

204
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**DETERMINACION DE LA DOSIS LETAL 50% DEL
EXTRACTO ACUOSO DE LA HOJA DE COLORIN
(Erythrina americana) EN RATAS LONG-EVANS.**

**TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
MIGUEL ANGEL ROMERO JACOBO**

Asesores: M.V.Z. Luz Lozano N.
M.V.Z. Carlos Calderón F.



MEXICO, D. F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1989



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN

Romero Jacobo Miguel Angel. Determinación de la dosis letal 50% del extracto acuoso de la hoja de colorín (Erythrina americana) en ratas Long-Evans. (Bajo la dirección de los MVZ Luz Lozano N. y Carlos Calderón F.)

Este trabajo se realizó con el objeto de profundizar en el conocimiento y utilización de las plantas en el área de la Medicina Veterinaria.

Se utilizaron 105 ratas Long-Evans machos con peso promedio de 200g divididos en 7 lotes de 15 cada uno, 6 lotes de prueba y uno de testigo. A los 6 primeros lotes se les aplicó 3 ml de infusión acuosa con un PH de 5.7 de las hojas de la Erythrina americana (colorín) por vía intraperitoneal, obteniéndose los siguientes resultados: en el primer lote al que le fue aplicada la infusión (100g de hoja de colorín en 10ml) al 100%, las 15 ratas murieron en un lapso promedio de 10 minutos; en el lote 2 (90%) 12 animales murieron en un lapso promedio de 10 minutos y 3 vivieron; en el lote 3 (80%) diez murieron en un promedio de 14 minutos y 5 vivieron; en el lote 4 (70%) 8 murieron en un promedio de tiempo de 18 minutos y 7 vivieron; en el lote 5 (60%) 4 murieron en un promedio de 15 minutos y 11 vivieron; en el lote 6 (50%) 2 murieron en un promedio de 20 minutos y 13 vivieron, encontrándose que la dosis letal 50% fue al aplicarse al 70% de concentración el extracto acuoso con PH

de 5.7 de las hojas frescas de la Erythrina americana al ser analizadas por el método de Reed y Muench; en el lote testigo se inyectaron 3 ml de agua destilada a cada una de las ratas por vía intraperitoneal y los 15 vivieron.

Los cambios que presentaron los animales fueron desde simple letargia unos, hasta postración en decúbito lateral, movimientos de carrera, boqueo, disnea, incoordinación muscular, movimientos masticatorios, cianosis, taquipnea, brinco, movimientos de rascado, paro respiratorio y muerte.

INTRODUCCION

El estudio de la herbolaria ha sido revalorado y promovido con entusiasmo en los últimos años, tanto en su aspecto medicinal como en otros usos. Su aplicación a los animales es también conocida por nuestros pueblos desde hace mucho tiempo, sobre todo en las pequeñas explotaciones. Este conocimiento surge de una gran capacidad de observación y se ha preservado gracias a la transmisión oral de generación en generación.

La herbolaria de nuestro país, con sus raíces mágico-religiosas y sus implicaciones culturales y socioeconómicas, juega en la actualidad un papel importante que debe ser considerado en las investigaciones de las ciencias básicas y aplicadas(9).

El colorín (*Erythrina americana*) es una planta ampliamente conocida y distribuida en nuestro país y tiene un gran potencial de utilización en diferentes áreas. Ordoñez nos refiere que la primera descripción del colorín se remonta a la obra de Francisco Hernández quien lo nombra como "Arbol de Tzonpanquáhuitl o planta de corales", se conoce que tuvo su origen en el continente americano. Hernández lo describe como un "árbol grandé con hojas de figura de corazón y vainas en racimo, del grueso de un dedo

y de un palmo de largo que encierra semillas parecidas a los frijoles en forma y sabor, pero de un color tal que podrían tomarse como corales rojos. Tiene madera azafanada y su corteza es tan ligera como la del alcornoque, en algunas regiones es utilizada con frecuencia. Esta especie puede desarrollarse en varias regiones, pero principalmente en lugares cálidos y húmedos donde adornan los setos y cercas de los huertos"(14).

Los antiguos mexicanos utilizaron las semillas en un juego parecido al de los dados, llamado "Patol", nombre que también recibía antiguamente la Erythrina americana y que proviene del náhuatl "Patolli"; también fue utilizada para el tratamiento de las enfermedades del tórax (14).

En el año de 1939, Maximino Martínez menciona: "la madera es bofa, ligera y muy blanda, por lo que se utiliza para hacer esculturas, tapones de botellas y tablones. El colorín se ve con frecuencia sembrado en los cercados y jardines como planta ornamental por la hermosura de su follaje y sobre todo por sus flores, las cuales son comestibles fritas con huevo dándole un sabor parecido al de la carne" (12). También existen reportes del uso de la corteza y las semillas para el tratamiento de corea (8).

Se ha utilizado popularmente el fruto del colorín para curar la inflamación de brazos, piernas y de cabeza; y las picaduras de insectos aplicado localmente. Asimismo, la hoja se aplica en forma local para curar abscesos y úlceras y en

menor medida, por vía oral para aliviar las picaduras de moscos (5).

El árbol del colorín mide hasta nueve metros de altura, con ramas espinosas, hojas alternas con tres anchos foliolos, glabros, deltoides, ovados, florescencia en racimo con flores rojas; el fruto es una vaina con pocas o muchas semillas rojas (1).

Cita Del Amo Silvia que según la clasificación botánica de Engler y Von Wetstein, se identifica al colorín como parte del reino vegetal (2):

División: Embryophyta sinphonogama

Subdivisión: Angiosperma.

Clase: Dicotyledonea.

Subclase: Archichlamidae.

Orden: Rosales.

Familia: Leguminosae.

Género: Erythrina.

Especie: americana.

La sinonimia de la Erythrina americana es:

Alcaparra, Madre brava y Madre chontal (Tabasco);
Colorín (Tlaxcala); Coralina, Cosquelite (Baja California);

Chak mol che y Xoyo (lengua maya, Yucatán); Chotza, Quemite (Hidalgo); Equimite (Puebla); Pichoco y Pito (Veracruz); Pipal y Tzompancianitl (Chiapas); Puregne (Michoacán); Sompantli (Estado de México, Guerrero, Oaxaca); Tzompanetle (Guerrero); Tzomponmitl y Zumpance (Morelos); Zompantli (lengua náhuatl) (2).

El colorín se encuentra geográficamente distribuido en casi toda la República Mexicana, pero principalmente en los estados de Veracruz, Chiapas, Yucatán y México. Vive en climas cálidos y templados y sobre terrenos medianamente fértiles. En el valle de México se le puede encontrar en suelos relativamente pobres, alcanzando en este caso un menor desarrollo. El género Erythrina comprende unas 104 especies, de las cuales 51 corresponden a América, 32 a Africa, 18 a Asia y 3 a Australia (14).

Maximino Martínez cita que en 1878, el Dr. Rio de la Loza, en un experimento realizado en perros, descubre que las semillas son venenosas debido a la presencia de un alcaloide al que llamó eritrocoraloidina (12).

Maximino Martínez nos refiere que el profesor J. M. Prieto describe que en la corteza se encuentra un alcaloide de efecto narcótico y que el Dr. Fernando Altamirano, en 1888, informa de otro alcaloide al que llamo coraloidina y

describe que produce parálisis de nervios motores produciéndose un efecto curariforme al administrarse por vía intravenosa y en menor medida por vía oral (12).

Mariel, en 1956, describe la composición de la grasa del colorín, encontrando también la presencia de alcaloides en la grasa (11). Barrera, en 1958, realiza una valoración de los alcaloides en el colorín encontrando que la semilla es la que presenta mayor cantidad 1.63%, la hoja 0.07%, el tallo 0.17% y por último la raíz con 0.027% (3). Núñez en 1969 realiza un estudio del tronco del colorín e informa de la presencia de alcaloides (13).

Rebolledo, en 1970, informa de los alcaloides que tiene la Erythrina americana: Eritroidina, Erisodina, Erivina, Ensopina, Erisotiovina, Hipaforina (15).

En el año de 1958 Barrera informa de la composición química de la semilla del colorín y resalta la presencia de un alcaloide en 1.61%, 13.35% de grasa sólida y grasa líquida, 15% de fécula y 39.1% de materias inorgánicas (3).

El alcaloide de las hojas verdes de Erythrina americana tiene una composición similar a la del curare, por tanto su acción es competitiva con la acetilcolina a nivel de los receptores nicotínicos de la célula muscular esquelética

Es característica la presencia de debilidad y parálisis flácida del músculo esquelético cuando se aplica intravenosamente la D-tubocurarina o sustancias similares. Los músculos de la cara, cuello, ojos y faringe son los primeros debilitados produciendo en el individuo consciente dificultad para hablar, acumulación de secreciones en la garganta y diplopía; los músculos del tórax se ven debilitados y finalmente su efecto en el diafragma produce paro respiratorio (6).

Maksabedian, en 1978, comprobó que el efecto del alcaloide de las hojas verdes del colorín administrado como infusión en una población de caninos resultó similar a la D-tubocurarina, e incluso provocó la muerte en dos individuos con una infusión preparada con 100g de hojas del colorín en ebullición durante 60 minutos comenzando su efecto en 2 minutos y alcanzando su máximo efecto en 5 minutos (10).

Guerrero, en 1980, menciona que las semillas se han usado como veneno para pequeños animales en algunas áreas; esta autora efectuó un estudio de los factores tóxicos de Erythrina americana en el que obtuvo la dosis letal 50% (DL50) en ratones a partir del aceite de la semilla, de la semilla cruda y de la semilla cocida de Erythrina americana los cuales fueron inyectados por vía intraperitoneal y se obtuvieron las siguientes DL50: con el aceite 6,700 mg por kg, con la semilla cruda 1,352 mg por kg y de 1,539.4 mg por kg con la semilla cocida (7).

A través de la historia, el hombre ha dominado y modificado su medio ambiente con el objeto de lograr su sobrevivencia, sin embargo este desarrollo no ha sido fácil ya que en la búsqueda de técnicas adecuadas para mejorar su nivel de vida ha tropezado con problemas creados por diversos tipos de plagas. Frecuentemente tales actividades productivas se ven afectadas por la acción de pequeños mamíferos que existen como un hecho natural. Estos problemas se pueden encontrar en diferentes situaciones: En huertos, tierras de cultivo, granjas, pastizales, bosques, etc. Casi siempre los mamíferos implicados son roedores de varias clases; aunado a lo anterior, estos roedores han sido vectores de diversas enfermedades que afectan al hombre y a los animales domésticos (16).

Los roedores se encuentran ampliamente distribuidos en el mundo y juegan un papel muy importante como reservorio y transmisor de enfermedades al hombre y otros mamíferos (16). En un mundo en el que cada vez existe más hambre, los roedores destruyen aproximadamente la quinta parte de todas las cosechas. Frecuentemente el médico veterinario zootecnista (MVZ) se ve con la necesidad de controlar esta plaga que afecta de alguna forma la salud y el bienestar del hombre y sus animales, por esta razón cada día se hace más necesario que profesionistas como el MVZ estén capacitados para hacer frente a este problema y despertar la conciencia de sus congéneres sobre la magnitud del mismo (16).

La acción farmacológica reportada del extracto acuoso de las hojas del colorín podría ser aprovechada para iniciar la investigación de su uso como posible rodenticida. Por medio de la determinación de la DL50 se daría la pauta para la búsqueda de datos sobre su toxicidad. Así, quizás podría encontrarse a largo plazo una gran ventaja para el control de uno de los problemas más fuertes de salud pública y de pérdidas económicas.

Las características deseadas de un rodenticida ideal son las siguientes: que sea biodegradable, de fácil manejo, económico, fácil de obtener, que no necesite alta tecnología, que sea un producto nacional, que sea específico, que se pueda administrar por vía oral (que sea palatable o sin sabor), que sea altamente tóxico, que mate rápidamente por paro respiratorio, que al ser ingerido no cause daño desde cavidad oral y en todo el tracto digestivo, de fácil absorción, soluble en agua, no tóxico al hombre ni animales domésticos, que exista antidoto y que no cree resistencia(*)

Los objetivos que se persiguen con el presente trabajo son determinar la dosis letal 50% al aplicar extracto acuoso de las hojas del colorín por vía intraperitoneal, observar el comportamiento de las ratas posterior a la administración

* MVZ Alejandro Velasco Said. Director de la Campaña contra la Fauna Nociva de la Secretaría de Salud en el D.F. Comunicación personal.

del extracto y determinar el tiempo de latencia del efecto así como la presentación de la muerte, si así sucede.

Nuestra hipótesis es que la administración del extracto acuoso de las hojas frescas de Erythrina americana a ratas Long-Evans por vía intraperitoneal producirá la muerte dependiendo de la dosis, debido a su efecto curariforme.

MATERIAL Y METODOS

Previa identificación taxonómica del árbol del colorín que habita en los terrenos de Cd. Universitaria, se colectaron las hojas y se llevaron al Departamento de Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en donde se prepararon infusiones con diferentes cantidades de hoja agregadas a volúmenes de 500 ml de agua bidestilada y sometidos a ebullición hasta obtener un volumen final de 10 ml en todos los casos. Estas infusiones se utilizaron para realizar una prueba preliminar con el objeto de obtener una dosis inicial capaz de producir efectos tóxicos en los animales. Con base en los resultados de este estudio, a la infusión preparada con 100 g de hoja fresca en 500 ml de agua bidestilada sometidos a ebullición hasta obtener un volumen final de 10 ml, se le consideró la infusión madre, o bien la infusión al 100%. A partir de ésta, se prepararon cinco diluciones porcentuales: Se tomaron 9 ml de la infusión al 100% y se aforó a 10 ml con agua bidestilada para obtener la dilución al 90%; para la siguiente, se tomaron 8 ml de la infusión al 100% y se aforó a 10 ml, para obtener la de 80%; y así sucesivamente hasta contar con las siguientes concentraciones: 100%, 90%, 80%, 70%, 60% y 50%. Cada concentración se aplicó en dosis única de 3 ml por vía intraperitoneal a los animales del lote respectivo. Cada lote estuvo formado por 15 ratas Long-Evans

adultas machos, clínicamente sanas, con peso aproximado a 200 g, provenientes del bioterio convencional del Departamento de Fisiología y Farmacología de la F.M.V.Z. de la UNAM. Al lote testigo se le aplicó agua bidestilada como placebo.

Posteriormente a la aplicación del tratamiento se observaron los diferentes lotes de manera continua durante el tiempo necesario para registrar el inicio del efecto, el comportamiento y, en su caso, la muerte de los animales para determinar la DL50 por el método de Reed y Muench (4).

RESULTADOS

La aplicación de la infusión madre o al 100% en el lote uno provocó la muerte de los 15 animales en un tiempo promedio de 10 ± 2 minutos (cuadro 2); los animales presentaron cambios en su comportamiento a partir de los dos minutos post-inoculación manifestándose con letargia y somnolencia, posteriormente estiramiento del cuerpo, postración en decúbito esternal y decúbito lateral, incoordinación muscular, parálisis de miembros posteriores; se observaron movimientos de rascado, masticatorios y de carrera mientras estaban postrados, taquipnea, disnea, cianosis, paro respiratorio y muerte.

Al lote 2 se le aplicó la infusión al 90% de concentración; 13 animales murieron en un tiempo promedio de 10 ± 3 minutos y dos sobrevivieron. Las manifestaciones de los animales que murieron fueron las mismas que las del lote 1 y los dos que sobrevivieron presentaron letargia, somnolencia, postración en decúbito lateral y esternal, disnea y taquipnea.

Al lote 3 se le aplicó la infusión al 80% de concentración; en este lote los muertos fueron 10 en un lapso promedio de 14 ± 3 minutos presentando las mismas manifestaciones que los muertos de los lotes anteriores y 5 sobrevivieron con manifestaciones como las de los sobrevivientes del lote 2.

Al lote 4 se le aplicó la infusión al 70% de concentración obteniéndose 8 animales muertos en un tiempo promedio de 15 ± 3 minutos y 7 sobrevivieron; presentando respectivamente las mismas manifestaciones que en el lote 3.

Al lote 5 se le aplicó la infusión al 60% de concentración obteniéndose 4 animales muertos en un tiempo promedio de 18 ± 5 minutos y 11 sobrevivientes con las mismas manifestaciones que en lotes anteriores, respectivamente.

Al lote 6 se le aplicó la infusión al 50% de concentración obteniéndose 2 animales muertos en un tiempo promedio de 25 ± 5 minutos y 13 sobrevivientes con las mismas manifestaciones de los lotes anteriores respectivamente.

Los animales del lote testigo no presentaron cambio alguno después de la aplicación del vehículo.

Con el método de Reed y Muench, se obtuvieron los siguientes resultados (Cuadro uno).

DISCUSION

Se infiere que la infusión acuosa de las hojas del colorín aplicada por vía intraperitoneal a una concentración del 70% es capaz de matar al 50% de ratas Long-Evans machos de un peso promedio de 200g y la infusión a una concentración del 100% es capaz de matar al 100% de las ratas inyectadas con 3ml de la infusión por vía intraperitoneal.

La sintomatología y las pautas de comportamiento observadas con la aplicación de las diferentes dosis ratifica el efecto curariforme de las hojas de Erythrina americana reportado en la literatura citada.

De los resultados obtenidos en la muestra utilizada puede inferirse que el extracto acuoso con un PH de 5.7 de la hoja fresca aplicada por vía intraperitoneal de la Erythrina americana cumple con algunas de las características deseadas en el rodenticida ideal, tales como: la facilidad de obtención de la planta debido a su amplia distribución en el territorio nacional; el periodo de latencia (3 a 5 minutos) y la producción de paro respiratorio (10 a 15 minutos) en un lapso corto de tiempo; el paro respiratorio provocaría que el animal abandonara su madriguera buscando mejor ventilación; además de ser biodegradable, de alta toxicidad e hidrosoluble.

Si bien las características anteriores sugieren que la Erythrina americana sea una buena opción en el combate a los roedores considerados como fauna nociva, se hacen necesario posteriores investigaciones para la obtención del principio activo; pruebas farmacológicas para determinar velocidad de absorción y distribución en el organismo, palatabilidad, efectos con la administración oral, tratamiento en caso de intoxicación en el hombre y animales domésticos, momento óptimo de recolección y sobre la conservación y propagación de la planta entre otras.

Cuadro 1. RESULTADOS DE LA APLICACION DEL EXTRACCIO ACUOSO DE LA MELA DEL CYLORTH POR VIA INTRAPERITONEAL EN RATAS LEON-EVANS ANALIZADAS POR EL METODO DE NEFF Y HUFNICH

DILUCION	-2	-1	-0.62	-0.36	0.17	0.0
	10	10	10	10	10	10
+	15/15	13/15	10/15	8/15	4/15	2/15
-	15	13	10	8	4	2
	0	2	5	7	11	13
SUM +	52	37	24	14	6	2
SUM -	0	12	7	14	25	38
TOTAL	52/52	37/39	24/31	14/28	6/29	2/40
**	100.00%	94.87%	77.41%	50.00%	19.35%	0.00%

$$\text{PUNTO FINN} = \frac{-0.36}{10} = \frac{-0.36}{1/10} = 0.36$$

$$\text{TITULO} = 10 \text{ D. 50\% / ml}$$

$$\text{TITULO} = 10 \text{ D. 50\% / ml} = 70\% \text{ concentracion}$$

- MENOR: ANIMALES MUERTOS. CENHINDOR: ANIMALES TRATADOS
- (+) NUMERO DE ANIMALES VIVOS
- (-) NUMERO DE ANIMALES VIVOS
- (SUM+) SUMATORIA DE ANIMALES MUERTOS
- (SUM-) SUMATORIA DE ANIMALES VIVOS
- ** % DE MORTALIDAD

CUADRO 2. RESULTADOS DE LA APLICACION DEL EXTRACTO ACUOSO DE LA HOJA DEL COLONIN

Número de lote	Concentración de la infusión (%)	Número de Animales muertos	Tiempo promedio de muerte (min.)	Mortalidad (%)
1	100.00	15	10 + - 2	100.00%
2	90.00	13	10 + - 3	86.66%
3	80.00	10	14 + - 3	66.66%
4	70.00	8	15 + - 3	53.33%
5	60.00	4	18 + - 5	26.66%
6	30.00	2	25 + - 5	13.33%
7	0.00	0	—	0.00%

LITERATURA CITADA

1. Aguilar, C. A.: Plantas Tóxicas de México. IMSS, México, D.F., 1982.
2. Aguilar, Carmen.: Flora y Fauna Mexicana. Trillas, México, D.F., 1979.
3. Barrera, María.: Valoración del alcaloide en el colorín. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1958.
4. Cunningham, H.Ch.: Virología Práctica. 3a. ed. Acribia Zaragoza, España, 1959.
5. Del Amo, Silvia.: Plantas Medicinales del Estado de Veracruz. Basso, Jalapa, Veracruz, 1979.
6. Goldstein, A.: Farmacología. 2a. ed. Liguas, México, D.F., 1978.
7. Guerrero, Luz María.: Estudio comparativo, composición química y los factores tóxicos de dos variedades de Erythrina (E. breviflora y E. americana). Tesis de licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1980.
8. Howard, H.: Botanical remedies of South and Central America, and the Caribbean : An archival analysis. Part I. J. Ethnopharmacol., 2 : 141 (1981).
9. Lozano, Nathal, Luz. y López, B.G.: Prólogo. Memorias de la primera Jornada sobre Herbolaria Medicinal en Veterinaria. Auditorio Nabor Carrillo de la Unidad de Bibliotecas de la Universidad Nacional Autónoma de México. 1968. 1-3. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1988).
10. Maksabedian de la Roquett, J.: Estudio de los efectos terapéuticos del alcaloide de las hojas de Erythrina americana en canideos. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1978.
11. Mariel, Herrera, Raquel.: Composición de la grasa del colorín. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1956.
12. Martínez, M.: Las Plantas Medicinales de México. 4a. ed. Botas, México, D.F., 1959.

13. NGÑEZ, B.G.: Estudio del tronco del colorín. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1969.
14. Ordóñez, M.J. y Pardo, T.E.: Estudio etnobotánico de tres especies de flores comestibles en la Cd. de Jalapa Veracruz. Biótica, 2: 305-322 (1988).
15. Rebolledo, María Aurora.: Alcaloides del Género Erythrina. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1970.
16. Velasco, S.A. y Nava, N.R.: Ratas y Ratones Domésticos. Libusa, México, D.F., 1988.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA