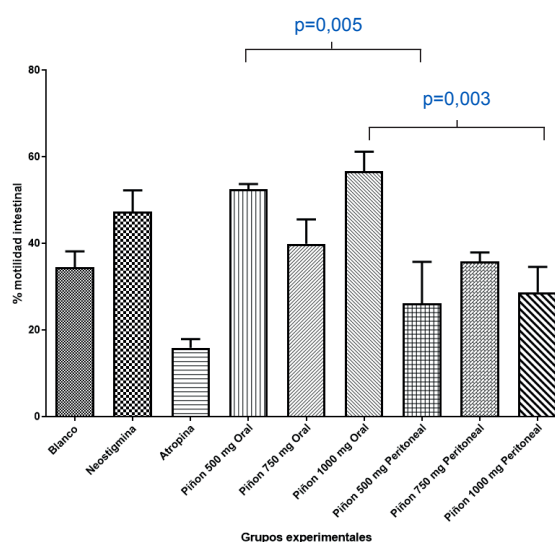


Gráfico 2. Distribución del porcentaje de motilidad intestinal por grupos de estudio

En cuanto a las pruebas de comparación múltiple de Sidak se determinó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre Piñón 500 mg/Kg vía oral versus Piñón 500 mg/Kg vía peritoneal; y entre Piñón 1000 mg/Kg vía oral versus Piñón 1000 mg/Kg vía peritoneal.

Los grupos que recibieron dosis de 750 mg/Kg peso, mostraron una media de $39.9\% \pm 13.8\%$ por vía oral y de $35.9\% \pm 5.2\%$ en la vía intraperitoneal. Ninguno de estos grupos evidenció diferencias significativas en comparación a los grupos controles, o entre ellas ($p > 0.05$). Así mismo, no se encontró algún grupo de estudio que mostrara diferencias significativas con el grupo blanco, ni una relación dosis-dependiente con el porcentaje de motilidad intestinal tanto por la vía oral ($p = 0.171$; $p = 0.499$) o por vía intraperitoneal ($p = 0.066$; $p = 0.796$).

Discusión

El presente estudio encontró diferencias significativas entre los promedios de motilidad intestinal al comparar las vías de administración oral e intraperitoneal en dosis de 500 mg/Kg y 1000 mg/Kg, siendo mayor el porcentaje de motilidad intestinal en la administración por vía oral. Adicionalmente, se observó algún tipo de incremento en la motilidad intestinal, aunque no significativo, solo en la vía oral; mientras que el efecto en la vía intraperitoneal fue similar al blanco o levemente menor (dosis de 1000 mg/Kg). Estos hallazgos no están acorde a lo encontrado en estudios previos donde se mostró un efecto estimulante de la motilidad intestinal por parte de la semilla de *J. curcas* L. cuando fue administrada por vía oral en roedores a dosis similares a la de este estudio^{2,24}.

Estos resultados podrían atribuirse a un efecto de primer paso en algún componente bioactivo del extracto, lo que por ejemplo, podría evitar una biotransformación hepática cuando el compuesto se administra por vía intraperitoneal²⁵. Se ha demostrado que compuestos fitoquímicos como flavonoides, alcaloides y polifenoles, que están presentes en la semilla de *J. curcas* L.²⁶, y tienen efectos en la motilidad intestinal²⁷⁻²⁹, son sensibles a la activación de sus efectos biológicos por intermedio de compuestos hepáticos como el citocromo P450. Estudios futuros deben realizar una caracterización fitoquímica adecuada de los componentes específicos de estos extractos para poder proponer que posibles metabolitos puedan ser los causantes de estos resultados, a pesar de que ya se tenga conocimiento de algunos componentes con actividades biológicas³⁰.

Por otro lado, los resultados obtenidos en la dosis de 750 mg/Kg parecen contravenir el incremento secuencial de la motilidad intestinal observado en las otras dosis en un estudio previo². La principal hipótesis que postulamos es una posible falla en la técnica de administración, ya que adicionalmente, se encontró un efecto menor a lo esperado en el grupo atropina, lo que sugiere buscar causas operativas de estos resultados discordantes. A diferencia de ello, en el grupo al que se le administró neostigmina si se encontró el efecto biológico esperado, observándose un incremento significativo de la motilidad intestinal³¹.

Otros factores a considerar adicionalmente a la dosis, son el tiempo de exposición y la vía de administración de estos compuestos vegetales. Con respecto al factor temporal, ya se había mencionado previamente que, en estudios con exposiciones menores a los siete días, se había observado efectos antidiarreicos^{7,8}; a diferencia de estudios que administraron extractos de esta especie vegetal por más de quince días en forma sostenida⁹.

Si bien no se encontró una relación dosis-dependiente estadísticamente significativa, considerando los hallazgos

en las dosis de 500 mg/Kg y 1000 mg/Kg y la posibilidad de error en la administración de la dosis de 750 mg/Kg, no se puede descartar la relación antes mencionada con el solo análisis de estos datos. Además, esta relación dosis-dependiente ya ha sido sugerida en estudios previos que evalúan otros efectos biológicos de la semilla de *J. curcas* L en presentación de extractos alcohólico y acuoso^{2,32}.

Una de las limitaciones de este estudio es que no se puede precisar el sitio de acción, ni el nivel molecular en la actividad sobre la motilidad intestinal demostrada para la semilla de *Jatropha curcas* L., hechos que deberán explorarse en futuros estudios. Así mismo, es pertinente que los resultados observados en este estudio deben ser replicados por otros grupos de investigación, debido al potencial efecto biológico observado en estudios previos^{2,14,24}.

En conclusión, se encontraron diferencias en la motilidad intestinal entre la administración por vía oral y vía intraperitoneal de los extractos etanólicos de *Jatropha curcas* L., en dosis de 500 mg/Kg y 1000 mg/Kg, en ratones albinos (*Mus musculus*).

Referencias bibliográficas

1. Llanes Coronel DS. Actividad inmunomoduladora de extractos de 10 plantas de la familia Euphorbiaceae. 2009.
2. Rueda C, María J, Fartolino Guerrero A, et al. Efecto sobre la motilidad intestinal del extracto de alcaloides de semilla de *Jatropha curcas* L. *Rev Cuba Plantas Med.* 2013;18(1):84-91.
3. Maravi DK, Mazumdar P, Alam S, Goud VV, Sahoo L. *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.). *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 2015;1224:25-35. doi:10.1007/978-1-4939-1658-0_3
4. Villegas LF, Fernández ID, Maldonado H, et al. Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Perú. *J Ethnopharmacol.* 1997;55(3):193-200.
5. Becker K, Makkar HPS. *Jatropha curcas*: A potential source for tomorrow's oil and biodiesel. *Lipid Technol.* 2008;20(5):104-107. doi:10.1002/lite.200800023
6. Bernal HY, García Martínez H, Sánchez Q, Felipe G. *Pautas para el conocimiento, conservación y uso sostenible de las plantas medicinales nativas en Colombia: Estrategia nacional para la conservación de plantas.* Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt; 2011. <http://repository.humboldt.org.co/handle/20.500.11761/31427>. Accessed May 18, 2018.
7. Sharma SK, Singh H. A review on pharmacological significance of genus *Jatropha* (Euphorbiaceae). *Chin J Integr Med.* 2012;18(11):868-880. doi:10.1007/s11655-012-1267-8
8. Mujumdar AM, Upadhye AS, Misar AV. Studies on antidiarrhoeal activity of *Jatropha curcas* root extract in albino mice. *J Ethnopharmacol.* 2000;70(2):183-187.
9. Shah V, Sanmukhani J. Five cases of *Jatropha curcas* poisoning. *J Assoc Physicians India.* 2010;58:245-246.
10. Abdu-Aguye I, Sannusi A, Alafiya-Tayo RA, Bhusnurmath SR. Acute toxicity studies with *Jatropha curcas* L. *Hum Toxicol.* 1986;5(4):269-274.
11. Pablo Pérez SS. Separación y evaluación del efecto anti-inflamatorio y antioxidante de los flavonoides de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. 2011. <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/8914>. Accessed May 18, 2018.
12. Gad SC. *Animal Models in Toxicology.* 2nd ed. Boca Raton (FL): Taylor & Francis; 2006.
13. Cerrate E. *Manera de Preparar Plantas Para Un Herbario.* Lima: Museo de Historia Natural, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.; 1969.
14. Goicochea-Lugo S, Zavala-Flores E, Salazar-Granara A. Mecanismos de interacción entre el extracto etanólico

- de *Jatropha curcas* L. y metoclopramida en el sistema gastrointestinal. *Horiz Méd.* 2014;14(2):27-33.
15. Vizcano RLM, Torres CD la rosa, Pérez AM. Actividad antifúngica del extracto total en etanol de la hojas frescas de *pedilanthus tithymaloides* L. (ultimorrial). *Sci Tech.* 2007;1(33). doi:10.22517/23447214.6171
 16. Hau J, Schapiro SJ. *Handbook of Laboratory Animal Science: Essential Principles and Practices*. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press Inc; 2010.
 17. UBC Animal Care Guidelines. Subcutaneous (SC or SQ) Injection in Rats and Mice. Standard Operating Procedure (SOP). 2012. <https://animalcare.ubc.ca/sites/default/files/documents/ACS-2012-Tech11.pdf>.
 18. Arbós J, Zegrí A, López-Soriano FJ, Argilés JM. A simple method for determining the rate of gastrointestinal transit in the rat. *Arch Int Physiol Biochim Biophys.* 1993;101(2):113-115. doi:10.3109/13813459309008878
 19. Salinas A DI, Araujo G JC, Cisneros H CB, et al. Inhibición del tránsito intestinal por el extracto metanólico de las hojas de *Annona muricata* L (guanábana) en ratones. *Cienc E Investig.* 2014;14(1):9-14.
 20. The Council for International Organizations of Medical Sciences. *International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals*. Genova: CIOMS; 1985.
 21. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Comité Institucional de Ética para Animales. <http://www.upch.edu.pe/vrinve/duict/comite-institucional-de-etica-para-animales>. Published 2016. Accessed May 22, 2018.
 22. Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales en Investigación. *Reglamento Del Comité Institucional de Ética Para El Uso de Animales En Investigación.*; 2012:8. http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/2/jer/ciea_cronograma/REGLAMENTO__Y_RJ_CIEA.pdf.
 23. Herrero FT, Tato F. *Bases metodológicas del ensayo clínico*. Univ Santiago de Compostela; 1998.
 24. Pabón LC, Hernández-Rodríguez P. Importancia química de *Jatropha curcas* y sus aplicaciones biológicas, farmacológicas e industriales. *Rev Cuba Plantas Med.* 2012;17(2):194-209.
 25. Sanchez-Salazar L, Gonzales GF. Aqueous extract of yellow maca (*Lepidium meyenii*) improves sperm count in experimental animals but response depends on hypocotyl size, pH and routes of administration. *Andrologia.* 2018;50(3). doi:10.1111/and.12929
 26. ul Haq MN, Wazir SM, Ullah F, Khan RA, Shah MS, Khatak A. Phytochemical and biological evaluation of defatted seeds of *Jatropha curcas*. *Sains Malays.* 2016;45(10):1435-1442.
 27. Anna-Marja A. *In Vitro Digestion Models for Dietary Phenolic Compounds*. Finland: VTT Biotechnology; 2005.
 28. Di Carlo G, Autore G, Izzo AA, et al. Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationships. *J Pharm Pharmacol.* 1993;45(12):1054-1059.
 29. Vezza T, Rodríguez-Nogales A, Algieri F, Utrilla MP, Rodríguez-Cabezas ME, Galvez J. Flavonoids in Inflammatory Bowel Disease: A Review. *Nutrients.* 2016;8(4):211. doi:10.3390/nu8040211
 30. Abdelgadir HA, Van Staden J. Ethnobotany, ethnopharmacology and toxicity of *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae): A review. *South Afr J Bot.* 2013;88:204-218. doi:10.1016/j.sajb.2013.07.021
 31. Parthasarathy G, Ravi K, Camilleri M, et al. Effect of Neostigmine on Gastrointestinal Motility in Patients With Suspected Gastrointestinal Motility Disorders. *Neurogastroenterol Motil Off J Eur Gastrointest Motil Soc.* 2015;27(12):1736-1746. doi:10.1111/nmo.12669
 32. Rug M, Ruppel A. Toxic activities of the plant *Jatropha curcas* against intermediate snail hosts and larvae of schistosomes. *Trop Med Int Health.* 2001;5(6):423-430. doi:10.1046/j.1365-3156.2000.00573.x