



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Campus IZTACALA

EVALUACION FARMACOLOGICA DE LAS FRACCIONES HEXANICA E HIDROLIZADA DE ALCALOIDES OBTENIDOS DE SEMILLAS DE *Erythrina americana* MILL.



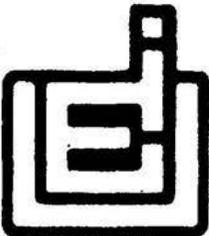
U.N.A.M. CAMPUS IZTACALA

BO 1325/97
e. 2

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A:
JORGE ELISEO RAMIREZ LUNA

DIRECTOR DE TESIS:

I. B. Q. MARIA EUGENIA GARIN AGUILAR





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

A TODOS AQUELLOS HOMBRES DE CIENCIA QUE FUERON
GIGANTES Y QUE NOS HAN PUESTO SOBRE SUS
HOMBROS PARA QUE PODAMOS VER MÁS ALLA DE LAS
COLINAS

A DIOS,

POR DARME LA OPORTUNIDAD DE VIVIR

A JESÚS,

POR ENSEÑARME EL CAMINO PARA VIVIR

A MI MADRE Y A MI PADRE

POR APOYARME Y DARME LA LIBERTAD DE SER

A MIS HERMANOS

POR SER TAN LATOSOS Y TENER TANTAS ASPIRACIONES

A TI SARA

PORQUE ESTAS A MI LADO Y ME HAS DADO ANIMO

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Becas de apoyo para Tesis de Licenciatura en Investigación de la Fundación UNAM.

A la IBQ María Eugenia Garín Aguilar, por su amistad, apoyo y enseñanzas durante estos 2 años de trabajo.

Al M. en C. Gustavo Valencia Del Toro, por sus comentarios y sugerencias al trabajo.

A mis asesores de tesis M. en C. José Guillermo Ávila Acevedo, Biólogo José Luis Muñoz López, M. en C. Bertha Segura Alegría y M. en C. Cesar Mateo Flores Ortiz por sus atinadas observaciones y sugerencias.

A todos los maestros, técnicos académicos y personas que durante la carrera nos ayudaron a aprender y descubrir tantas maravillas.

A todos mis amigos de generación (espiritual y física), a Salo y Naye, por su apoyo y confianza, a Nacho, por su ayuda y compañía en esta tesis (a ver cuando te decides), a Toño y Vero por sus porras, a Adrián, por sus comentarios, a Cynthia, a Dano y por falta de espacio a toda la bola de Biólogos errabundos que compartió los sinsabores y las alegrías de esta hermosa carrera.

INDICE	i
INDICE DE CUADROS	ii
INDICE DE FIGURAS	iii
RESUMEN	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	
1. Generalidades de alcaloides	6
2. Distribución del género Erythrina	7
3. Etnobotánica y usos del género Erythrina en México	8
4. Aspectos químicos de los alcaloides de Erythrina	9
5. Aspectos farmacológicos de los alcaloides de Erythrina	11
6. Métodos de extracción de alcaloides	18
7. Estrés, agresión y métodos de estudio	20
a) Conducta agresiva	21
b) Métodos para provocar agresión	24
III. OBJETIVOS	27
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	
1. Colecta y determinación taxonómica	

de ejemplares	28
2. Extracción de las fracciones alcaloides	28
3. Prueba farmacológica	
a) Determinación de la dosis letal media (DL ₅₀)	30
b) Evaluación de la conducta agresiva en ratas	31
i) Aislamiento visual	32
ii) Administración de tratamientos	33
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
1. Clasificación taxonomica	35
2. Extracción de las fracciones alcaloides	35
3. Prueba farmacológica	
a) Determinación de la dosis letal media (DL ₅₀)	39
b) Evaluación de la conducta agresiva	
en ratas	42
i) Conducta agresiva antes y después	
del aislamiento visual	42
ii) Conducta agresiva después de	
administrar los tratamientos	44
VI. RECOMENDACIONES	48
VII. CONCLUSIONES	49
BIBLIOGRAFÍA	50

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.- Trabajos realizados con plantas del género Erythrina.	12
Cuadro 2.- Dosis letal media de varios alcaloides del género Erythrina.	13
Cuadro 3.- Escala estimativa de Brady y Nauta.	32
Cuadro 4.- Diseño estadístico para evaluar el incremento de conducta agresiva antes y después del aislamiento visual.	33
Cuadro 5.- Diseño estadístico para evaluar la conducta agresiva a lo largo de la prueba.	33
Cuadro 6.- Valores porcentuales de distintas fracciones alcaloideas del género Erythrina.	36
Cuadro 7.- Conducta agresiva de los grupos experimentales antes y después del aislamiento visual.	42
Cuadro 8.- Valor promedio de conducta agresiva de los grupos experimentales a lo largo de la prueba.	44
Cuadro 9.- Valor de las pendientes para cada tratamiento.	47

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1.- Estructuras generales de los alcaloides de Erythrina.	10
Fig. 2.- Metodología para la extracción de las fracciones alcaloideas.	29
Fig. 3.- Metodología para la evaluación de la conducta agresiva en ratas.	34
Fig. 4.- Valor estimado para la DL_{50} de la fracción hexánica.	40
Fig. 5.- Valor estimado para la DL_{50} de la fracción hidrolizada.	40
Fig. 6.- Conducta agresiva antes y después del aislamiento visual.	43
Fig. 7.- Conducta agresiva a lo largo de la prueba farmacológica.	46

RESUMEN

Investigaciones etnobiológicas en la región Huasteca del estado de San Luis Potosí, México, indican un efecto tranquilizante producido por ejemplares del género *Erythrina*. Desde 1888, la acción curaniforme había sido reportada para los extractos alcaloideos de las semillas de *Erythrina americana*. En 1937, Folkers y Major informaron que los extractos eran una mezcla de dos alcaloides isoméricos a los que se denominó α y β -erythroidina. Estudios farmacológicos posteriores señalaron que los alcaloides de *Erythrina* presentan también efecto relajante, anticonvulsivo, anestésico e hipnótico.

Se colectaron semillas de *Erythrina americana* en los jardines de la UNAM-Iztacala y se sometieron al proceso de extracción descrito por Soto-Hernández (1989). Se evaluó el efecto que presentan las fracciones crudas de alcaloides solubles en hexano y de alcaloides liberados por hidrólisis sobre la conducta agresiva en ratas.

Se determinó la dosis letal media (DL_{50}) en ratones, aplicando dosis desde 35.28 mg/kg a 47.05 mg/kg para ambas fracciones. Se evaluó el efecto tóxico y se contabilizó el número de individuos muertos.

En la evaluación conductual se emplearon como sujetos (Ss) ratas macho wistar. Se estableció la línea basal de conducta agresiva durante 20 días empleando la escala de Brady y Nauta. Los Ss se aislaron visualmente y se les aplicó los siguientes tratamientos por vía intraperitoneal: solución de NaCl al 0.9% (1 ml/kg), diazepam (2 mg/kg), fracción de alcaloides solubles en hexano (3 mg/kg) y fracción de alcaloides hidrolizados (3 mg/kg), después de la aplicación se continuó evaluando la conducta agresiva de los Ss cada 20 minutos durante 3 h.

La fracción de alcaloides solubles en hexano representó un 0.068% del peso total de las semillas, mientras que los alcaloides obtenidos por hidrólisis ácida, un 0.224%. La dosis letal media obtenida para la fracción hexánica e hidrolizada fue de 40.370 y 39.690 mg/kg respectivamente. La dosis de 3 mg/kg para la fracción de alcaloides solubles en hexano y de alcaloides hidrolizados provocó una reducción significativa en los valores de conducta agresiva. Se concluye que el efecto tranquilizante atribuido a especies de *Erythrina* puede relacionarse con la acción farmacológica de las fracciones de alcaloides crudos observada en este estudio.

I. INTRODUCCIÓN

La etnobiología se refiere al estudio de los aspectos biológicos manejados por los pueblos antiguos, tanto en animales como en plantas que los rodeaban, así como su empleo en el sentido económico, alimenticio, religioso, medicinal y de ornato. De esta rama, la parte más estudiada es la etnobotánica, término utilizado por vez primera en 1896 por Harshberger, haciendo referencia al estudio y conocimiento de las plantas usadas por gente aborigen; actualmente se define como el estudio de las interrelaciones del hombre primitivo o etnias y las plantas (Akerle, *et al.* 1991).

Las plantas se han utilizado en todas las culturas. Una forma de aprovechamiento está asociada con fines medicinales, considerando así a las que presentan un efecto medicinal o las que proveen ciertas drogas útiles para el tratamiento de enfermedades, según los parámetros occidentales. El conocimiento acerca del uso y preparación de estas plantas se conoce como herbolaria y se ha transmitido de generación en generación, ya sea por vía oral o a través de escritos específicos como las farmacopeas y distintos documentos. La herbolaria se ha manejado indistintamente como medicina tradicional, siendo en realidad una parte de la misma. La medicina tradicional se refiere a la empleada por la gente de las comunidades rurales, sin tener una formación académica, como las que tienen la medicina alopática y la homeopática; la medicina tradicional hace uso de plantas, animales, minerales e involucra ciertos aspectos mágico-religiosos y culturales de la comunidad en la que se practica (Ortiz, 1975; Farnsworth y Soejarto, 1991; Soejarto, 1996).

Dentro de las comunidades indígenas la importancia de las plantas medicinales reside en la atención primaria de la salud y a pesar de que su

empleo dentro de la medicina tradicional se encuentra concentrado en los países del tercer mundo, en los países desarrollados se combina el uso de ciertos remedios tradicionales con la medicina alopática. En 1988, en el marco de la International Consultation on Conservation of Medicinal Plants, realizada en Tailandia por el Fondo Mundial para la Naturaleza (WWF); la Unión de Conservación Mundial (IUCN) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), se redacta la declaración de Chiang Mai, donde se resalta la importancia de los estudios etnobotánicos y se proponen tres metas por realizar antes del año 2000: evitar la pérdida de conocimiento y cultura indígena sobre el uso de las plantas de su entorno, conocer y evaluar el valor medicinal de estas plantas y la importancia de la búsqueda de material vegetal que aporte el desarrollo de nuevas drogas, pues una significativa porción de medicamentos no sintéticos y semi-sintéticos con usos clínicos y farmacéuticos se derivan de plantas superiores (Akerlele, *et al.* 1991; Soejarto, 1996).

Se han reportado hasta ahora 121 sustancias químicas de estructura conocida extraídas de plantas superiores con uso común en la medicina alopática. La OMS realizó un estudio sobre plantas medicinales a nivel mundial y tiene un listado de 20 000 especies reportadas, entre las que se encuentran monocotiledoneas, dicotiledoneas, gimnospermas, pteridofitas, briofitas y líquenes. Se calcula que existen entre 35-70 000 especies a nivel mundial con uso medicinal (Farnsworth y Soejarto, 1991).

El resurgimiento a nivel mundial de los estudios etnobotánicos se ha dado en la década de los noventa; Joyce (1992) considera tres aspectos que han contribuido a este fenómeno: en primer lugar, los bosques tropicales, en donde se encuentra la mayor cantidad de plantas medicinales, están desapareciendo rápidamente, lo que implica que quizá miles de especies no

puedan ser conocidas. Varias compañías farmacéuticas han realizado expediciones para tratar de descubrir la diversidad química de las plantas y obtener nuevos medicamentos. En segundo lugar, el estudio de la bioquímica de las enfermedades humanas ha permitido que se encuentren sitios específicos donde sustancias activas farmacológicamente obtenidas de las plantas puedan intervenir. Por último, la investigación biotecnológica y las mejores tecnologías de laboratorio permiten tener las herramientas para probar las plantas, las cuales presentan constituyentes (en algunos casos bastante tóxicos) que pueden ser candidatos a medicamentos.

En nuestro país, debido a su diversidad étnica, climática y biológica, se cuenta con un amplio panorama respecto a los estudios etnobiológicos que aun cuando llevan poco tiempo de realizarse, son importantes para el rescate del conocimiento biológico que las comunidades indígenas tienen sobre su entorno y su manejo para satisfacer sus necesidades; además permiten complementar el conocimiento acerca de los recursos florísticos del país lo cual sirve de base para su domesticación, conservación o uso farmacéutico. Por otro lado, las plantas consideradas por los estudios etnobiológicos en México se deben observar como una alternativa para su uso médico para afrontar las carencias ocasionadas por la situación económica del país (Lozoya, 1987).

✓ El empleo de las plantas medicinales en México, se remonta a épocas prehispánicas, siendo la herbolaria azteca de las más conocidas. Lo anterior se debe a que las principales fuentes de información se refieren a la descripción que frailes españoles realizaron de las plantas empleadas por los aztecas. El documento más antiguo conocido es el Códice de La Cruz - Badiano, escrito en nahuatl por Martín de la Cruz y traducido al latín por Juan Badiano en 1552. Fray Bernadino de Sahagún escribió un libro en español, titulado Historia

General de las Cosas de la Nueva España, donde resumió la información obtenida a través de cuestionarios aplicados a indígenas convertidos al cristianismo.

El inconveniente principal de éstos y otros escritos de la época, es que no existe una separación clara entre el manejo de las plantas medicinales por parte de los antiguos mexicanos y los médicos europeos; un ejemplo son los términos como caliente, frío y húmedo, empleados para clasificar a los vegetales, claramente influenciado por los conceptos hipocráticos sobre los humores humanos en las enfermedades. Por otra parte, es usual que se encuentren algunas plantas que no son originarias del país, sino que fueron introducidas por los españoles en los primeros años de la conquista (Ortiz, 1975; Ryeski, 1976).

✓ En la actualidad, un problema al realizar estudios sobre las plantas medicinales, es que muchas presentan similitudes en cuanto a su nombre común y morfología, además de que algunas plantas reciben en ocasiones más de un nombre común, creando confusiones al momento de su manejo. De ahí que en nuestro país se hayan realizado trabajos tendientes a recuperar el conocimiento acerca de las plantas medicinales, tal es el caso del programa de Interrelación de las Medicinas Tradicional e Institucional desarrollado por la Unidad de Investigación en Medicina Tradicional y Desarrollo de Medicamentos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Otra institución que realiza este tipo de estudios es el Instituto Nacional Indigenista (Ortiz, 1975; Lozoya y Zolla, 1984; Lozoya, 1987).

Gran parte de las plantas estudiadas en nuestro país producen infinidad de metabolitos secundarios, como son fenoles, terpenos, esteroides y

alcaloides entre otros, los cuales se constituyen como principios activos en contra de diversas enfermedades, que afectan al hombre o a los animales. Entre las formas de preparación de estas plantas se encuentran: infusiones, tés, emplastos, etc.; las partes empleadas pueden ser la corteza, hojas, frutos, flores, raíces o la planta entera (Lozoya y Zolla, 1984). En dichas preparaciones, las sustancias o principios activos al ser administradas se encuentran mezcladas y no en estado puro, lo que en ocasiones representa que su efectividad se vea afectada (Akerlele, *et al.* 1991; Balandrin, *et al.* 1985).

Actualmente la extracción, aislamiento, purificación, determinación y uso de metabolitos secundarios se ha incrementado gracias a los avances técnicos: dichos estudios son realizados principalmente por instituciones educativas y por la industria farmacéutica, ya que los metabolitos de las plantas pueden ser usados de forma directa o como material para la síntesis de drogas o incluso servir como modelos para compuestos farmacológicamente activos y desarrollar nuevos medicamentos (Akerlele, *et al.* 1991; Hosler y Mikita, 1987)

Por todos estos antecedentes, el presente trabajo intenta obtener información acerca de los aspectos etnobotánico, fitoquímico y farmacológico de *Erythrina americana* (colorín), una planta mexicana que ha sido empleada desde tiempos prehispánicos y de la cual se han realizado diversos estudios, para reconsiderar su uso medicinal en algunas etnias del país y rescatar este conocimiento etnobotánico, así como su empleo para el tratamiento de algunas enfermedades de interés actual.

II. ANTECEDENTES

1. GENERALIDADES DE ALCALOIDES.

Los alcaloides son un grupo importante de metabolitos. Desde el punto de vista químico, bioquímico y fisiológico son compuestos muy variados, lo cual no ha permitido dar una definición precisa del término, el cual fue acuñado por el farmacéutico W. Meissner en 1819 y significa "como álcali" (del árabe **alqaly**). Actualmente se han dado varias definiciones que no abarcan el sentido general de los alcaloides (Bruneton, 1991).

En 1983, Pelletier propone una definición más funcional que actualmente es la de mayor aceptación: "Son compuestos orgánicos cíclicos nitrogenados en estado de oxidación y de distribución limitada en los seres vivos". Para Trease y Evans (1989) los alcaloides típicos que provienen de los vegetales, son de carácter básico, contienen uno o más átomos de nitrógeno que generalmente se hallan en un anillo heterocíclico y presentan acción fisiológica en animales y en el ser humano; los compuestos que no cumplen con alguna de estas condiciones reciben el nombre de protoalcaloides o aminoalcaloides.

Anteriormente se creía que estos compuestos se restringían únicamente a las plantas, pero investigaciones diversas han permitido encontrarlos en otros grupos de organismos como son los anfibios, mamíferos, artrópodos, hongos, dinoflagelados y algas. Aún así, la mayoría de los alcaloides conocidos se encuentra en los vegetales, estando cerca del 40% presente en las angiospermas y de éstas, las familias más representativas son: Papaveráceas, Ranunculáceas, Rubiáceas, Solanáceas, Berberidáceas y Leguminosas (Tyler, 1979).

Las funciones desempeñadas por los alcaloides en las plantas aún no se han definido totalmente pero se argumenta que pueden actuar como agentes tóxicos para la protección de la planta en contra de depredadores como insectos y herbívoros; en ocasiones son productos finales de reacciones de desintoxicación, lo cual produce un bloqueo metabólico de compuestos que podrían ser nocivos para las plantas; pueden actuar como factores reguladores de crecimiento o sustancias de reserva que proveen de nitrógeno y otros elementos necesarios. Al parecer, la cantidad y calidad, así como la ausencia o presencia de alcaloides en distintas especies, no afecta a las plantas; sin embargo, llegan a tener participación a largo plazo en las diferentes rutas metabólicas (Tyler, 1979; Trease y Evans, 1989; Taiz y Zeiger, 1991).

Para el hombre, los alcaloides desempeñan un papel destacado en las industrias química y farmacéutica. Se les han dado varios usos: potenciadores analgésicos (cocaína), antiamebianos (emetina), anticolinérgicos (atropina, hiosciamina, escopolamina), antidepresivos (reserpina, rescinamina, deserpina, protoveratina A), antimaláricos (quinina), antitumorales (vinblastina, vincristina), estimulantes nerviosos (cafeína), anestésicos locales (cocaína), anestésicos narcóticos (codeína, morfina), relajantes musculares (papaverina, curare), tranquilizantes (reserpina, deserpina). Como se puede observar, el empleo de los alcaloides es bastante amplio, por lo que en algunos casos se han vuelto indispensables (Pelletier, 1983).

2. DISTRIBUCIÓN DEL GÉNERO *Erythrina*.

Como se mencionó anteriormente, las leguminosas presentan un contenido de alcaloides significativo. Dentro de esta familia se encuentra el

género *Erythrina*, del cual se conocen en el mundo alrededor de 113 especies de árboles, arbustos y plantas herbáceas con inflorescencias de color naranja o rojo, las que se distribuyen en regiones tropicales y subtropicales, correspondiendo 31 especies a África, 12 a Asia y Australia. Aproximadamente 70 de esas especies se encuentran en América, de las cuales en México se han identificado 27, pero es probable que existan unas especies no identificadas. Dado que este género es susceptible de crecer en varios climas y terrenos además de que se propaga fácilmente por el método de estaca, se encuentra distribuido en varios estados del país, algunos son: México, Puebla, Morelos, Guerrero, Chiapas, Tabasco, Oaxaca, San Luis Potosí y Veracruz (Musalem, 1992).

3. ETNOBOTÁNICA Y USOS DEL GENERO *Erythrina* EN MÉXICO.

En nuestro país, los árboles del género *Erythrina*, se han empleado como planta de sombra y de ornato en calles, parques y jardines, por la belleza de sus flores. En algunas regiones, se usa como planta de sombra en plantaciones de cacao y café. Su madera se utiliza localmente como sustituto del corcho para tapones de botella y la elaboración de esculturas y máscaras, y también como colorante para ropa, pues hervida desprende un tinte amarillo. Las flores se consumen fritas o hervidas y las semillas se emplean para la elaboración de artesanías como collares y pulseras (Niembro, 1990; Contreras y Zolla, 1982).

Desde antaño, de forma tradicional se han atribuido diversas propiedades medicinales a especies de este género, se dice que las raíces son sudoríficas, las hojas tienen acción como emenagogo, una cocción de las flores se usa para las afecciones del tórax, la corteza tiene acción purgante y

diurética y el jugo de los tallos se ha usado como remedio en las picaduras de alacrán; además, la corteza preparada en pequeñas cantidades se emplea como agente hipnótico en la medicina casera y como contraceptivo (Standley, 1922; Kornhauser, 1962; Hastings, 1990).

También a ejemplares del género *Erythrina* se les ha atribuido un efecto tranquilizante. En 1984, Alcorn (citado por Hastings, 1990) indica que en la zona huasteca al noreste de México, los indígenas toman una infusión de las flores inmaduras para combatir el insomnio. Por otra parte, Morton (1994) reporta el mismo efecto para la inflorescencia del pito (*Erythrina berteroana*) y en la región huasteca de San Luis Potosí, se asienta un grupo de mestizos y representantes de la etnia Teenek, quienes se han referido a la *Erythrina* del lugar con el nombre de "Pemoch" o "Pemoche" y han reportado que las flores inducen un sueño profundo y relajante, empleándose como tranquilizante de los nervios.

4. ASPECTOS QUÍMICOS DE LOS ALCALOIDES DE *Erythrina*

Algunos de los efectos anteriores posiblemente están relacionados con el contenido de alcaloides en las plantas de *Erythrina*. En el género se han reportado más de 40 alcaloides divididos en dos tipos estructurales principales: aquellos que contienen un sistema dieno conjugado en los anillos A y B; y aquellos conteniendo un doble enlace Δ^{1-6} en el anillo A como se ve en la figura 1 (Hargreaves, *et al.* 1974).



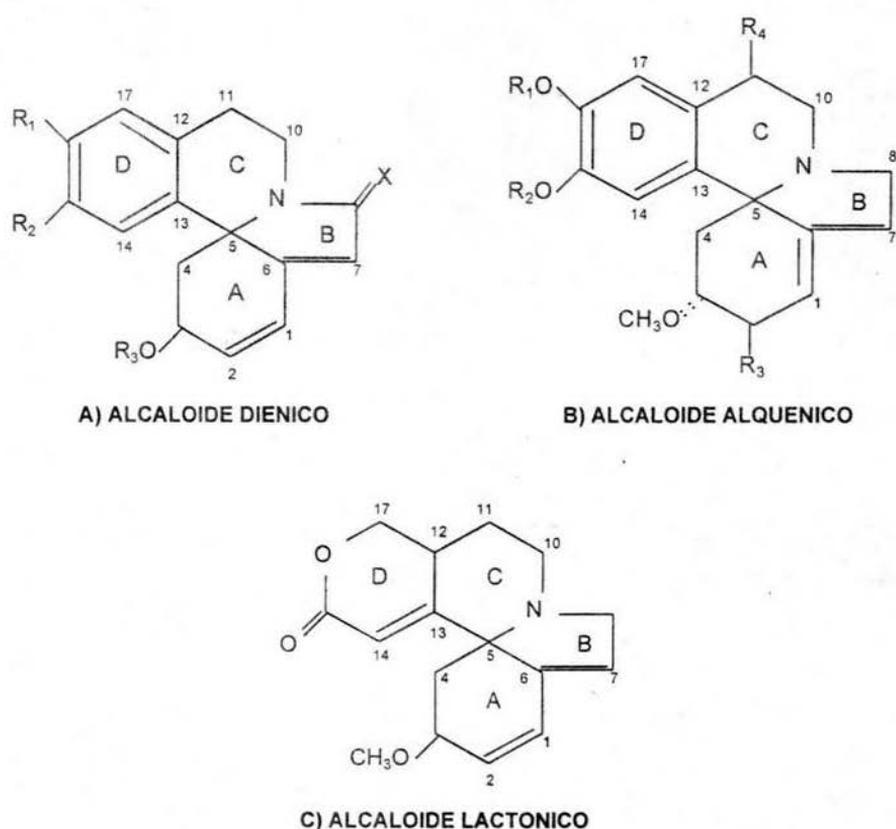


Figura 1.- Estructuras generales de los alcaloides de *Erythrina*, según Hargreaves (1974). C) corresponde a la estructura básica de los alcaloides α y β -erythroidina.

La presencia de alcaloides se ha reportado en diferentes partes de la planta: semillas, flores, hojas, tallos y raíces; siendo las primeras las de mayor contenido de alcaloides totales. El porcentaje de estos metabolitos en semillas de distintas especies varía desde 0.082% (Ghosal, *et al.* 1970), 0.43-1.23% (Soto-Hernández y Jackson, 1994) hasta 2.49% que reporta Folkers y Koniuszy (1940 [a]). Por este motivo, Krukoff y Barneby (1974) consideran que la

distribución de los alcaloides en las diferentes especies de *Erythrina* pueden servir como auxiliares en la determinación taxonómica del género.

5. ASPECTOS FARMACOLÓGICOS DE LOS ALCALOIDES DE *Erythrina*

Los alcaloides de *Erythrina* fueron estudiados por los químicos a finales del siglo pasado y más intensamente entre las décadas de los años treinta y sesenta en este siglo, pues presentan una marcada actividad fisiológica, semejante a la del curare (Krukoff y Barneby, 1974). Los alcaloides de *Erythrina* a determinadas dosis presentan el mismo efecto de impedir el paso de impulsos nerviosos, provocando una parálisis de los músculos sin presentar efectos colaterales dañinos en dosis ligeramente mayores a las del curare y son efectivos cuando se administran por vía oral. Sin embargo, a pesar de que llegaron a ser aplicados clínicamente, estos alcaloides fueron sustituidos por otras sustancias de origen sintético (Craig, 1981).

Fue en México donde se realizaron los primeros trabajos sobre alcaloides del género *Erythrina*, siendo el Dr. Río de la Loza en 1878 quien aisló el alcaloide erythrocoralcidina (Kornhauser, 1962); diez años más tarde (1888) la acción curariforme de extractos alcaloideos de las semillas de *E. americana* fue reportada por Altamirano y Domínguez, quienes denominaron al extracto como erythroidina (Lehman, 1936; Folkers y Major, 1937). Los efectos de dichos extractos fueron confirmados posteriormente por Ramírez y Rivero en 1935 (cuadro 1).

AUTOR(ES) Y AÑO	APORTACIÓN
RÍO DE LA LOZA (1878)	Reporta la presencia de un alcaloide al que denomina erythrocoralcidina.
ALTAMIRANO Y DOMÍNGUEZ (1888)	Acción curariforme del extracto alcaloideo (erythroidina) de <i>E. americana</i> .
RAMÍREZ Y RIVERO (1935)	Confirman la acción curariforme del extracto obtenido por Altamirano y Domínguez.
LEHMAN (1936)	Comprueba los diversos efectos fisiológicos de los alcaloides puros de <i>E. americana</i> .
FOLKERS Y MAJOR (1937)	Separación de α y β erythroidina.
FOLKERS (1944)	Biosíntesis de alcaloides de <i>Erythrina</i> .
GHOSAL (1972)	Reporta efectos fisiológicos de varios alcaloides puros.
HARGREAVES (1974)	Reporta la presencia de alcaloides en las fracciones lipídicas de los extractos.
SOTO-HERNÁNDEZ (1989)	Determina la estructura química de alcaloides en varias especies de <i>Erythrina</i> .

Cuadro 1.- Trabajos realizados con plantas del género *Erythrina*.

En 1937, Folkers y Major realizaron la separación del extracto trabajado por Ramírez y Rivero, determinando que en realidad se trataba de dos alcaloides isoméricos a los cuales denominaron α y β -erythroidina, respetando la nomenclatura realizada por Altamirano y Domínguez.

En año de 1936, se inician los trabajos para establecer la dosis letal media (DL_{50}) que nos indica la dosis en que la mitad de los sujetos de una población experimental presentan efectos tóxicos agudos lo cual les provoca la muerte; esta prueba junto con la determinación de la dosis efectiva media (DE_{50}) que es la dosis en la cual una droga actúa al cincuenta por ciento de su potencia, sirven para conocer el margen de seguridad de las sustancias probables de uso farmacológico (Clark, *et al.* 1991; Anónimo, 1992).

Compuesto	Especie	DL ₅₀ (mg/kg)			Autor y año
		Via de administración			
		i. c.	oral	s. c.	
Extracto alcohólico de semillas de <i>E. americana</i>	ratón	600	-	-	Lehman, 1936
	rata	750	-	-	
Beta-erythroidina	ratón	-	75	48	Unna <i>et al.</i> 1944
	rata	-	510	1260	
Erythramina	ratón	-	-	104	Unna y Greslin, 1944
Erythralina	ratón	-	80	72	
Erysopina	ratón	-	18	14.8	
Erysodina	ratón	-	155	100	
Erysothiopinato	ratón	-	-	76	
Beta-erythroidina	ratón	24	-	-	Berger y Schwartz, 1948
Beta-erythroidina	ratón	29.5	-	-	Megirian <i>et al.</i> 1955

Cuadro 2.- Reportes de la dosis letal media de algunos alcaloides de *E. americana*, administrados a ratones y ratas.

Varios autores han determinado la DL₅₀ de algunos alcaloides del género *Erythrina*. El primero en realizarla fue Lehman (1936) quien determinó la dosis letal media de un extracto alcohólico en ranas, ratones, ratas, conejos, palomas, perros y gatos (cuadro 2). Unna *et al.* (1944) determinaron la dosis letal media y toxicidad crónica de β-erythroidina y sus derivados; además de algunos alcaloides libres y combinados en ratones, ratas, conejos y gatos, administrando las drogas por vía oral y subcutánea. Por último, Berger y Schwartz, (1948) y Megirian, *et al.* (1955) hicieron lo mismo con β-erythroidina, por vía intraperitoneal en ratones. Como se puede observar en los distintos valores obtenidos por estos autores, la DL₅₀ varía dependiendo de su estado (si

se administra una mezcla o alcaloides puros). la vía de administración y la especie a la cual se le administra el alcaloide.

Otras pruebas farmacológicas relacionadas con la actividad farmacológica sobre el Sistema Nervioso Periférico de los alcaloides de *E. americana* fueron realizados por Lehman en 1936 y 1937. En estos trabajos se empleo un extracto alcohólico al 60% preparado a partir de semillas de *E. americana*, teniendo una concentración de 130 mg de extracto crudo en 1 cc de solución. Lehman empleó el experimento propuesto por Claude Bernard y comprobó que en general los efectos eran semejantes a los paralizantes reportados para el curare. Asimismo, registró las dosis que provocaron un bloqueo en el nervio ciático que causaban una parálisis muscular. Respecto a la función respiratoria, halló que la detención de la respiración es de origen periférico, provocada por una parálisis en el músculo esquelético y del diafragma. Con respecto a la presión sanguínea, encontró que en perros, gatos, ratas y conejos se producía un descenso entre el 10 y 20% del nivel inicial. En palomas, el efecto era contrario, teniendo un incremento de la presión. Por último, evaluó la acción anticonvulsivante del extracto contra estricnina, cocaína, picrotoxina y alcanfor. Los resultados mostraron que era posible controlar las convulsiones provocadas por las sustancias mencionadas con el extracto en dosis suficientemente grandes.

En estudios posteriores, Unna, *et al.* (1944) emplearon los alcaloides de *Erythrina* en forma pura: β -erythroidina, dihidro- β -erythroidina, β -tetrahidro- β -erythroidina; los alcaloides libres: erythramina, erythralina, erythratina; los alcaloides liberados: erysopina, erysovina, erysodina, erysonina y los alcaloides combinados erysotiopinato y erysotiovinato. Se encontró que al ser administrados por vía oral en ratones, ratas, conejos y gatos son absorbidos

rápidamente por el tracto gastrointestinal, siendo más efectiva la administración oral que la subcutánea. Además, repitieron los experimentos realizados por Lehman (1936), confirmando la acción paralizante que presentan los alcaloides puros de *Erythrina*. Asimismo, comprobaron que al contrario de otros alcaloides, en los cuales la conversión de aminas terciarias a sales cuaternarias de amonio incrementa su acción neuromuscular, los alcaloides de *Erythrina* presentan el efecto contrario, siendo β -erythroidina cien veces más potente que su sal cuaternaria (en este caso meto- β -erythroidina) y que β -erythroidina y sus derivados son más potentes que los demás alcaloides reportados (Unna y Greslin, 1944). Posteriormente, Pick y Unna (1945) comprobaron el efecto de la dihidro- β -erythroidina. Esta presentó una supresión de la actividad eléctrica en el cerebro de rana y el bloqueo total en la unión mioneural.

Ghosal, *et al.* (1972) realizaron algunos trabajos con animales de laboratorio donde los alcaloides totales extraídos de *Erythrina variegata* provocaron: un efecto paralizante en el músculo esquelético recto de rana, debido al bloqueo neuromuscular por despolarización; un efecto como espasmolítico empleando el método de caída de cabeza de conejo, así como un efecto antiespasmódico sobre íleo de conejillos de indias, cuando los espasmos eran provocados con acetilcolina en dosis de 0.01 mcg/ml, histamina 0.01 mcg/ml y cloruro de bario 0.2 mg; y por último, un efecto anticonvulsivante después de aplicar choques eléctricos máximos en ratas.

En México, investigaciones más recientes prueban el efecto de los alcaloides de *Erythrina* en organismos vivos: Maksabedian (1978) estudió los efectos terapéuticos de la mezcla cruda de alcaloides de las hojas de *Erythrina americana* en canideos, reportando que producen la muerte por paro

respiratorio en algunos canes y sugiere el posible uso de estos para curar síntomas del mal de corea.

En 1988, Vargas evaluó en carpas el efecto inmovilizador de los extractos hidrosolubles y liposolubles de la flor de colorín (*Erythrina americana*) e informa que los extractos tienen una acción narcótica para los peces y recomienda su uso como inmovilizadores en tareas de sexado y marcaje.

Romero (1989) determinó la dosis letal media (DL_{50}) del extracto acuoso de las hojas de colorín en ratas Long-Evans. Dos años después (1991) Nakagawa evaluó la DL_{50} del extracto acuoso de las hojas del colorín, administrándolo por vía oral a ratas Spague-Dawley. Por último, en ese mismo año, Delgado comprobó el efecto de la infusión de semillas del colorín sobre la intensidad de la contracción muscular en ratas Wistar, experimentando con distintas dosis el efecto bloqueador que ejerce la infusión en la placa neuromuscular.

Con respecto a su acción sobre el Sistema Nervioso Central, Pick y Richards en 1947, estudiaron la acción sinérgica como hipnótico y anestésico de la dihidro- β -erythroidina. Se encontró que al ser administrado en ratones solo es efectivo hasta una dosis de 24 mg/kg, combinado con éter, no causaba parálisis pero mataba a los ratones por paro respiratorio. Al combinarse con una inyección de pentobarbital por vía subcutánea, el efecto de la dihidro- β -erythroidina fue incrementado ligeramente y de manera dudosa.

En 1949, Smith, *et al.* describieron el sitio de acción de dihidro- β -erythroidina para la disminución de la tensión normal y excesiva de músculo en gatos y monos. Se encontró que había un efecto relajante en la tensión

muscular por acción en el Sistema Nervioso Central. También reportaron que las dosis necesarias para causar un paro respiratorio son muy grandes y da un amplio rango de seguridad, al contrario de cuando se empleó D-tubocurarina. Megirian, *et al.* (1955), indican que en un reporte realizado por Sauvage, *et al.* en 1949, la apo- β -erythroidina, actuaba como un depresor del S.N.C, sin presentar bloqueo neuromuscular.

Se ha señalado que la β -erythroidina tiene un efecto antagonista sobre los receptores nicotínicos de la acetilcolina, bloqueando la actividad de este neurotransmisor a nivel de la unión sináptica ganglionar. La β -erythroidina y su derivado dihidro más activo, produce un tipo de bloqueo neuromuscular no despolarizante similar al de la tubocurarina y se presume que posee un mecanismo de acción idéntico. Las erythroidinas son absorbidas eficientemente por vía oral, atraviesan la barrera hematoencefálica y penetran fácilmente en la médula espinal, ejerciendo una acción depresora sobre el encéfalo y médula espinal, bloqueando la respuesta colinérgica (Bowman y Rand, 1985).

En resumen, algunas de las acciones reportadas tanto para las fracciones crudas obtenidas en extractos alcohólicos y en disolventes específicos, así como también en los alcaloides puros de *Erythrina* son: efecto paralizante por bloqueo en la unión mioneural del músculo, cuya acción es antagonizada por anticolinesterasas; actúan como relajantes musculares y anticonvulsivantes; causan baja en la presión sanguínea; llegan a paralizar la respiración; poseen efecto depresor sobre el S.N.C. y presentan un efecto anestésico e hipnótico. Los alcaloides puros más activos son el α y β -erythroidina y sus derivados como hidro- β -erythroidina y apo- β -erythroidina, actuando eficazmente al ser administrados por vía oral, sin presentar efectos

colaterales significativos (Kornhauser, 1962; Ghosal, *et al.* 1972; Hargreaves, *et al.* 1974; Craig, 1981).

Se han aislado de las flores y semillas del colorín (*Erythrina americana*) alcaloides puros como α y β -erythroidina, que son los principales compuestos responsables de la actividad fisiológica. En las semillas, además de los dos anteriores se encuentran principalmente erysodina e hipaforina, otros alcaloides detectados son: erysopina, erysotrovina y erysotiopina (Hargreaves, *et al.* 1974; Aguilar, *et al.* 1981; Vargas, 1988; Soteio, *et al.* 1993).

6. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES.

Los alcaloides son compuestos cuya extracción es muy difícil, pues se hayan en cantidades relativamente pequeñas y se destruyen fácilmente con manipulaciones indebidas. Para la obtención de los alcaloides se debe considerar en primer lugar la solubilidad de los mismos y la de sus sales dando lugar al método empleado para su extracción (Barrera, 1958).

Siendo los alcaloides compuestos básicos, el átomo de nitrógeno acepta protones de un ácido y forma compuestos adicionados conocidos como sales cuando son tratados con cualquier ácido orgánico como ácido acético o ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico (Maldoni, 1991).

La mayor parte de los alcaloides no volátiles son sólidos y los volátiles son líquidos; gran parte son cristalizables; son insolubles o poco solubles en agua, pero poco solubles en alcohol, cloroformo, benceno y algunos en éter y bencina; es importante resaltar que los alcaloides obtenidos de disolventes polares son aquellos que no están esterificados y los obtenidos por un

tratamiento de hidrólisis, se encuentran en las plantas en forma esterificada (Barrera, 1958; Maldoni, 1991).

Los alcaloides son precipitados por uno o más reactivos neutros o ligeramente ácidos como yoduro mercurico potásico (reactivo de Mayer), yoduro cádmico potásico (reactivo de Marme), yoduro bismútico potásico (reactivo de Dragendorff), yoduro potásico (reactivo de Bouchardat) y ácido fosfomolibdico (reactivo de Sonneschein), estos compuestos sirven para determinar su presencia (Barrera, 1958; Maldoni, 1991).

Trease y Evans (1989) y Bruneton (1991) reportan dos métodos generales de extracción: en el primero o extracción ácida, la materia prima, ya sean hojas, corteza, flor o semilla, se pulveriza y humedece con agua, mezclándose con cal, la cual se combina con ácidos, taninos y otras sustancias fenólicas, dejando libres a los alcaloides en caso de que se hallen como sales, acto seguido se hace una extracción con disolventes orgánicos, como son benceno y éter de petróleo. El líquido orgánico se agita con agua acidulada y se deja reposar para su separación en capas. Las sales alcaloideas quedan en el líquido acuoso y en el orgánico las impurezas.

En el segundo método o extracción alcalina, se prepara la materia prima de igual forma que en el anterior, pero la extracción se realiza con agua o alcohol acuoso, adicionados con ácido diluido; los pigmentos y otros productos no deseables son eliminados por agitación con cloroformo u otros disolventes orgánicos; los alcaloides libres se precipitan por adición de un exceso de bicarbonato de sodio o amoniaco, separándose por filtración o extracción con disolventes orgánicos.

Por lo general, los alcaloides del género *Erythrina* son los obtenidos con disolventes de tipo polar como el etanol o metanol y los derivados por hidrólisis ácida; sin embargo, Ghosal, *et al.* (1972) y Hargreaves, *et al.* (1974) reportan la presencia de alcaloides en fracciones obtenidas con disolventes como hexano y cloroformo. Dado que en la mayoría de las investigaciones anteriores a las de estos dos autores, no se habían trabajado estas fracciones, principalmente en su aspecto terapéutico, es necesario considerar la revisión de dichas fracciones.

La información farmacológica sobre los alcaloides de *Erythrina americana* permiten suponer que puede haber una relación entre éstos y el efecto "tranquilizante" que de manera empírica se le ha atribuido a esta especie, tal y como se ha observado en otras plantas como pasiflora, valeriana, azahar, tila y toronjil entre otras, que por su actividad sedativa son utilizadas en trastornos del sistema nervioso, como el estrés, ansiedad y agresividad, padecimientos que se han venido incrementando en los últimos años (Villagómez, *et al.* 1990).

7. ESTRÉS, AGRESIÓN Y MÉTODOS DE ESTUDIO.

El estrés va acompañado de una serie de problemas de salud, entre los que se incluyen problemas de comportamiento y enfermedades psicosomáticas. Dentro de los cambios que se presentan en un individuo sometido a estrés, se encuentra la histeria, la ansiedad, la irritabilidad, las fobias y la agresividad entre otras. La agresividad es motivo de estudio para muchos investigadores. La agresión y su control farmacológico interesa en la medida en que la conducta agresiva aparece en el contexto clínico, psiquiátrico y se presenta como problema social. (Kalimo y Mejman, 1988).

a) Conducta agresiva.

En sí, la conducta agresiva está influida por varios aspectos, es por eso que se utiliza para referirse a un sin número de estados emocionales y de actitudes tales como la ira o el odio. De hecho la palabra agresión se aplica a tantas situaciones y se emplea con tanta frecuencia que ni siquiera limitando el problema desde el punto de vista biológico, resulta fácil formular una definición única y completa (Johnson, 1976).

Según Bornstein (1981) el término agresión ha sido definido en varias formas por distintos autores, por ejemplo, Buss (1961) menciona que cualquier conducta que cause daño o lesión a otros puede ser considerada agresiva; Berkowitz (1974) considera que la intención de dañar o lastimar más que sus consecuencias, puede clasificarse como conducta agresiva; Zillaman (1979) restringió el término a los intentos de daño físico y para Baron (1977) es "cualquier forma de conducta con el propósito directo de dañar o lastimar cualquier ser vivo quien tratará de evitar este tratamiento".

Finalmente Bornstein resume que en la definición de agresión o conducta agresiva se tocan estos cuatro puntos: a) Es una forma de conducta; b) hay intención de dañar; c) involucra acciones directas dirigidas hacia otro ser viviente y d) Hay consecuencias físicas o no físicas por esta conducta.

Existen cuatro corrientes teóricas principales acerca de las causas de la agresión o conducta agresiva: La psicoanalítica, propuesta por Freud, que propone la existencia de un instinto de muerte, el cual está dirigido hacia la autodestrucción; sin embargo, como forma de protección, los organismos

presentan un desplazamiento que desembocan en la conducta agresiva (Bornstein, *op. cit.*).

En la teoría conductual, hay dos planteamientos: El primero es propuesto por Dollard y cols., quienes se basan en la relación entre frustración y agresión, teniendo que la primera instiga hacia la segunda. Por otra parte, Berkowitz propone que al presentarse el sentimiento de frustración, este conduce al enojo o ira, lo cual a su vez provoca "entradas" de agresión que desembocan en la conducta agresiva (Bornstein, *op. cit.*).

Bandura (citado por Bornstein), expone la teoría del aprendizaje social, que en esencia describe la agresión humana como una forma de conducta social generada y mantenida en mucho de la misma manera que otras conductas prosociales. Explica que debido a experiencias aversivas se presenta un despertar emocional y aunado a un reforzamiento basado en la motivación, se presentan varios aspectos entre ellos la agresión.

Por último, la teoría etológica, propuesta por el etólogo Konrad Lorenz en 1966, se basa en la observación de la conducta animal y sugiere que la agresión es el resultado de un instinto innato de lucha que se ha desarrollado y mantenido sobre el curso de la evolución como resultado de ciertos beneficios para especies supervivientes (por ejemplo, la distribución geográfica de las poblaciones animales, la alimentación selectiva en favor de los miembros más fuertes de la especie).

A grandes rasgos, esta teoría dice que este instinto agresivo o energía agresiva se libera por distintos estímulos que provocan la conducta agresiva. Según Lorenz, la relación entre la energía agresiva y la intensidad del estímulo

es inversamente proporcional (Bornstein, *op. cit.*). Esta última teoría es en la cual nos basaremos para el concepto de conducta agresiva y el modelo experimental a desarrollar en el presente trabajo.

Flynn (1970) divide el comportamiento agresivo en dos categorías, expresando que se encuentran organizadas de manera diferente en el cerebro y son: agresividad afectiva y agresividad predatoria. La primera categoría incluye todas las propuestas por Moyer a excepción de la depredatoria, pues queda dentro de la segunda categoría (citado en Carlson, 1980).

La agresividad afectiva por lo general va acompañada de descargas nerviosas simpáticas con signos de rabia, posturas tanto de defensa como de ataque, vocalizaciones y mordidas (buscando más impresionar que matar) mientras que en la agresividad depredatoria (o caza por definición) no se observa actividad simpática ni rabia, pero sí de acecho y siempre una finalidad letal (Carlson, 1980).

Por su parte, Moyer (1971) sugiere una clasificación de siete tipos o categorías de conducta agresiva, que se integran en sus bases neuronales y endocrinas así como en las condiciones de estímulo que las provocan: predatoria, entre machos, inducida por temor, por irritación, territorial, maternal e instrumental, cada una relacionada con la actividad de neurotransmisores y hormonas producidas en substratos anatómicos determinados.

Dentro de las formas de control de la agresión, Moyer considera tres procedimientos principales: choques eléctricos, lesión septal en cerebro y tratamiento con drogas. En cuanto al manejo de drogas o fármacos, se emplea este método terapéutico, pues uno de los aspectos que causan la conducta agresiva son las disfunciones en los sistemas neurales, que se relacionan con

la presencia de bloqueadores específicos para los distintos neurotransmisores como acetilcolina serotonina, catecolaminas. entre otros y el sitio donde se encuentran en mayor cantidad.

b) Métodos para provocar agresión

El comportamiento agresivo se induce en el laboratorio para poder trabajar sobre sus diferentes aspectos: substratos anatómicos, bioquímica de la agresión, drogas con acción antagonista o agonista sobre este comportamiento, para así poder deducir de allí sus bases neuroquímicas. Los distintos tipos de agresión que Moyer describe, se han estudiado aplicando modelos específicos según la causa que provoque la conducta agresiva (De Flores y Valdés, 1983).

Para provocar los distintos tipos de agresión se han realizado investigaciones que producen este comportamiento por medios físicos como los choques eléctricos en diversas partes del cuerpo, se busca que dicha aplicación provoque dolor; se suministra con distintos implementos, como son pinzas o estímulo eléctrico en el piso de una jaula; este procedimiento se aplica más en ratas, ratones y gatos. También se emplea la administración de fármacos aunque el control de las variables es un poco más complicado. Con estos métodos, se fomenta la aparición de la agresividad defensiva e irritativa (Leavitt, 1974). Por otro lado, las lesiones o estimulación eléctrica en diferentes regiones del cerebro de animales experimentales han mostrado que pueden provocar conducta agresiva y dichas pruebas han sido de gran ayuda para ubicar las áreas del cerebro que juegan un papel importante en la agresión (Brady y Nauta, 1957).

El comportamiento agresivo de tipo defensivo también se produce al someter a los animales de experimentación a situaciones de estrés, por medio de regímenes de hambre y sed, donde se priva al animal de agua y/o comida, durante tiempos determinados. Los experimentos pueden ser crónicos (a largo plazo) o agudos (solo se priva una sola vez) y se emplea en ratas y ratones, con este tipo de modelos también se evalúa la agresividad predatoria (Leavitt, 1974; De Flores y Valdés, 1985).

Otro procedimiento que permite provocar agresión de tipo defensiva es la técnica de aislamiento visual, aquí los animales son separados de los grupos que forman naturalmente donde establecen relaciones jerárquicas de territorio y en donde el individuo se ve apoyado por el resto del grupo; al no presentarse esta situación se incrementa la conducta agresiva, pues es resultado de un estado motivacional de miedo y se identifica conductualmente por la observación de la presencia de un peligro objetivo, el intento de huida y la aparición de conductas agresivas como el ataque o lucha. Por lo general se emplean ratas, ratones, hámsters, gatos, y perros (Johnson, 1976; De Flores y Valdés, 1985).

En el aislamiento visual se evalúan las variaciones en ciertas pautas conductuales que los animales presentan en dos situaciones diferentes: ante el experimentador, durante la captura y manejo del animal; o por posturas ante un estímulo doloroso y consideran el ataque, la amenaza, la huida, las variaciones en las vocalizaciones, la micción y defecación. En si, se evalúan los cambios y la intensidad de estos en las situaciones mencionadas, tal como se hace en la escala de evaluación de Brady y Nauta (1957).

Entre las drogas empleadas como tranquilizantes se encuentra la familia de las benzodiacepinas, que se empezaron a utilizar en la década de los

sesenta. Entre los efectos que presentan está una acción tranquilizante disminuyendo la conducta agresiva en animales con dosis que no reducen la actividad locomotora; se acepta que la actividad antiagresora tiene relación con la disminución del miedo, por lo que se ha empleado en experimentos antiansiedad de utilidad clínica. Por otra parte, también se han empleado como relajantes musculares, anticonvulsivos, hipnóticos y sedantes (Bowman, 1985). El diazepam pertenece a este tipo de fármacos y es el anticonvulsivante y ansiolítico mejor conocido (Feldman, *et al.* 1990) y por sus propiedades se escogió como fármaco control en el presente trabajo.

Con apoyo en los puntos mencionados anteriormente en los aspectos etnobotánicos y farmacológicos, se considera que los estudios realizados sobre los alcaloides del género *Erythrina* muestran una acción fisiológica importante y ésta podría relacionarse con la actividad tranquilizante empírica atribuida a *Erythrina americana*, dando lugar a suponer que los alcaloides de este género puedan tener un efecto sobre la conducta agresiva; por lo tanto, en este estudio se plantearon los siguientes:

III. OBJETIVOS

- Determinar taxonómicamente la especie de la cual se colectó el material biológico.
- Extraer las fracciones de alcaloides solubles en hexano y los liberados por hidrólisis ácida a partir de semillas de *Erythrina americana*.
- Determinar la dosis letal media (LD₅₀) correspondiente a cada una de las fracciones alcaloideas de *E. americana*.
- Evaluar el efecto que sobre conducta agresiva en ratas presentan la fracción cruda de alcaloides solubles en hexano y la fracción de alcaloides liberados por hidrólisis ácida.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Para cumplir con los objetivos, el trabajo se desarrolló en las siguientes etapas:

I. COLECTA Y DETERMINACIÓN TAXONÓMICA DE EJEMPLARES

Se colectó el material biológico - en este caso las semillas - de los árboles de *Erythrina americana* (colorín) dentro de la UNAM campus Iztacala. Además se colectaron algunos ejemplares en buenas condiciones, que presentaron flor y fruto, hojas sin plaga y completas, los cuales fueron colocados en cartulinas blancas tratando de no alterar su estructura; se prensaron y secaron para su determinación taxonómica en el Herbario MEXU del Instituto de Biología de la UNAM.

II. EXTRACCIÓN DE LAS FRACCIONES ALCALOIDEAS

Las semillas colectadas de *Erythrina*, se sometieron al tratamiento descrito por Soto-Hernández (1989) como se observa en la figura 2. Se pulverizaron 750 g de semillas en un molino y fueron colocados en cartuchos de papel filtro. Cada cartucho se puso en un dispositivo Soxhlet con hexano por 48 h para remover grasas y extraer la primera fracción. El líquido obtenido se concentró y se le agregó ácido sulfúrico al 2%, después se neutralizó la fase acuosa ácida con bicarbonato de sodio, ajustando a pH 8; seguido por una extracción con cloruro de metileno y se dejó secar con sulfato de sodio anhidro por dos horas. Por último, para obtener la fracción de alcaloides solubles en hexano, fue concentrada la fase orgánica.

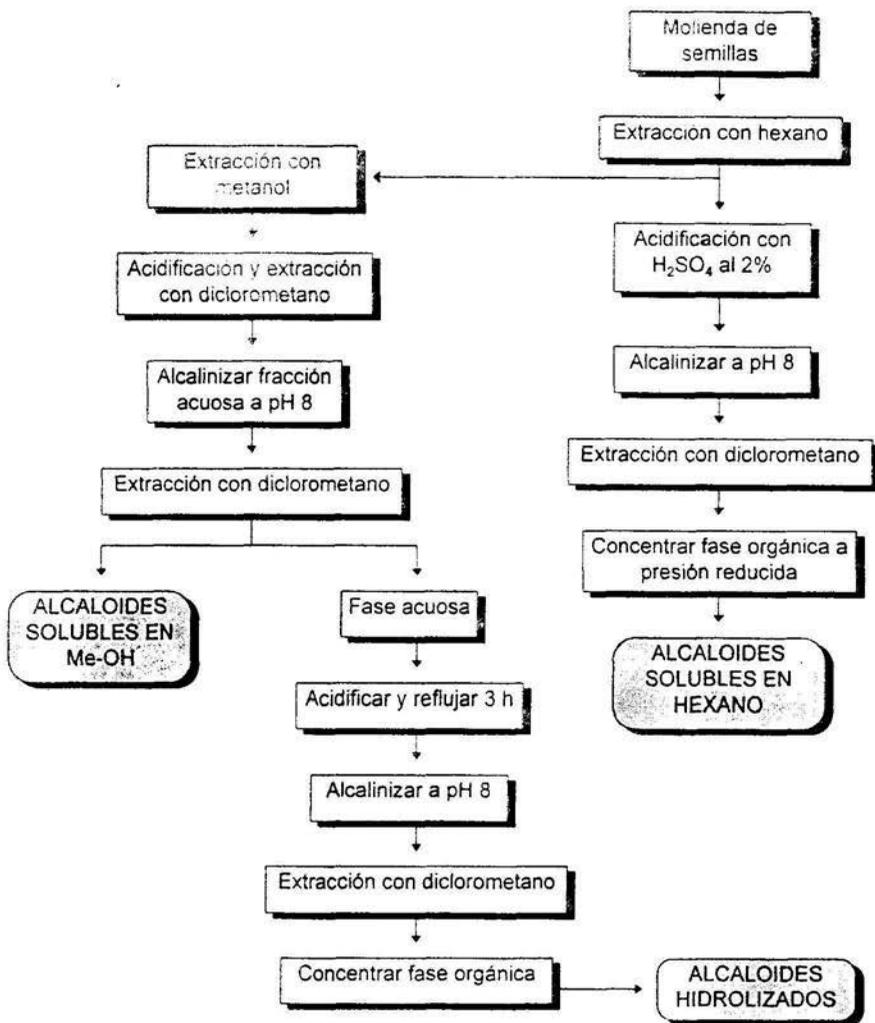


Fig. 2.- Metodología para la extracción de fracciones alcaloideas. (Soto-Hernández, 1989).

La semilla desengrasada fue puesta posteriormente en metanol por 48 h. El extracto metanólico se concentró al vacío, agregando ácido sulfúrico al 2%. Después se extrajo con cloruro de metileno. A la fase acuosa obtenida, se le agregó bicarbonato de sodio para alcalinizar a pH 8 y se lavó nuevamente con cloruro de metileno, de lo cual se obtuvieron dos fases: acuosa y orgánica. Para obtener la fracción de alcaloides libres, a la fase orgánica se le agregó sulfato de sodio anhidro para absorber el exceso de agua. Por último se filtró y concentró para obtener los alcaloides solubles en metanol.

La fase acuosa remanente se reacidificó a pH 2 con ácido sulfúrico al 2% y se calentó por 3 h para hidrolizar los alcaloides esterificados. El proceso de neutralización, basificación a pH 8 y lavado con cloruro de metileno fue repetido para obtener la fracción de alcaloides liberados (figura 2).

Para saber que efectivamente se habían obtenido alcaloides, se realizó una cromatografía de placa fina revelando con el reactivo de Dragendorff, que da una reacción colorida café-naranja para los alcaloides.

III. PRUEBA FARMACOLÓGICA

a) *Determinación de la dosis letal media (DL₅₀)*

La prueba para determinar la DL₅₀ junto con la dosis efectiva media (DE₅₀) es importante para establecer el índice terapéutico (o margen de seguridad de uso) de cualquier sustancia con actividad farmacológica (Kuschinsky, *et al.* 1973) Por lo cual la prueba DL₅₀ se aplicó para saber a qué dosis las fracciones hexánica e hidrolizada son tóxicas para los animales.

Se utilizaron ratones con peso de 30-45 g distribuidos aleatoriamente en seis grupos independientes de ocho individuos cada uno, mantenidos en las condiciones del bioterio de la ENEP Iztacala, con libre acceso a comida y agua y con un período de luz/oscuridad de 12 horas. Se administraron por vía intraperitoneal (ip) las siguientes dosis: 35.28, 37.64, 40.0, 42.36, 44.72 y 47.08 mg/kg, de fracción hexánica o hidrolizada. Se registró el número de individuos muertos por grupo. Los datos obtenidos para cada una de las dosis se sometieron a un análisis de probits (unidades de probabilidad) empleando un método de regresión ponderada iterativa (Bevan, 1982). Realizado el análisis, los valores de las probabilidades obtenidas en logaritmo de las dosis que correspondieron a los porcentajes de mortalidad se graficaron. Se les aplicó el antilogaritmo para así obtener la dosis letal media para la fracción hexánica e hidrolizada.

b) Evaluación de la conducta agresiva en ratas.

Se emplearon 60 ratas macho (Ss) wistar entre 200 y 300 g de peso. Se mantuvieron en cajas individuales, con comida y agua *ad libitum* y con un período de luz/oscuridad de 12 hs. Las partes significativas de la metodología se observan en la figura 3. A los Ss se les evaluó la conducta agresiva durante 20 días empleando la escala de Brady y Nauta (1988) en la cual se evalúan las variaciones en ciertas pautas conductuales que los animales presentan en dos situaciones diferentes: ante el experimentador durante la captura y manejo del animal o por posturas ante un estímulo doloroso, otorgando de cero a tres puntos según la intensidad de la respuesta (cuadro 3).

COMPONENTE CONDUCTUAL	RESPUESTA Y CALIFICACIÓN
I.- Al acercamiento	0.- Nada 1.- Huye 2.- Adopta posición agresiva 3.- Ataca
II.- A la captura	0.- Nada 1.- Huye 2.- Adopta posición agresiva 3.- Ataca
III.- Resistencia a salir de la jaula	0.- Nada 1.- Huye 2.- Adopta posición agresiva 3.- Ataca
IV.- Chillido o vocalización a la captura o manejo	0.- Nada 1.- Al tocarla 2.- Cada vez que se toca 3.- Todo el tiempo
V.- Micción o defecación	0.- Nada 1.- Micción o defecación 2.- Micción y defecación 3.- Micción y defecación abundante
VI.- Al acercar un objeto punzante a la nariz	0.- Nada 1.- Huye 2.- Adopta posición agresiva 3.- Ataca
VII.- Al picar la nariz con un objeto punzante	0.- Nada 1.- Huye 2.- Adopta posición agresiva 3.- Ataca

Cuadro 3.- Escala estimativa de Brady y Nauta (1957)

i) **Aislamiento visual.**- Las ratas que alcanzaron valores estables, se dividieron al azar, en cuatro grupos independientes de 10 ratas cada uno. Estos grupos se aislaron visualmente por 48 hs para elevar su calificación de conducta agresiva. Para conocer si la técnica de aislamiento visual era eficaz para incrementar los valores de conducta agresiva, los datos que se obtuvieron al establecer la línea basal se compararon con los datos posteriores al aislamiento visual. Las calificaciones de conducta agresiva registradas antes y después del

aislamiento fueron analizadas aplicando la prueba estadística de Wilcoxon con un nivel de significancia de 0.05 (cuadro 4 y fig.3).

Grupos	Aislamiento Visual	
	Antes	Después
NaCl al 0.9% (1ml/kg)	S ₁	S ₁
Diazepam (2mg/kg)	S ₂	S ₂
Fracción hexánica de alcaloides (3mg/kg)	S ₃	S ₃
Fracción de alcaloides hidrolizados (3mg/kg)	S ₄	S ₄

Cuadro 4.- Diseño estadístico para el incremento de conducta agresiva.

ii) **Administración de tratamientos.-** Al término del aislamiento visual, se administraron por vía intraperitoneal (ip) a cada grupo uno de los siguientes tratamientos: solución de NaCl al 0.9% (1 ml/kg), diazepam a una dosis de 2 mg/kg, fracción de alcaloides solubles en hexano con una dosis de 3 mg/kg y la fracción de alcaloides hidrolizados a una dosis de 3 mg/kg.

Aplicados los tratamientos, se continuó evaluando la conducta agresiva de los Ss con la misma escala empleada para establecer la línea basal, cada 20 min durante 3 h (fig. 2). Para saber si había diferencias entre los tratamientos a los diferentes tiempos de la evaluación se aplicó la prueba estadística de Kruskal-Wallis de una vía con un nivel de significancia de 0.05 (cuadro 5 y fig. 3).

Grupos	Tiempo (min)									
	0	20	40	60	80	100	120	140	160	180
NaCl al 0.9% (1ml/kg)										
Diazepam (2 mg/kg)										
Fracción hexánica de alcaloides (3mg/kg)										
Fracción alcaloides hidrolizados (3mg/kg)										

Cuadro 5.- Diseño experimental para la prueba farmacológica en ratas.

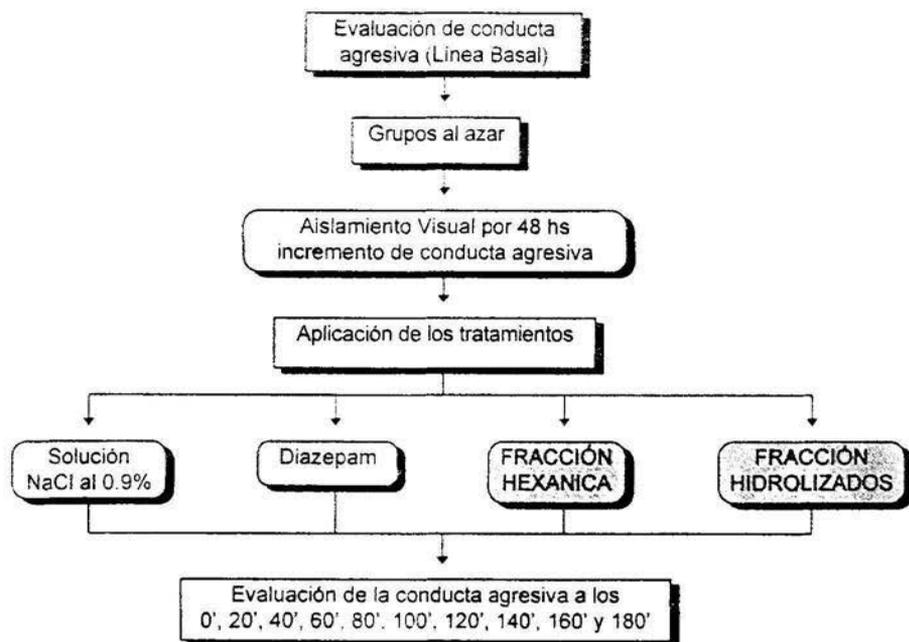


Fig. 3.- Metodología para la evaluación de conducta agresiva en ratas.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

I.- CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.

La determinación taxonómica la realizó el M. en C. Mario Sousa del Instituto de Biología de la UNAM, quien señaló que dichos ejemplares corresponden a la especie siguiente:

División: Embryophyta siphonogama
Subdivisión: Angiospermae
Clase: Dicotyledoneae
Subclase: Archichlamideae
Orden: Rosaceae
Familia: Leguminosae
Género: *Erythrina*
Especie: *Erythrina americana* Miller

Los ejemplares de *Erythrina americana* quedaron registrados en el herbario MEXU con el número 599011.

II.- EXTRACCIÓN DE LAS FRACCIONES ALCALOIDEAS

En el cuadro 6 se presentan los valores porcentuales de los extractos alcaloideos obtenidos en este trabajo y los reportados por otros autores para semillas de diferentes especies de *Erythrina*, todos los porcentajes se calcularon con base a la relación entre el peso de los alcaloides con respecto el peso seco total de las semillas.

<i>Especie</i>	<i>% de fracción alcaloidea</i>	<i>Reportado por:</i>
<i>E. abyssinica</i>	2.65 hidrolizados	Folkers y Koniuszy, 1940
<i>E. americana</i>	0.31 hidrolizados 0.11 libres* 0.13 hidrolizados 0.4 libres	Folkers y Koniuszy, 1940 Sotelo, et al., 1993
<i>E. americana</i>	0.224 hidrolizados 0.068 fracc. hexánica 0.279 fracc. metanólica	Laboratorio L-514 ENEPI
<i>E. berteriana</i>	0.55 hidrolizados 0.24 libres	Soto-Hernández y Jackson, 1995
<i>E. breviflora</i>	0.23 hidrolizados 0.54 libres	Sotelo, et al., 1993
<i>E. brucei</i>	0.78 hidrolizados 0.19 libres	Chawla, Redha y Jackson, 1985
<i>E. caribea</i>	0.55 hidrolizados 0.33 libres	Chawla, Redha y Jackson, 1985
<i>E. cochleata</i>	0.41 hidrolizados 0.21 libres	Chawla, Redha y Jackson, 1985
<i>E. costaricensis</i>	0.67 hidrolizados 0.56 libres	Soto-Hernández y Jackson, 1995
<i>E. flabelliformis</i>	2.50 hidrolizados	Folkers y Koniuszy, 1940
<i>E. fusca</i>	0.35 hidrolizados 0.40 libres	Soto-Hernández y Jackson, 1995
<i>E. leptorhiza</i>	0.35 hidrolizados 0.18 libres	Soto-Hernández y Jackson, 1995
<i>E. melanacantha</i>	0.24 hidrolizados 0.19 libres	Soto-Hernández y Jackson, 1995
<i>E. sandwicensis</i>	2.12 y 1.63 hidrolizados	Folkers y Koniuszy, 1940
<i>E. speciosa</i>	0.84 hidrolizados 0.20 libres	Soto-Hernández y Jackson, 1995
<i>E. tholloniana</i>	0.21 hidrolizados 0.67 libres	Chawla, Redha y Jackson, 1985
<i>E. variegata</i>	0.33 hidrolizados 0.11 libres	Soto-Hernández y Jackson, 1995

Cuadro 7.- Contenido en porcentaje de la fracción de alcaloides libres e hidrolizados en semillas del género *Erythrina*. En el * no considera la fracción hexánica.

Para la fracción de alcaloides hidrolizados correspondió un 0.224% del peso total de las semillas. Folkers y Koniuszy (1940) reportan un 0.31% para esa fracción y Sotelo, *et al.* (1993) reportan un 0.13%, ambos para la misma especie. Los porcentajes reportados por otros autores para alcaloides hidrolizados, se encuentran entre el 0.21% para *E. tholloniana* hasta 2.65% para *E. abyssinica*; considerando lo anterior, el porcentaje de alcaloides hidrolizados obtenido en este trabajo se encuentra dentro de los intervalos mencionados.

No se han encontrado reportes en otras investigaciones sobre el porcentaje de alcaloides presentes en la fracción hexánica. En el laboratorio el rendimiento obtenido fue de 0.068%. El porcentaje reportado por Sotelo, *et al.* para *E. americana* es de 0.4%, incluyendo la fracción hexánica. Hargreaves, *et al.* (1974) indican que los alcaloides de la fracción hexánica son libres y se han reportado junto con los alcaloides solubles en metanol, como sucede en los trabajos de Chawla, *et al.* (1985) y Soto-Hernández y Jackson (1994) donde los valores para los alcaloides libres, es decir los contenidos en la fracción hexánica y metanólica, van de 0.11% a 0.67%; Si los alcaloides contenidos en la parte hexánica (0.068) y metanólica (0.224) se consideran como uno solo, el porcentaje que se obtuvo en el laboratorio es de 0.347%, valor cercano y que esta dentro del rango reportado en la literatura.

Si se compara el contenido de alcaloides solubles en metanol reportado por Folkers y Koniuszy de 0.11% con el de este trabajo de 0.279%, el porcentaje es más del doble (cuadro 7), por lo que el rendimiento obtenido de los alcaloides puede considerarse dentro de lo reportado para la especie. Así mismo, el porcentaje total de los alcaloides presentes en las semillas de *E.*

americana de 0.571%, hacen de esta especie una fuente propicia de alcaloides, según el criterio establecido por Hegnauer (1963) donde señala que las plantas que contienen un 0.01% de alcaloides en peso seco, son buenas fuentes de los mismos.

Las variaciones observadas entre los porcentajes obtenidos en este trabajo y los reportados en la literatura pueden deberse a distintas causas: al tipo de especie y variedad que se trabaja (Krukoff y Barneby, 1974); además la parte de la cual se extraen los alcaloides en el género *Erythrina*, pues estos se hallan en mayor concentración en las semillas y después en flores, hojas y raíces; el grado de madurez de la planta u órganos, puesto que la mayoría de los metabolitos secundarios, como los alcaloides, se van concentrando en mayor cantidad conforme van madurando (Hargreaves, *et al.* 1974; Taiz y Zeiger, 1991); al tiempo y lugar de colecta del material biológico, dado que las concentraciones de metabolitos secundarios varían según las condiciones climatológicas, la estación del año y tipo de suelo (Taiz y Zeiger, 1991; Barz, y Köster, 1981); y por último, al método de extracción. Aún cuando en principio el utilizado por Folkers y Koniuszy es semejante al que se emplea en este trabajo, la extracción se hizo con éter de petróleo, y los tiempos designados para la extracción son más cortos, de 6 h en la extracción con éter y 36 h en la extracción con metanol. Los mismos autores aclaran que los valores del contenido de alcaloides hidrolizados de *E. sandwicensis*, difieren debido al método de extracción.

No se realizó prueba alguna de identidad específica para el tipo de alcaloides presentes en cada una de las fracciones. En otros trabajos se ha reportado el tipo de alcaloides que se han hallado en las distintas fracciones de varias especies, Folkers y Koniuszy (1940) establecen la nomenclatura para

diferenciar a los alcaloides libres y a los liberados por hidrólisis, asignando a los primeros el prefijo erythro y a los segundos el prefijo eryso. Para *Erythrina americana* se ha reportado la presencia de los siguientes alcaloides en la fracción hidrolizada: erysovina, erysodina, erysonina y erysopina. Para la fracción hexánica los alcaloides reportados son: α y β -erythroidina (Folkers y Koniuszy, 1940; Marion, 1956; Lozoya, 1982; Hastings, 1990).

III.- PRUEBA FARMACOLÓGICA

a) Determinación de la dosis letal media (DL_{50}).



En la figura 4, se observa la curva obtenida después de aplicar el análisis de probits sobre las dosis administradas de la fracción hexánica. Los valores de probabilidad están expresados en logaritmo de la dosis, al aplicar el antilogaritmo, se obtiene el valor de la DL_{50} , que para esta fracción correspondió a 40.37 mg/kg.

En la figura 5, se observa la curva obtenida para la fracción de alcaloides hidrolizados. Aplicando el antilogaritmo, se obtiene un valor de DL_{50} , para esta fracción de 39.69 mg/kg.

Estos valores comparados con los reportados por Lehman (1937), quien reporta una dosis letal media por vía i. p. de 600 mg/kg en ratones para el extracto alcohólico de semillas de *E. americana*, se observa que los obtenidos en este trabajo son mucho menores. La diferencia puede deberse a la variación en cantidad y tipo de los alcaloides contenidos en el extracto y las fracciones aquí trabajadas. En primer lugar, la concentración de alcaloides administrados pudo ser menor en la investigación de Lehman que en el presente trabajo.

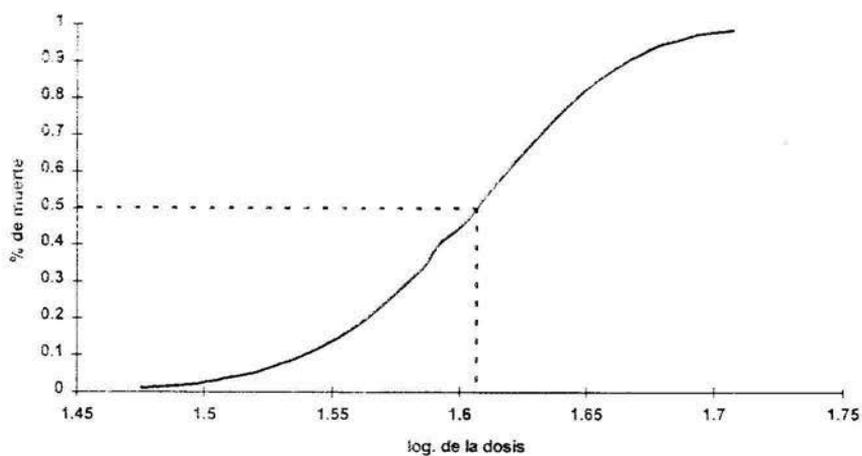


Fig. 4 - Valor en logaritmo de la dosis letal media para la fracción hexánica.

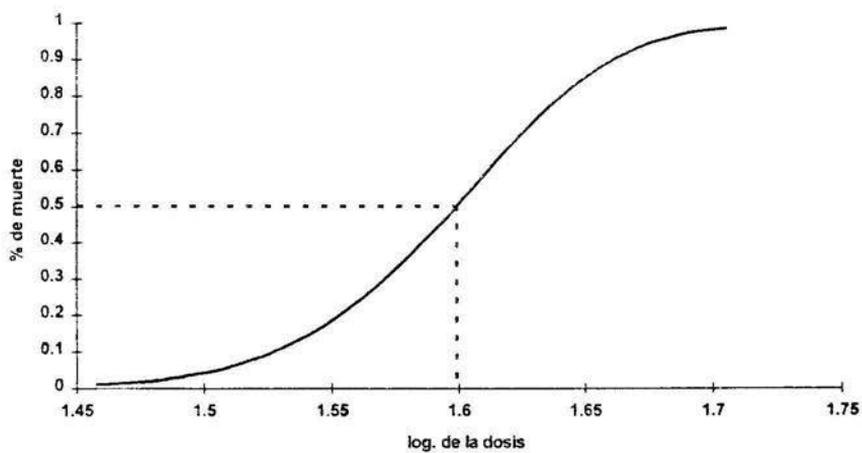


Fig. 5 - Valor en logaritmo de la dosis letal media para la fracción hidrolizada.

Asimismo, se ha observado que la estructura química de los diferentes alcaloides influye en la actividad farmacológica que presente (Kuschinsky y Lüllmann, 1973; Clark, *et al.* 1991).

Con respecto a las DL₅₀ reportadas por Unna y cols. (1944 a y b) para β -erythroidina de 48 mg/kg por vía s. c. y para varios alcaloides puros que van desde 18 mg/kg por vía oral y 14.8 mg/kg por vía s.c. para erysopina; 76 mg/kg por vía s.c. para erysothiopinato; 80 mg/kg por vía oral y 72 mg/kg por vía s.c. para erythralina; 155mg/kg por vía oral y 100 mg/kg por vía s.c. para erysodina y 104 mg/kg por vía s.c. para erythramina, no se puede establecer un parámetro de comparación debido a que además de que los alcaloides son puros, las vías de administración son diferentes a la vía empleada en este trabajo.

En cuanto a las dosis letales determinadas por Berger y Schwartz (1948) y Megirian, *et al.* (1955) obtuvieron una dosis letal media para β -erythroidina de 24 mg/kg y de 29.5 mg/kg, administrados por vía intraperitoneal respectivamente. La β -erythroidina ha sido reportado como el alcaloide de *E. americana* más activo fisiológicamente, con respecto al curare. Algunos autores señalan que los alcaloides puros presentan una mayor potencia que los extractos alcaloideos crudos como es el caso de las fracción hexánica e hidrolizada, las cuales al estar presentes varios alcaloides pueden presentar un antagonismo o competencia entre ellos, lo cual puede explicar que las dosis sean más elevadas para provocar el efecto tóxico agudo y por ende la muerte (Kuschinsky y Lüllmann, 1973; Clark, *et al.* 1991).

Como se mencionó en la parte correspondiente a la extracción de las fracciones, entre los alcaloides puros que podrían estar presentes en la fracción

hexánica se encuentran α y β -erythroidina, lo cual puede explicar que la fracción hexánica presente una toxicidad ligeramente más alta que la fracción hidrolizada que como también se había señalado, los alcaloides presentes no son tan activos como la β -erythroidina, pues se ha observado que la estructura de los alcaloides (erysotiopina, erysoticovina y erysopina) determina su actividad fisiológica (Megirian, *et al.* 1955).

b) Evaluación de la conducta agresiva en ratas.

i) Conducta Agresiva antes y después del Aislamiento Visual.

En el cuadro 7 se presentan los valores promedio obtenidos para cada grupo, después de evaluar durante los 20 días previos al aislamiento visual, estos valores constituyeron la línea basal y se comparan con los valores de la conducta agresiva después del aislamiento.

GRUPO	Conducta agresiva	
	Línea basal	Después de aislar
NaCl al 0.9% (1 ml/kg)	5.62	9.40*
Diazepam (2mg/kg)	5.67	8.60*
Fracción hexánica de alcaloides (3mg/kg)	5.67	9.00*
Fracción de alcaloides hidrolizados (3mg/kg)	5.59	8.90*

Cuadro 7.- Conducta agresiva de los grupos experimentales antes (L. B.) y después del aislamiento visual. (El * indica diferencias estadísticas significativas Wilcoxon $p \leq 0.05$).

En la figura 6 se observa que en todos los grupos trabajados, el valor de conducta agresiva antes del aislamiento visual fue siempre menor al obtenido después de aislar a los Ss. La diferencia entre la línea basal y la calificación

después del aislamiento visual va de tres puntos de calificación para el grupo asignado a diazepam a cuatro puntos de calificación para el grupo correspondiente a la solución salina, mientras que para los grupos de las fracciones alcaloideas el incremento fue de alrededor de los tres y medio puntos.

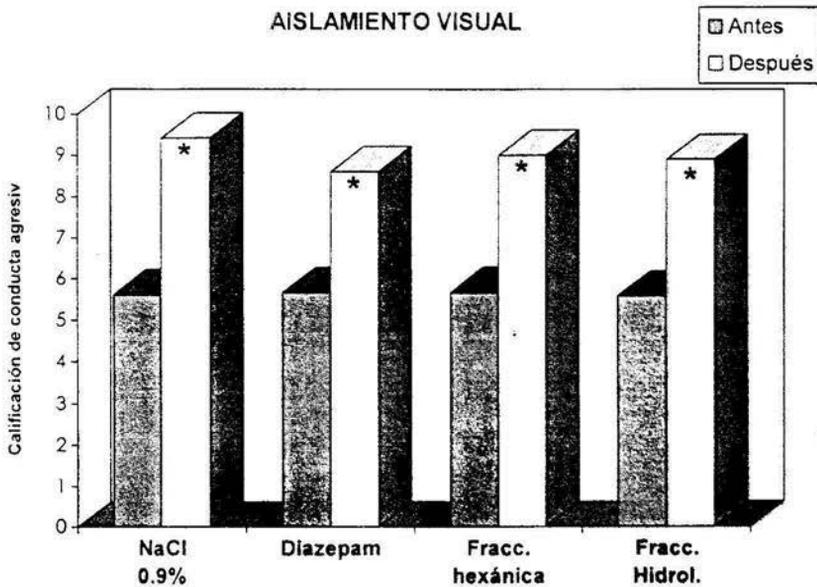


Fig. 6 - Conducta agresiva antes y después del aislamiento visual. (El * indica diferencias estadísticas significativas Wilcoxon $p \leq 0.05$).

El hecho de que la prueba no paramétrica de Wilcoxon, indicara diferencias estadísticas significativas para todos los grupos entre la línea basal y los valores de conducta agresiva obtenidos después de aislar a los animales

permitió confirmar la efectividad de la técnica como instrumento para incrementar los valores de la conducta agresiva de las ratas.

ii) Conducta agresiva después de administrar los tratamientos.

El cuadro 8 presenta los valores promedio de calificación de conducta agresiva obtenidos después de la aplicación de los tratamientos. En él se observa que las calificaciones del grupo que recibió la solución salina no variaron de manera significativa, conforme transcurrió la prueba, manteniéndose entre 8 y 9 puntos de calificación. La prueba de Kruskal-Wallis no indicó diferencias estadísticas significativas entre el tiempo cero con respecto a los demás tiempos, lo que permite inferir que el vehículo no tuvo efecto sobre la conducta agresiva.

Tratamiento	Tiempo posterior a la administración de los tratamientos (min)									
	0	20	40	60	80	100	120	140	160	180
NaCl al 0.9%	9.4	9.0	9.0	8.7	9.2	9.5	8.8	8.8	9.0	8.7
Diazepam	8.6 [^]	2.3 [^]	1.6 [^]	2.4 [^]	2.4 [^]	2.8 [^]	2.6 [^]	2.6 [^]	3.2 [^]	3.3 [^]
F. Hexánica	9.0 [°]	4.2 [°]	3.1 [°]	3.0 [°]	2.3 [°]	2.1 [°]	2.5 [°]	3.2 [°]	3.3 [°]	3.4 [°]
F. Hidrolizada	8.9 [*]	4.0 [*]	3.5 [*]	2.9 [*]	1.6 [*]	1.7 [*]	2.0 [*]	2.9 [*]	3.0 [*]	2.8 [*]

Cuadro 8.- Valor promedio de conducta agresiva de los grupos a lo largo de la prueba farmacológica, (n=10, los [^], [°] y ^{*} indican diferencias estadísticas significativas entre las calificaciones. Kruskal-Wallis p < 0.05).

El grupo de animales que recibió diazepam, presentó diferencias estadísticas significativas entre el tiempo cero y todos los demás tiempos ($\chi^2 = 28/83$, d.f. = 5, $p < 0.0001$), presentándose un descenso marcado en las calificaciones de conducta a los 20 min de aplicado este ansiolítico y su

calificación más baja se registró a los 40 min alcanzando un valor de 1.6 puntos de calificación, a partir de ese momento hubo un ligero incremento en las calificaciones hasta llegar a un valor máximo de 3.3 puntos, el cual está por debajo del valor de su línea basal y del valor máximo de agresión de los animales. Estos datos ponen de manifiesto el efecto tranquilizante de rápida acción que se atribuye a éste fármaco.

El grupo tratado con la fracción de alcaloides solubles en hexano presentó diferencias estadísticas significativas entre el tiempo cero y los demás tiempos ($X^2 = 40.78$, d.f. = 5, $p < 0.0001$). Su valor más bajo se presentó a los 100 min con 2.1 puntos de calificación.

De la misma forma que en los grupos anteriores, el grupo que recibió la fracción de alcaloides hidrolizados presentó diferencias estadísticas significativas entre el momento de la aplicación y los demás tiempos ($X^2 = 47.54$, d.f. = 5, $p < 0.0001$), y el valor de conducta agresiva más bajo fue registrado a los 80 min con 1.6 puntos de calificación. La disminución de la conducta agresiva y el mantenimiento de los valores por debajo de la línea basal cuando se administra la fracción hexánica o de alcaloides hidrolizados permite sugerir que ambos extractos alcaloideos tienen un efecto similar al del diazepam.

En la figura 7 se observa de manera clara la disminución que se presenta en los grupos tratados con diazepam, fracción hexánica e hidrolizada, a partir de los 20 min y como la tendencia sigue hasta el final de la prueba.

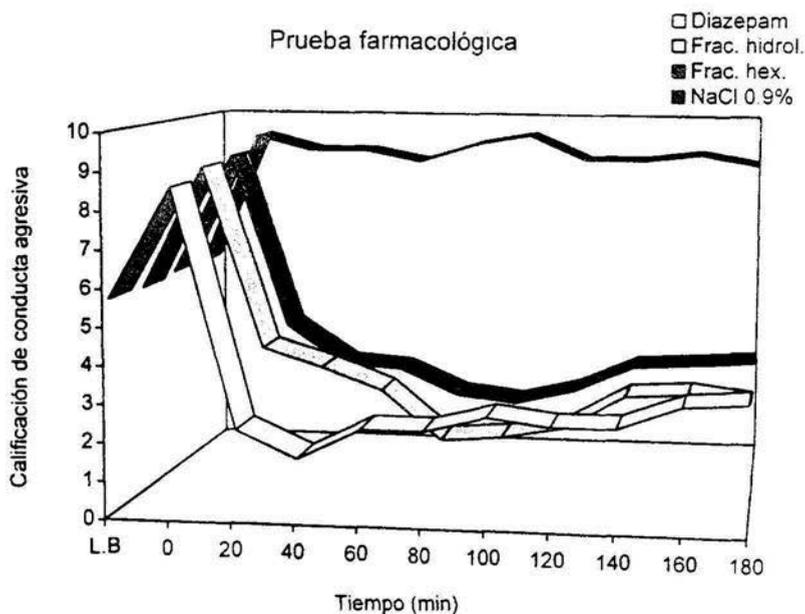


Fig. 7 - Conducta agresiva a lo largo de la prueba farmacológica posterior a la aplicación de los tratamientos.

Para obtener una medida de la rapidez de cambio de la respuesta a las sustancias empleadas con respecto al tiempo, se calculó el valor de la pendiente entre los dos primeros tiempos (0 y 20 min), de cada tratamiento (cuadro 9).

TRATAMIENTO	PENDIENTE (m)
Sol. Salina	-0.02
Diazepam	-0.315
Fracción de alcaloides solubles en hexano	-0.24
Fracción de alcaloides hidrolizados	-0.245

Cuadro 9.- Valor de la pendiente (m) entre los 0 y 20 min para cada tratamiento.

Como se puede observar, la pendiente más pronunciada entre los 0 y 20 min, correspondió al grupo que se le administró diazepam, seguida del grupo que recibió la fracción de alcaloides hidrolizados, después el grupo que fue tratado con la fracción de alcaloides solubles en hexano y, por último, el grupo que recibió solución salina tuvo una pendiente cuyo valor fue cercano a cero, lo que indica que ésta no tiene efecto alguno sobre la conducta agresiva.

Considerando que en los extractos alcaloideos, los principios activos no se encuentran puros, se pudiera esperar que el efecto tranquilizante de los alcaloides aislados de las fracciones, ocasionaran un descenso mayor las calificaciones de conducta agresiva, que el presentado por las fracciones crudas e, incluso mayor al que se registró con el diazepam, pues se ha visto que las sustancias completamente aisladas, son más efectivas farmacológicamente, además de influir sobre la actividad fisiológica la estereoquímica de la sustancia (Megirian, *et al.* 1955; Balandrin, *et al.* 1985; Akerele, *et al.* 1991).

A pesar de todo, la disminución de la conducta agresiva que presentan los grupos tratados con las fracciones de alcaloides solubles en hexano y los alcaloides hidrolizados con respecto al grupo que recibió solución salina es significativa; esto permite relacionar y explicar el efecto tranquilizante que los Teenek atribuyen a las especies del género *Erythrina*.

VI. RECOMENDACIONES

Los efectos reportados para las fracciones alcaloideas indican que estas pueden ser empleadas en un futuro para el tratamiento de ciertas afecciones relacionadas con el estrés; sin embargo, es necesario continuar y enriquecer este tipo de trabajos, por lo cual se proponen las siguientes sugerencias:

Continuar con la determinación de la toxicidad de las fracciones alcaloideas, llevar a cabo la prueba de dosis efectiva media para ambas y junto con los datos obtenidos de las dosis letales medias, establecer el margen terapéutico en animales de laboratorio, con el fin de valorar su posible empleo a largo plazo en pruebas clínicas. Asimismo, determinar para cada una de las fracciones alcaloideas la dosis efectiva media (DE_{50}) capaz de disminuir la conducta agresiva en ratas.

Con respecto a la extracción de alcaloides, proseguir con la obtención y purificación de los alcaloides presentes en cada una de las fracciones que se obtuvieron de *E. americana*. Por otra parte, realizar una evaluación farmacológica con algunos alcaloides puros de interés clínico, determinando los mismos parámetros considerados para las fracciones crudas. Es necesario implementar con los estudios farmacológicos para caracterizar el efecto de las fracciones o de los alcaloides aislados sobre la conducta agresiva o bien otro tipo de desordenes clínicos y aportar información adicional sobre el mecanismo de acción de estas sustancias.

CONCLUSIONES

- Los ejemplares se determinaron como *Erythrina americana* Miller y quedaron registrados con el número 599011 de la colección del herbario MEXU de la UNAM.

- Se determinó la presencia de alcaloides en la fracción de alcaloides solubles en hexano con un porcentaje de 0.068% y para los alcaloides obtenidos por hidrólisis ácida, correspondió a 0.224% del peso total de las semillas.

- A pesar de las diferencias con respecto a los procedimientos reportados en la literatura, el método de extracción empleado aquí resultó eficaz para extraer las distintas fracciones de alcaloides contenidos en las semillas de *E. americana*.

- La dosis letal media obtenida para la fracción hexánica fue de 40.37 mg/kg y para la fracción hidrolizada fue de 39.69 mg/kg.

- Los tratamientos con diazepam, fracción de alcaloides solubles en hexano y alcaloides obtenidos por hidrólisis ácida, produjeron una disminución en la calificación de conducta agresiva en ratas.

- La dosis empleada de 3 mg/kg para las fracciones de alcaloides solubles en hexano y de alcaloides hidrolizados fue suficiente para provocar una reducción significativa en la conducta agresiva, sin embargo, esta disminución no fue tan pronunciada como con la dosis de 2 mg/kg usada para el diazepam.

- El efecto tranquilizante que empíricamente se atribuye a especies de *Erythrina* puede relacionarse con la acción farmacológica de las fracciones de alcaloides crudos observada en este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

AGUILAR, M. I., GIRAL, F., ESPEJO, O. 1981. Alkaloids from the flowers of *Erythrina americana*. Phytochemistry 20(8):2061-2062.

AKERELE, O., HEYWOD, V., SYNGE, H., 1991. The conservation of medicinal plants. Cambridge University Press, London, U. K. pp 3-11.

ANONIMO, 1992. Manual de Prácticas de Laboratorio. Sección de Farmacología. Escuela Superior de Medicina, I P N. pp 10-34.

BALANDRIN, M., KLOCKE, J., SYRKIN, E., BOLLINGER, H. 1985. Natural plant chemical: Sources of industrial and medicinal materials. Science 228(4754):1154-1160.

BARRERA, E. M. 1958. Valoración de alcaloides en el Colorín (*Erythrina americana*). Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM: México.

BARZ, W., KÖSTER, J. 1981 Turnover and degradation of secondary (natural) products. En: E. E. Conn. Ed. The biochemistry of plants. Vol. 7. Secondary plant products. Academic Press. New York, USA. pp 35-80.

BERGER, F. M., SCHWARTZ, R. P. 1948. The toxicity and muscular effect of d-tubocurarine combined with β -erythroidine, myanesin or evipal. J. Pharmacol Exp. Therap. 93:362-367.

BEVAN, J. 1982. Fundamentos de Farmacología: Introducción a los principios de acción de los fármacos. 2a. ed. Harla. México. pp 43-45.

BORNSTEIN, P. 1981. Modification of adult aggression: A critical review of theory, research and practice. En: Michael Hersen Ed. Progress in behavior modification. Vol. 12. Academic Press. New York, USA. pp 300-350.

BOWMAN, W., RAND, M. 1985. Farmacología: bases bioquímicas y patológicas. aplicaciones clínicas. 2a. ed. Interamericana. México. pp 14.7, 15.18, 17.35, 18.6 y 19.7.

BRADY, J., NAUTA, W. 1957. Subcortical mechanism in emotional behavior: affective changes following septal forebrain lesion in the albino rat. J. Comp. Physiol. Psychol. 96:339-346.

BRUNETON, J. 1991. Elementos de fitoquímica y de farmacognosia. Acriba. Zaragoza, España. pp 355-430.

CARLSON, D. R. 1980. Physiology of behavior. Allyn & Bacon. Boston, EUA. pp 439-454.

CHAWLA, A. S., REDHA, F. M., JACKSON, A. H. 1985. Alkaloids in seeds of Four *Erythrina* species. Phytochemistry 24:1821-1823.

CLARK, W. G., BRATER, D. C., JOHNSON, A. R. 1991. Farmacología clínica. Médica Panamericana. México. pp 43-49.

CONTRERAS, A., ZOLLA, C. 1982. Plantas tóxicas de México. Instituto Mexicano del Seguro Social. México.

CRAIG, L. 1981. Curare like-effects. En: R. F. Manske y H. L. Holmes Ed. The Alkaloids: Chemistry and physiology. Academic Press. New York, USA. pp 265-293.

DE FLORES, T., VALDÉS, M. 1983. Farmacología de la agresión. Rev. Latinoamer. de Psicol. 15(3):327-348.

DELGADO, L. U. 1991. Efecto de la infusión de semillas de colorín (*E. americana*) sobre la intensidad de la contracción muscular. Tesis de Licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, México.

FARNSWORTH, N. R., SOEJARTO, D. D. 1991. Global importance of medicinal plants. En: Akerele, O., Heywod, V., Synge, H. ed. The conservation of medicinal plants. Cambridge University Press. London, U. K. pp 25-51.

FELDMAN, S. A., SCURR, C. F., PATON, W. 1990. Fármacos en anestesia. Mecanismos de acción. Salvat Editores S. A. Barcelona, España. pp 143-145, 251-261.

FOLKERS, K., MAJOR, R. 1937. Isolation of *Erythrina* an alkaloid of curare action from *E. americana*. J. Amer. Chem. Soc. 59:1580-1581.

FOLKERS, K., KONIUSZY, F. 1940. (a) *Erythrina* alkaloids. VII. Isolation and characterization of the new alkaloids, Erythraline and Erythratine. J. Amer. Chem. Soc. 62:436-441.

FOLKERS, K., KONIUSZY, F. 1940. (b) *Erythrina* alkaloids. VIII. Studies on the constitution of Erythramine and Erythraline. J. Amer. Chem. Soc. 62:1673-1677.

FOLKERS, K., KONIUSZY, F. 1940. (c) Erythrina alkaloids. IX. Isolation and characterization of Erysopine, Erysocine and Erysovine. J. Amer. Chem. Soc. 62:1677-1683.

GAMES, D., JACKSON, A., KHAN, N., MILLINGTON, D. 1974. Alkaloids of Some African, Asian, Polynesian and Australian Species of *Erythrina*. Lloydia 37(4):581-587.

GHOSAL, S., GHOSH, D., DUTTA, S. 1970. Occurrence of Erysotrine and others alkaloids in *Erythrina variegata* L. Phytochemistry 9:2397-2398.

GHOSAL, S., MAJUMDAR, S., CHAKRABORTI, A. 1971. Erythrina alkaloids: Occurrence of (+) *N*-Nortprotosinonomenine and others alkaloids in *Erythrina lithosperma* (Leguminosae). Aust. J. Chem. (24):2733.

GHOSAL, S., DUTTA, S., BHATTACHARYA, S. K. 1972. Erythrina-chemical and pharmacological evaluation II: Alkaloids of *Erythrina variegata* L. J. Pharmac. Sc. 61(8):1274-1277.

HARGREAVES, R., JOHNSON, D., MILLINGTON, D., MONDAL, M., BEAVERS, W., BECKER, L., YOUNG, C., RINEHART, K. L. Jr. 1974. Alkaloids of American Species of *Erythrina*. Lloydia 37(4):569-580.

HASTINGS, R. P. 1990. Medicinal Legumes of Mexico: Fabaceae, Papilionoideae, Part One. Economic Botany 44(3):336-348.

HEGNAUER, R. 1963. The taxonomic importance of alkaloid. En: T. Swain Ed. Chemical Plant Taxonomy. Academic Press. New York, USA.

HOSLER, D., MIKITA, M. 1987. Etnobotany: The chemist's source for the identification of useful natural products. J. Chem. Educ. 64(4):328-332.

JOHNSON, R. 1976. La agresión en el hombre y los animales. El Manual Moderno. México. pp 1-56.

JOYCE, C. 1992. Western medicine men return to the field. Bioscience 42(6):399-403.

KALIMO, R., MEJMAN, T. 1988. Respuestas psicológicas y de conducta al estrés en el trabajo. En: Kalimo, R., El-Batawi M. A., Cooper, C. L. Eds. Los factores psicosociales en el trabajo y su relación con la salud. Organización Mundial de la Salud, Ginebra.

KORNHAUSER, L. 1962. Alcaloides en la corteza del Colorín (*Erythrina americana*). Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM. México.

KRUKOFF, B., BARNEBY, R. 1974. Conspectus of species of the genus *Erythrina*. Lloydia 37(3):332-459.

KUSCHINSKY, G., LÜLMANN, H. 1973. Manual de Farmacología. Marín, España. pp 298-313.

LEAVITT, F. 1974. Aggression. En: Drugs and Behavior. W. B. Sanders Company. London, U. K.

LEHMAN, A. J. 1936. Curare-actions of *Erythrina americana*. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 33(4):501-503.

LEHMAN, A. J. 1937. Actions of *Erythrina americana*, a possible curare substitute J. Pharmacol. Exptl. Therap. 60(1):69-81.

LOZOYA, X., LOZOYA, M. 1982. Flora Medicinal de México. Primera parte. Plantas Indígenas. Instituto Mexicano del Seguro Social. México.

LOZOYA, X., ZOLLA, C. 1984. Medicina tradicional en México. Bol. Of. Sanit. Panamer. Año 63 96(4):360-364.

LOZOYA, X. 1987. Encuesta sobre el uso actual de plantas en la medicina tradicional mexicana. Rev. Med. IMSS 25(4):283-291.

MALDONI, B. 1991. Alkaloids: Isolation and purification. J. Chem. Educ. (68)8:700-703.

MAKSABEDIAN, J. 1978. Estudio de los efectos terapéuticos del alcaloide de las hojas de *Erythrina americana* en canideos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México.

MARION, L. 1956. The Erythrina Alkaloids. En: R. F. Manske y H. L. Holmes Ed. The Alkaloids: Chemistry and physiology, Vol. 1. Academic Press. New York, USA. pp 499-511.

MEGIRIAN, D., LEARY, D., SLATER, I. 1955. The action of some derivatives of beta erythroidine on peripheral neuro-effector systems. J. Pharmacol. Exp. Therap. 113:212-227.

MORTON, J. 1994. Pito (*Erythrina berteroana*) and Chipilin (*Crotalaria longirostrata*), (Fabaceae), Two soporific vegetables of Centro America. Economic Botany 48(2):130-138.

MOYER, K. 1971. The physiology of aggression and the implications for aggression control. En: Jerome I Singer Ed. The control of aggression and violence, cognitive and physiological effects. Academic Press. New York, USA. pp 61-93.

MUSALEM, M. A. 1992. Erythrina in Mexico: Occurrence, use and research. International Conference an Erythrina in the New and Old World. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica.

NAKAGAWA, O. M. 1991. Determinación de la dosis letal 50% del extracto acuoso del colorín (*Erythrina americana*) por vía oral en ratas Spaque-Dawley. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, México.

NIEMBRO, A. 1990. Arboles y arbustos útiles de México, naturales e inducidos. Limusa. México. p 89.

ORTIZ DE MONTELLANO, B. 1975. Empirical Aztec medicine. Science 188 (4185):215-220.

PELLETIER, W. 1983. The nature and definition of an alkaloid. En: Pelletier, W. ed. Alkaloids. Vol. 1, John Wiley & Sons; pp 1-31.

PICK, E. P., UNNA, K. 1945. The effect of curare and curare-like substances on the central nervous system. J. Pharmacol. Exp. Therap. 83(1):59-70.

PICK, E. P., RICHARDS, G. V. 1947. The synergism of anesthetics and hypnotics with curare and curare-like alkaloids. J. Pharmacol. Exp. Therap. 90(1):1-13.

RAMÍREZ, E., RIVERO, M. D. 1935. Contribución al estudio de la acción farmacodinámica de la *Erythrina americana*. Anal. Inst. Biol. pp 301-305.

RYESKI, D. 1976. Conceptos tradicionales de la medicina de un pueblo mexicano, un análisis antropológico. SEP/Setentas. México.

ROMERO, M. A. 1989. Determinación de la dosis letal 50% del extracto acuoso de la hoja del colorín (*Erythrina americana*) en ratas Long-Evans. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, México.

SCHULTES, E. 1962. The role of the ethnobotanist in the search for new medicinal plants. Lloydia 25(4):257-266.

SMITH, W. K., DODGE, P., LUTRELL, C., FELDMAHN A. 1949. The site of action of some chemical agents in diminishing normal and excessive muscle tension. Science 110(2847):96-97.

SOTELO, A., SOTO, M., LUCAS, B., G-RAL, F. 1993. Comparative studies of the alkaloidal composition of two Mexican *Erythrina* species and nutritive value of the detoxified seeds. J. Agric. Food Chem. 41:2340-2343.

SOTO-HERNANDEZ, M. 1989. Chemical and Structural studies of *Erythrina* alkaloids. Ph.D. Thesis Univ. of Wales, Cardiff, UK.

SOTO-HERNANDEZ, M., JACKSON, A. 1994. *Erythrina* Alkaloids: Isolation and Characterization of Alkaloids from seven *Erythrina* Species. Planta Medica 60:175-177.

SOEJARTO, D. D. 1996. Biodiversity prospecting and benefit-sharing: perspectives from the field. Journal of Ethnopharmacology 51(1):1-15.

STANDLEY, L. 1922. Trees and shrubs of Mexico: **Fagaceae** and **Fabaceae**. Contr. U. S. Nat. Herb. 23:498.

TAIZ, L., ZEIGER, E. 1991. Plant physiology. The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc. Cal, USA. pp. 318-345.

TREASE, G. E., EVANS, W. C. 1989. Alcaloides. En: Farmacognosia. Interamericana Mc Graw-Hill. México. pp 590-597.

TYLER, 1979. Farmacognosia. Cap. 9. 2a. ed. Ed. El Ateneo, México.

UNNA, K., GRESLIN, J. G. 1944. Pharmacologic action of *Erythrina* alkaloids. II. Free, liberated and combined alkaloids. J. Pharmacol. Exp. Therap. 80(39):53-61.

UNNA, K., KNIAZUK, M., GRESLIN, J. G. 1944. Pharmacologic action of Erythrina alkaloids I. β -erythroidine and substances derived from it. J. Pharmacol. Exp. Therap. 80(39):39-52.

VARGAS, A. 1988. Evaluación del efecto inmobilizador de los extractos hidrosolubles y liposolubles de la flor de colorín (*Erythrina americana*) en carpas (*Ciprinus carpio*). Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México.

VILLAGOMEZ, G., HERNÁNDEZ, M. del C., RODRIGUEZ, V. M. 1990. Estudio etnobotánico, químico y farmacológico de doce plantas medicinales con reputación sedativa. 11o. Congreso de Botánica. Oaxtepec, Morelos, México.



U.N.A.M. CAMPUS
IZTACALA