



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

HEIMIA SALICIFOLIA DESDE EL PUNTO  
DE VISTA DE LOS ESTUPEFACIENTES

T E S I S

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a :

JOSEFINA VILLALPANDO ENRIQUEZ

1980

M-23558



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.

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA

PRESIDENTE      Prof.: IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA  
V O C A L        "    : FRANCISCO SANCHEZ VIESCA  
SECRETARIO      "    : ETELVINA MEDRANO DE JAIMES  
1er. SUPLENTE   "    : ENRIQUE CALDERON GARCIA  
2do. SUPLENTE   "    : CESAR A. DOMINGUEZ CAMACHO

Sitio donde se desarrollo el tema: Diversas Bibliotecas

Sustentante: JOSEFINA VILLALPANDO ENRIQUEZ

Asesor del Tema: PROF. IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA

A mis padres:

SR. DR. JUAN VILLALPANDO PRIETO

SRA. GUADALUPE E. DE VILLALPANDO

Con inmenso cariño y gratitud, -  
por su esfuerzo en lograr que --  
fuera algo en la vida.

A mis hermanos:

JUAN ANTONIO +

FRANCISCO

JULIA

JUAN

GABRIEL

MA. GUADALUPE

ALEJANDRO

MA. DE LOS ANGELES

MIGUEL

MA. DEL CARMEN

IGNACIO

CARLOS

Con agradecimiento al  
PROF. IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA  
Por la dirección y asesoramien-  
to de la presente tesis.

Al Prof.  
FRANCISCO SANCHEZ VIESCA  
Por sus valiosísimas apor  
taciones y observaciones.

## INDICE

	Págs.
I .- PROLOGO	1
II .- CLASIFICACION	2
III .- DESCRIPCION BOTANICA	4
IV .- ANALISIS QUIMICOS E INVESTIGACIONES PRELIMINARES	8
V .- PRINCIPIOS ACTIVOS	14
VI .- SEPARACION DE LOS ALCALOIDES	16
VII .- IDENTIFICACION DE LOS ALCALOIDES	25
VIII .- METODOS FARMACOLOGICOS EMPLEADOS PARA EL ESTUDIO DE NESODINA, CRIOGENINA Y OTROS ALCALOIDES DE LA HEIMIA SALICIFOLIA	45
IX .- VALORACION DEL PODER ANTI-INFLAMATORIO DE LA CRIO GENINA	64
X .- PROPIEDADES TERAPEUTICAS	90
XI .- CONCLUSIONES	92
XII .- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	94

## I.- PROLOGO

En virtud de que entre las plantas mexicanas que producen alucinaciones, se menciona a la *Heimia salicifolia* y --- existiendo poca información sobre ella y de sus propiedades sobre el organismo, se decidió hacer un estudio monográfico de esta planta, con el fin de recopilar la mayor información posible sobre dicho vegetal.

## II.- CLASIFICACION

Es una planta con propiedades de estupefaciente, mexicana, interesante y aún poco conocida, cuyo nombre vulgar es - "Sinicuiche". El nombre botánico es "Heimia salicifolia" (3).

*Heimia salicifolia* (H. B. K.) Link. Enum. Pl. 2: 3. 1822.

*Nesaea salicifolia* H. B. K. Nov. Gen. & Sp. 6: 192. 1823.

Pertenece a la familia de las litráceas, al género *Heimia* Link y Otto citado en (1,2,5,6,7,12,13,14,15,16,17) y a la especie *salicifolia* Humbolt, Bonpland y Kunt citado en -- (2,5,6,16,18,22,23,26). La familia consta de 22 géneros, con aproximadamente 500 especies, se encuentra en regiones tropicales y subtropicales, vegetando a lo largo de los ríos o en suelos húmedos de Estados Unidos y oeste de Texas (5). En México en los estados de Baja California, Nuevo León, Zacatecas, Tamaulipas, San Luis Potosí, Coahuila, Querétaro, Michoacán, Jalisco, Veracruz, Oaxaca y alrededores de Tenancingo. En Centroamérica en Guatemala, Salvador y Jamaica. En -- Sudamérica en Uruguay, Paraguay, norte de Argentina y sur de Brasil (7,11,16,18,22).

Las especies más conocidas y que se consideran como variantes de la *Heimia salicifolia* son:

*Heimia syphilitica* DC. Mém. Soc. Phys. Hist. Nat. Geneve 3<sup>2</sup>: 12. 1826.

*Nesaea syphilitica* Steud. Flora 25: 474. 1842.

*Heimia myrtifolia* Cham & Schl

Las dos son nativas de Sudamérica, la *Heimia myrtifolia* se localiza en Río de Janeiro y se extiende hacia el sur de Argentina, en la región de la costa del mar. En cambio la -- *Heimia salicifolia* es del norte de México.

También se le conoce a la *Heimia salicifolia* como "quebra arado" en Argentina; "abre-o-sol" en el Río Grande del -- Sur; "herva de la vida" en Brasil (5,7). Estos nombres similares, igualmente usados en otras partes, son sólo una parte



del total de los nombres comunes de la planta. Sinónimos adicionales (algunos evidentemente dialectales) incluye "hanchinal" (Oaxaca y Morelos); "hauchinal", "hauchinol", "huachinonle", "huechinal", "hauchinoli", "huachinoli", "huachinol", - "hachinal", "hanchinoli", "haulchinol", "hachinol", "huauchinal", "huanchinol", "jarilla" (Oaxaca); "sinicuil", "sini---cuilche", "sinicuiche" (Nuevo León y Jalisco) (17,21); "granadillo", (Urbina); "escobilla del rfo" (Tamaulipas); "quiebra yugo" (Argentina y Uruguay); "auchinoli", "xonecuil" -- (Morelos); "anchinol", "anchinoli" (5,11,18,22).

### III.- DESCRIPCION BOTANICA

Se describe como un pequeño arbusto de 0.5 a 3 m de altura (7,11,18,22,23), tallo erguido, excesivamente ramoso, ramas ternadas y opuestas. Los ramos tetragonos, alternos, opuestos, rígidos y glabros, lo mismo que el tallo (6), ramitos alargados, cuatro a cinco angulados, lampiños y de color verde (2). Ver Figura 1.

Hojas.- Son de color verde oscuro en la cara superior y un poco más claro en la inferior (6), membranosas, lampiñas ternadas y opuestas, sésiles, acuminadas, miden de 2 a 9 cm de largo (11,18,22) por 0.6 a 0.8 cm de ancho, las superiores son alternas y con pecíolos muy cortos (7). Todas las hojas tienen nervaduras poco visibles y el nervio medio es sobresaliente por debajo de la hoja (2,23).

Flores.- Son más bien pequeñas, completas, inodoras, solitarias, axilares, opuestas o comúnmente alternas, ligeramente pediceladas; pedúnculos de apenas 3 mm de largo (2), obovadas, glabras, herbáceas, con seis pétalos de color amarillo claro y llevan cada una de ellas dos brácteas pequeñas. Florece en septiembre (11, 18,22,23,26)

Cáliz.- Libre, campanulado, mide de 5 a 9 cm de largo dependiente y sostenido de la base del lóbulo (22); gamosépalo, glabro, terminado por doce dientes, de los cuales seis son anchos triangulares cóncavos hacia fuera é inclinados ligeramente hacia el interior; los otros seis son pequeños, delgados, en forma de cuerno, están rechazados hacia afuera y alternan con los primeros. En la superficie exterior se notan 12 nervios (6).

Corola.- Regular dialipétala. Los pétalos son obovados, glabros, varían en número entre 5 a 7 y de 12 a 17 mm de largo de color amarillo vivo; se insertan en la parte superior del cáliz, en la base de los dientes pequeños y por consiguiente alternan con los grandes; su tejido es muy delicado y venoso; su duración es muy corta (6).

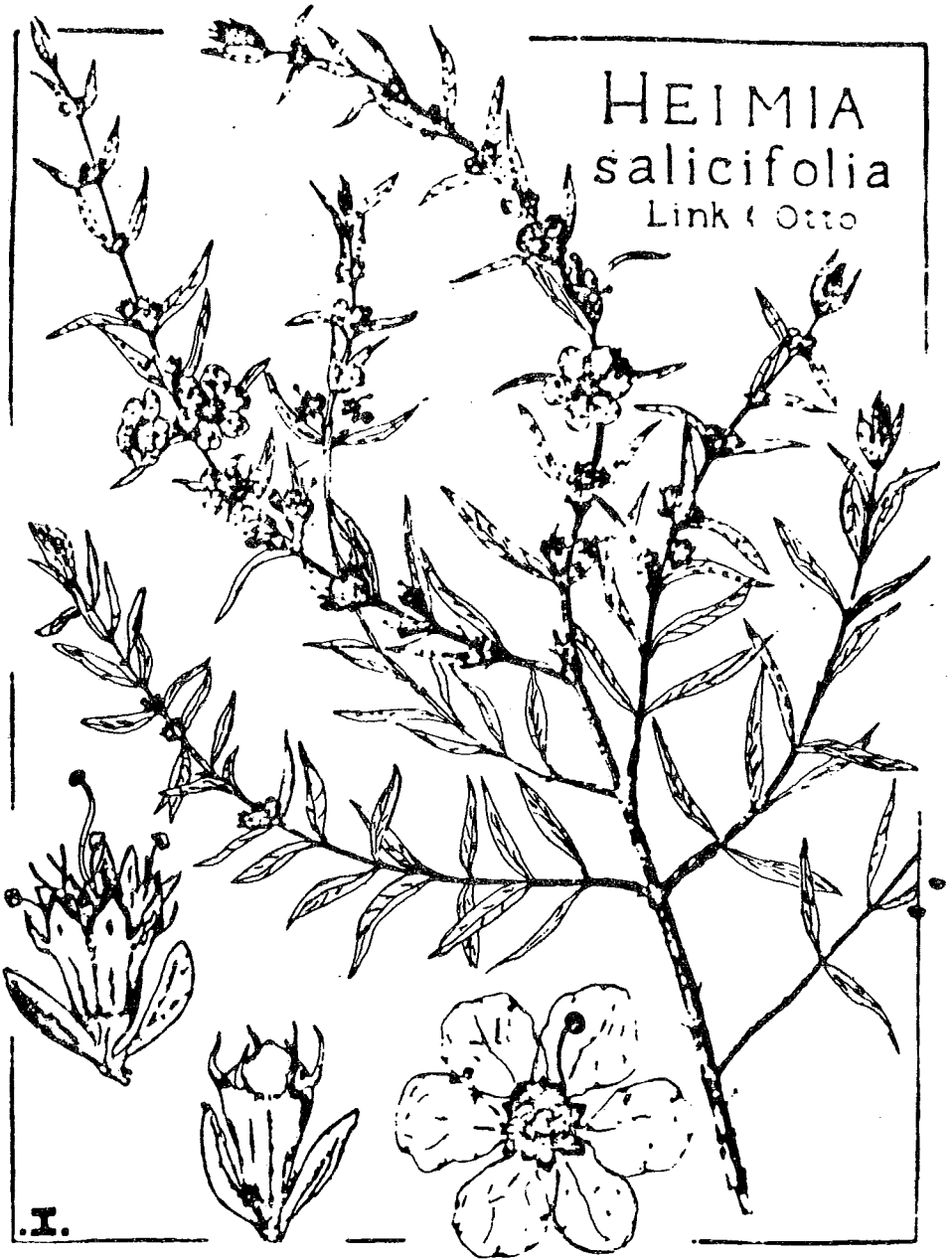


FIGURA 1.- *Heimia salicifolia*

Androceo.- Estambres de 10 a 18, uniseriados, casi iguales, libres entre sí, incluidos e insertados sobre el cáliz hasta la mitad. Filamentos delgados cilíndricos y lampiños. Anteras medifijas, elípticas, poco aplanadas, escotadas en el ápice, biloculares, amarillentas, lampiñas, dehiscentes longitudinalmente por la parte interna (6,22)

Guineceo.- Ovario súpero, sentado, globuloso, obovado, lampiño, con cuatro cavidades, placentas cuatro, axilares; pluriovulado (6). El estilo es filiforme, cilíndrico, grueso, largo, lampiño, sobresaliente y capitado. El estigma en cabezuela (2).

Fruto.- Cápsula membranosa, menor que el tubo del cáliz, frágil, de color negruzco, semiesférica y envuelta por el cáliz, dehiscencia loculicida (6). Granos muy numerosos y pequeños pues sólo llegan a medir un milímetro de diámetro, -- ovoides, angulosos, de color amarillo (11).

Raíz.- La figura 2 muestra el corte transversal de la raíz, indicando con el 1 el suber; con el 2 la corteza secundaria formada por células de parénquima alargadas en el sentido tangencial; con el 3 el liber secundario compuesto por células que segregan cristales de oxalato de calcio en abundancia; con el 4 nos indica la madera secundaria formada por grandes vasos leñosos y abundantes fibras radio medulares -- las cuales son más visibles en el liber secundario debido a la forma de sus células y carecen de cristales de oxalato de calcio. No hay representación de tejidos secretores (2).

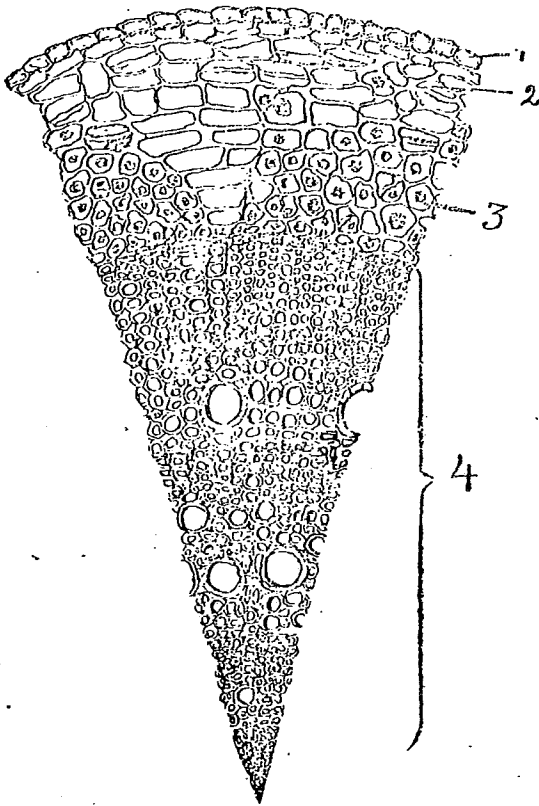


Figura 2.

#### IV.- ANALISIS QUIMICOS E INVESTIGACIONES PRELIMINARES

Los primeros análisis químicos de la *Heimia salicifolia* los efectuó Juan B. Calderón (7) en su tesis "Estudio sobre el arbusto llamado sinicuiche". En este estudio empleó la planta completa y encontró que contiene: principios amargos, clorofila, materia grasa, resina soluble en alcohol, resina soluble en éter, tanino, materia colorante amarillo rojiza, materia extractiva, goma, almidón, glucosa y huellas de aceite esencial; además, hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, hidróxido de calcio, magnesio, fierro y ácidos carbónico, sulfúrico, clorhídrico, fosfórico y silícico.

En las pruebas que efectuó utilizó la planta completa - la cual pulverizó y sometió en un aparato percolador con éter sulfúrico como menstruo, obtuvo un líquido de color verde esmeralda por refracción y rojo oscuro por reflexión. Después evaporó el líquido etéreo espontáneamente le quedó un residuo de color negro visto en masa y verde claro cuando se ve en capas delgadas, de consistencia blanda, insípido, con un ligero olor especial; arde con una llama fuliginosa al ser quemado en una hoja de platino. Todas estas características físicas fueron indicios de la existencia de clorofila, materia grasa, aceite esencial, resina y aún más, porque estas sustancias son solubles en el éter.

Clorofila.- Para probar la existencia de esta sustancia en la planta trató el extracto etéreo con alcohol de 85° hasta observar una completa solubilidad. Tomó una parte y le adicionó bicloruro de mercurio y potasa, obtuvo una laca de color amarillo verdoso, lo cual demostraba la presencia de clorofila, ya que ésta al solubilizarse en el alcohol forma lacas al reaccionar con una sal metálica y un álcali, lacas cuyo color varía con la base de la sal; además, trató el extracto etéreo con ácido clorhídrico concentrado, obteniendo una solución de color verde esmeralda, la cual precipitó con amoníaco en grandes cantidades o con agua hirviendo, ---

obtuvo un precipitado de color verde sucio.

Resina.- Otra parte de la solución etéreo-alcohólica la agitó varias veces con bencina, la dejó reposar y decantó el alcohol, le adicionó bastante agua que provocó la formación de un precipitado pulvurulento debido a la presencia de una resina.

Grasa fija.- Observó que a pesar de que el extracto etéreo lo había tratado con suficiente alcohol, aún dejaba un pequeño residuo de consistencia blanda, el cual estaba constituido por otra parte de la resina anteriormente identificada disuelta en una grasa fija, razón por la cual no se había disuelto completamente en el alcohol. Para comprobar esto, a una parte del residuo le adicionó bencina y alcohol lo agitó y decantó este último, le añadió agua y obtuvo un precipitado semejante al descrito anteriormente; otra parte la trató con cloroformo y unas gotas de la solución obtenida las vertió sobre un papel, lo cual produjo una mancha grasosa que no desapareció al calentarse lo que indicaba la presencia de una grasa fija.

Tanino.- Comprobó que existe en la planta no sólo por el sabor astringente que es característico de la mayor parte de los taninos, sino también por el color de la solución amarillo dorado y que al evaporarse totalmente en B.M. dejó un residuo de color amarillo rojizo, de sabor también astringente.

La extracción del tanino la efectuó utilizando el extracto etéreo-alcohólico que evaporó en B.M. hasta obtener un residuo de color amarillo rojizo el cual disolvió en agua; a una parte de esta solución le adicionó percloruro de hierro produciéndose un precipitado de color negro. Otra parte la precipitó al adicionar una solución acuosa de albúmina, con lo que demostraba claramente la presencia de tanino.

Materia colorante.- Otra parte de la solución acuosa obtenida anteriormente al disolver el residuo la decoloró con carbón animal y adicionó agua alcalinizada, el líquido alca-

lino presentaba el mismo color amarillo rojizo de la solución primitiva, el cual desaparecía y se formaba un precipitado pulvurulento amarillo obscuro al neutralizar con un ácido. La solución obtenida la filtró para separar el tanino y la concentró por evaporación, la dejó reposar por un tiempo para ver si cristalizaba alguna sustancia, pero no hubo ningún resultado.

Después de extraer el extracto con agua destilada, quedó un pequeño residuo, el cual por medio de la bencina y el alcohol y siguiendo el procedimiento anteriormente descrito se pudiera demostrar la presencia de una resina, diferente a la encontrada en el tratamiento anterior, pues al separar una pequeña cantidad se vió que era insoluble en el éter.

Además de las anteriores sustancias, habia en el extracto alcohólico otra que no pudo definir y que consideró como materia extractiva.

Al tratar la planta con alcohol de 60° notó que la materia colorante y el tanino se disolvían en mayor proporción, mientras que la materia extractiva y la resina se disolvían en cantidades muy pequeñas; debiéndose advertir que el tanino se encuentra en la planta en gran cantidad.

En el tratamiento de la planta con el agua obtuvo una solución de color amarillo obscuro, que al evaporarla dejó un residuo del mismo color. En el líquido, después de haberlo decolorado con carbón animal y concentrarlo por evaporación, encontró que tiene sosa y magnesio, identificándolos mediante reactivos específicos, la goma por el precipitado anaranjado que dió con una sal férrica y con el alcohol de 90°, la glucosa por la reducción del reactivo de Fehling y y la coloración morena al calentarla con potasa. En el extracto se volvieron a encontrar estas mismas sustancias.

La planta también se trató con agua acidulada y alcalinizada, pero no logró identificar alguna sustancia. Solamente en la solución acidulada con ácido clorhídrico encontró: hidróxido de calcio y fierro.



El bagazo de la planta lo trató con agua caliente y en seguida adicionando tintura de yodo, se produjo una coloración azul lo cual demostraba la presencia de almidón.

Siguiendo el método de Stas citado en (6) investigó la existencia de alcaloides, pero no obtuvo ningún resultado.

Análisis Mineral.- Una parte de la planta entera la sometió a incineración y las cenizas las analizó por vía seca, encontrando algunas bases alcalinas y alcalinotérreas. En el método de análisis por vía húmeda encontró: hidróxido de calcio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, magnesio y -- fierro, éste último en abundancia y además los ácidos carbónico, clorhídrico, sulfúrico, fosfórico y silícico.

En el análisis efectuado utilizando únicamente las hojas, en cien partes de éstas perfectamente secas y pulverizadas, Alas citado en (26) encontró que contienen:

Sustancia grasa y clorofila .....	12
Principio extractivo y resina .....	14
Principio amargo (nesina) .....	9
Goma .....	18
Tanino .....	15
Sales minerales .....	5
Esqueleto vegetal .....	<u>27</u>
	100

Nesina.- Se considera como un principio amargo y se presenta en forma de pequeñas láminas, incoloras, brillantes, -- inodoras, de un sabor muy amargo, soluble en el alcohol, --- éter, cloroformo; se combina con los ácidos y forma sales solubles en el agua.

a) Con el ácido sulfúrico concentrado, se produce un color castaño, que pasa poco a poco al violeta y éste desaparece al adicionar una pequeña cantidad de agua.

b) Al adicionarle ácido nítrico, se forma una coloración amarillo naranja.

c) Al reaccionar con el ácido clorhídrico da una colora

ción amarillo claro.

d) Cuando se le adiciona cloruro de platino forma un precipitado anaranjado.

e) Al adicionarle cloruro de oro, no precipita inmediatamente; pero después de algún tiempo se le observa un precipitado de color amarillo claro.

Tanino.- Es un polvo de color amarillo haba, inodoro, de sabor astringente, muy soluble en el agua y pertenece al segundo grupo en el cual se encuentran los taninos. Se puede identificar por que al reaccionar con las sales de fierro produce una coloración negro verdoso.

Goma.- Existe en gran cantidad en la planta y le comunica sus propiedades emolientes. Es un sólido de color amarillo, incristalizable, de sabor también astringente y amargo probablemente debido a la resina o al tanino. Es soluble en el agua y le comunica una consistencia mucilaginosa considerable.(26).

Raíz.- El análisis químico de la raíz se llevó a cabo partiendo de 5 g de muestra, secada previamente al aire y pulverizada se transfiere a un recipiente de vidrio se le adiciona agua destilada y se coloca en un B.M. para efectuar la extracción, después se enfría y se filtra.

El filtrado presentó las siguientes características:

a) Reacción: ácida al papel tornasol.

b) Color: rojizo amarillento.

c) Sabor: Es ligeramente astringente, casi agradable.

d) Con el cloruro férrico: se forma un precipitado azul oscuro.

e) Con bicromato de potasio: se produce una coloración pardo oscura.

f) Con acetato de plomo: se obtiene un precipitado bastante abundante, quedando el líquido casi incoloro.

g) Agitando la sustancia: se forma una espuma que desaparece en seguida.

h) Con el reactivo de Fehling: se observó una sensible

reducción en caliente.

- i) Humedad: 11% determinada a 100° hasta peso constante
- j) Cenizas: 6.2% por incineración hasta obtención de - cenizas blancas (2).

## V.- PRINCIPIOS ACTIVOS

Los estudios fitoquímicos han sido pocos y el trabajo - no ha sido directo tocante a la separación de constituyentes fisiológicos activos.

En los primeros informes de estudios obtenidos sobre esta planta encontramos los siguientes: Baldini (2) en 1929 in forma en "Contribución al estudio de la Heimia salicifolia" ausencia de alcaloides lo mismo que Calderón (6) en su tesis "Estudio sobre el arbusto llamado sinicuiche" y sólo exponen que la planta contiene: principios amargos, clorofila, materia grasa, resina soluble en éter, resina soluble en alcohol, tanino, materia colorante amarillo rojiza, materia extractiva, goma, almidón, glucosa, huellas de aceite esencial y las sales usuales encontradas en las plantas como son: potasa, - sosa, cal, magnesio, fierro y ácidos carbónico, sulfúrico, - clorhídrico, fosfórico y silícico. Wehmer citado en (5) documenta en su informe presencia de un principio amargo, al cual llamó nesina.

La primera noticia de la presencia de alcaloides en la Heimia salicifolia data de 1958. La existencia de ellos en - la planta fue notada en extractos de muestras cultivadas de semillas obtenidas en los jardines medicinales de Chelsea, - Inglaterra; desarrolladas en el jardín de plantas medicina-- les de la Universidad de Connecticut, Storrs. Estudios más - amplios efectuados por Arthur E. Schwarting, Ralph N. Blomster y James M. Bobbitt (5) confirmaron su presencia al ais-- lar y determinar cinco alcaloides los cuales son: litrina, - criogenina, sinicuichina heimina, sinina, en muestras obteni das por S.B. Penick Company, New York, colectadas cerca de - Valle de Bravo, México.

En otro estudio efectuado en el mismo mes y año por B. Douglas, J.L. Kirkpatrick, R.F. Raffauf, O. Ribeiro y J.A. - Weisbach (7) para averiguar las diferencias químicas que --- existen entre las distintas especies y de muestras colecta--

das en áreas muy separadas de los Continentes Americanos. En esta investigación fueron empleadas las plantas: *Heimia myrtifolia* cosechada en el estado de Paraná en el suroeste de Brasil y *Heimia salicifolia* colectada en el estado de San Luis Potosí, México, durante julio-septiembre de 1960-1962. Logrando separar de ambas plantas dos alcaloides: la litrina y la criogenina, un tercer alcaloide la litridina sólo se aisló de todas las muestras de la *Heimia myrtifolia* (7).

En 1958 Hegnauer y Herfst citado en (5) empleando métodos histoquímicos y microquímicos encontraron en la planta - mucilago, compuestos polifenólicos y alcaloides. Se tiene noticia también que la presencia de los alcaloides fue demostrada por Webb citado en (5) y este dato fue relatado en 1961 por Willaman y Schubert citado en (5). Alas citado en (5) sólo hace relato de un alcaloide  $C_{12}H_{16}O_4$ .

Dos alcaloides más, Nesodina y Lifolina, fueron aislados de la *Heimia salicifolia* en el año de 1965 por Appel y colaboradores (1). Estos investigadores por los estudios que efectuaron encontraron que la nesodina es un isómero de la litrina, criogenina y sinicuichina.

El-Olemy, M.M. y S.J. Stohs del colegio de Farmacia de la Universidad de Nebraska y Arthur E. Schwarting (9) de la Escuela de Farmacia de la Universidad de Connecticut, Storrs en el año de 1971 aislaron de la planta la Heimidina. Finalmente en el año de 1973, Hörhammer, R.B., Arthur E. Schwarting y J.M. Edwards (13) aislaron y determinaron las estructuras de la Anelisina y la Abresolina.

Por los datos obtenidos podemos resumir que los alcaloides aislados de la *Heimia salicifolia* son todos compuestos mononitrogenados que exhiben una función carbonilo al infrarrojo a 5.8 - 5.9  $\mu$  y que contienen cinco a seis oxígenos.

## VI.- SEPARACION DE LOS ALCALOIDES

La separación y purificación de los cinco alcaloides de la *Heimia salicifolia* Link & Otto se llevó a cabo por Ralph N. Blomster, Arthur E. Schwarting y James M. Bobbitt (5) en los laboratorios de Investigación de Farmacia y Departamento de Química de la Universidad de Connecticut, Storrs. En muestras obtenidas por S.B. Penick Company, New York y colectadas cerca del Valle de Bravo, México.

Extracción.- Partieron de veinte libras de la planta se ca previamente la desengrasaron con éter de petróleo luego la secaron al aire y extrajeron continuamente con metanol absoluto hasta que en los extractos obtenidos de negativa la prueba para alcaloides con el reactivo modificado de Dragendorff ó con el de Mayer. Los extractos metanólicos los concentraron al vacío a 40° y adicionaron intermitentemente agua destilada hasta que quedaron libres de metanol. La solución acuosa la acidificaron a pH 2 con solución de ácido clorhídrico al 10% y la filtraron con ayuda de Celita, el precipitado que obtuvieron lo lavaron con agua destilada y el filtrado ácido-acuoso lo desengrasaron en un extractor continuo empleando éter etílico, en seguida ajustaron el pH de la solución a 9 con una solución de hidróxido de amonio al 28% y finalmente extrajeron ésta continuamente con cloroformo. Los extractos cloroformicos los secaron al vacío a 40°; Rendimiento 170 g (1.87%).

El extracto, disuelto en cloroformo lo absorbieron en alúmina básica (ca. 500 g) la secaron y la pusieron en la parte superior de una columna (7 x 110 cm) de alúmina básica (Woelm actividad grado I). En la elusión emplearon dos diferentes eluentes los cuales fueron colectados en tres fracciones: En la fracción I emplearon 2 litros de eluyente metanol-cloroformo (1:1) los cuales fueron secados al vacío y subsecuentemente fueron empleados para separar los alcaloides.

Los sólidos que obtuvieron en esta fracción (80 g) los

disolvieron en metanol absoluto caliente y enfriaron, de este procedimiento obtuvieron un precipitado blanco cristalino -- compuesto por los dos principales alcaloides: la litrina y la criogenina. La solución madre la evaporaron con la ayuda de una corriente de aire hasta la mitad de su volumen original y enfriaron esto produjo la formación de una pequeña cantidad de cristales. La solución madre la adicionaron a la -- fracción II.

SEPARACION DE LA LITRINA.- La mezcla de cristales blancos obtenida de la fracción I la disolvieron en un mínimo volumen de metanol caliente y enfriaron, como resultado de este tratamiento obtuvieron un precipitado formado por cristales blancos-amarillentos de litrina. La solución madre la -- concentraron con ayuda de una corriente de aire hasta la mitad de su volumen original y enfriaron, otra vez se obtuvieron cristales. Este procedimiento lo repitieron hasta que la cristalización fue completa. La litrina cruda que obtuvieron la recrystalizaron en metanol dos veces. Rendimiento 5 g --- (0.055%). Características Físicas en la página 25.

SEPARACION DE LA CRIOGENINA.- Para la separación de este alcaloide se partió de la solución madre obtenida en la -- cristalización de la litrina, la cual secaron a 40° con ayuda del vacío, el residuo lo disolvieron en cloroformo caliente y lo enfriaron hasta producir un precipitado blanco esponjoso. La solución madre fue reducida hasta la mitad de su volumen original evaporándola con corriente de aire luego la -- enfriaron y obtuvieron como resultado de este procedimiento la precipitación del alcaloide. Este procedimiento se llevó a cabo cuantas veces fue necesario hasta que la precipita---ción de la criogenina fue completa.

También emplearon las fracciones IIA y IIB para separar la criogenina obtenidas de la fracción II, las secaron cada una por separado al vacío a 40° y los residuos los disolvieron también por separado empleando un mínimo volumen de ace-

tato de etilo caliente luego enfriaron y obtuvieron cristales blancos de criogenina, el proceso lo repitieron hasta cristalización completa del alcaloide. Todos los cristales obtenidos de criogenina en los procedimientos anteriormente descritos los mezclaron y los recrystalizaron en acetato de etilo repitiendo el procedimiento tres veces. Rendimiento 18.1 g (0.199%). Características Físicas en la página 30.

La fracción II consta de los siguientes nueve litros del eluente cloroformo-metanol (1:1) además le adicionaron la solución madre restante de la fracción I y la evaporaron al vacío, los cristales que obtuvieron los disolvieron en cloroformo caliente. La solución la absorbieron en alúmina básica Woelm, actividad grado I efectuando la primera elusión con cloroformo-benceno (1:3) produciendo la fracción IIA, luego eluyeron con una mezcla de cloroformo-benceno (1:3) produciendo la fracción IIB, ésta fue seguida por una elusión con cloroformo produciendo la fracción IIC y finalmente continuaron la elusión con metanol hasta que al probar el eluente con el reactivo de Dragendorff de la prueba negativa, este último eluente lo designaron como fracción IID.

SEPARACION DE LA SINICUICHINA.- La separación de la sinicuichina la llevaron a cabo partiendo de las fracciones IIA y IIB empleadas en la separación de la criogenina, estas dos soluciones las mezclaron y secaron al vacío a 40°. El residuo que obtuvieron lo disolvieron en cloroformo y lo absorbieron en alúmina neutra, la secaron y la colocaron en la superficie de una columna (7x10 cm) de alúmina neutra Woelm, actividad grado I, empleando como eluente el acetato de etilo. Todo el eluente lo evaporaron al vacío a temperatura de 40° y el residuo obtenido lo disolvieron en un mínimo volumen de acetato de etilo caliente, enfriaron como en los casos anteriores precipitando así la sinicuichina. El procedimiento lo repitieron hasta que la solución madre ya no produce más cristales del alcaloide. Para purificar la sinicuichina la recrystalizaron cuatro veces en acetato de etilo y obtuvie--



ron un producto blanco cristalino. Rendimiento 385 mg ----- (0.0042%). Características Físicas en la página 35.

SEPARACION DE LA HEIMINA.- Emplearon la columna utilizada para la separación de la sinicuichina, solamente que en este caso utilizaron para eluirla acetato de etilo-metanol - (95:5) el eluyente lo colectaron totalmente y secaron al vacío a una temperatura de 40°, el residuo que obtuvieron lo disolvieron utilizando un mínimo volumen de acetato de etilo caliente y enfriaron, resultando de este procedimiento la formación de un precipitado blanco gelatinoso de heimina.

La solución madre de la heimina y sinicuichina las mezclaron y evaporaron a sequedad con ayuda del vacío a temperatura de 40°, al residuo le añadieron la heimina cruda y cristalizaron en acetato de etilo. Este proceso de cristalización lo repitieron cuantas veces fue necesario hasta que la cristalización de la heimina fue completa. Todo el alcaloide crudo que obtuvieron lo recrystalizaron dos veces en acetato de etilo. Rendimiento 120 mg (0.0013%). Características Físicas en la página 37.

SEPARACION DE LA SININA.- Para esta separación se partió de la fracción IIC la cual secaron al vacío a 40°. El residuo lo disolvieron utilizando un mínimo volumen de cloroformo caliente luego enfriaron, se formó un precipitado amorfo de sinina, el procedimiento lo repitieron hasta que la solución ya no produjo más cristales del alcaloide. La sinina la recrystalizaron dos veces en acetato de etilo. Rendimiento 215 mg (0.0023%). Características Físicas en la página 38.

Todas las fracciones las sometieron análisis para saber el contenido de alcaloides mediante la cromatografía en capa fina.

Se tiene conocimiento de otra separación de alcaloides la cual fue efectuada por B. Douglas, J.L. Kirkpatrick, R.F. Raffauf, O. Ribeiro y J.A. Weisbach (7) de la División de Investigación y Desarrollo de los Laboratorios Smith Kline --

and French, Filadelfia 1, Pa. En un trabajo para averiguar - la composición química entre la especie *Heimia salicifolia* y la variante de la especie que es la *Heimia myrtifolia*, colectada en áreas ampliamente separadas de los continentes.

Los materiales usados en esta investigación fueron las plantas: *Heimia salicifolia* colectada en el estado de San Luis Potosí, México y *Heimia myrtifolia* en el estado de Paraná en el suroeste de Brasil durante los meses de julio-septiembre de 1960-1962. Se logró separar de ambas plantas dos alcaloides: la litrina y la criogenina. La litridina fue aislada únicamente de la *Heimia myrtifolia*.

SEPARACION DE LOS ALCALOIDES LITRINA Y CRIOGENINA.- Se emplearon 14.5 Kg de la planta seca, la cual pulverizaron y extrajeron continuamente con una mezcla de etanol-metanol - caliente (10:1) hasta que la prueba para alcaloides con el reactivo de Mayer dió negativa. El extracto que obtuvieron - lo concentraron hasta consistencia de jarabe y el disolvente residual lo eliminaron con corriente de aire a 25°.

El residuo lo trataron con ácido tartárico al 2% (6x2 l) lo enfriaron a 25° y filtraron con Celita. Con el objeto de liberar completamente del residuo insoluble a los alcaloides fue necesario emplear condiciones más drásticas, por lo que aplicaron (3x2.5 l) de una mezcla de ácido fosfórico 0.2 M y acetato de etilo (3:2). La mezcla heterogénea resultante la agitaron y calentaron a 80° hasta eliminar completamente el disolvente orgánico, la enfriaron y filtraron con Celita.

Los extractos ácidos los mezclaron luego los alcalinizaron a pH 8 con amoníaco concentrado y la mezcla resultante - se extrajo con cloroformo. La capa cloroformica la lavaron - con solución saturada de cloruro de sodio y la secaron sobre sulfato de sodio.

Al eliminar el disolvente al vacío se formó una espuma verde pálido la cual disolvieron en 500 ml de ácido acético y la vertieron con agitación vigorosa a una solución fría de ácido sulfúrico al 10% (4.2 l) la filtraron y efectuaron ex-

tracciones con éter etílico (3x1 l).

La capa acuosa la alcalinizaron con solución de hidróxido de amonio a pH 8 y extrajeron con cloroformo, la solución clorofórmica la lavaron con solución saturada de cloruro de sodio y la concentraron al vacío apareciendo una cristalización parcial que al filtrar produjo un sólido blanco (9.5 g) y que al eliminar el disolvente residual produjo una resina alcaloide espumosa de color café (58 g). La separación de ambas fracciones usando el procedimiento que se describe a continuación no revelaron diferencias en la composición de alcaloides.

El material espumoso (58 g) se disolvió en cloroformo y se cromatografió sobre una columna de 4 pulgadas de diámetro empleando 1600 g de florisil de tamaño de partícula de 100 a 200 mayas y empacada en seco. Colectaron fracciones de 500 a 1000 ml controlando el volumen y precipitando el alcaloide por evaporación con ayuda del vacío. Para su cristalización se mezclaron los residuos de varias fracciones. Tabla 1

Eluente	No. de fracciones.	Volumen total (lts.)	Producto (g)	
			cristalino.	Amorfo
Cloroformo-metanol (95:5)	15	15	17.44	2.91
Cloroformo-metanol (90:10)	13	6.5	3.06	2.15
Cloroformo-metanol (70:30)	8	8	12.68	----
Cloroformo-metanol (25:75)	4	4	5.42	8.26
Metanol	1	4	-----	2.49

LITRINA.- El eluato inicial lo cristalizaron directamente, les produjo un sólo alcaloide la litrina. Para purificar la efectuaron sucesivas recristalizaciones primero en cloroformo-metanol y luego en cloruro de metileno-éter de petróleo, este procedimiento les produjo una muestra analítica --

constituida por agujas finas de color blanco. Características Físicas en la página 25.

CRIOGENINA.- Al emplear como eluato cloroformo-metanol liberó un segundo alcaloide, la criogenina. La cristalización la llevaron a cabo empleando primero cloroformo-metanol y luego con cloruro de metileno-éter de petróleo, produciendo una muestra analítica compuesta por agujas finas de color blanco. Características Físicas en la página 30.

El análisis de estos dos alcaloides lo efectuaron por cromatografía en capa fina y cromatografía en capa fina bidimensional.

Cromatografía en Capa Fina.- Utilizaron placas de vidrio (50x200 mm) con gel de sílice G.

Preparación de las Placas.- Las placas las prepararon aplicándoles una capa de 250  $\mu$  de espesor de una suspensión formada por 50 g de gel de sílice G y 120 ml de agua, activándolas durante 2 h. a 110°.

Preparación y Aplicación de las Muestras.- En una sola placa aplicaron 60  $\mu$ g de la muestra disuelta en acetona-agua y 21  $\mu$ g de clorpromazina disueltos en acetona-hidróxido de amonio-agua, las cromatografiaron empleando como fase líquida una mezcla de cloroformo-metanol (9:1). Las placas las sacaron cuando el disolvente avanzó 10 cm, las secaron con aire y las rociaron con el reactivo de ácido yodoplatínico; los alcaloides y la clorpromazina aparecieron con manchas de color púrpura y azules respectivamente. Cada alcaloide fue cromatografiado siete veces.

Cromatografía en Capa Fina Bidimensional.- Las placas de vidrio que emplearon en este procedimiento las prepararon como se describió en la cromatografía en capa fina.

Aplicación de las muestras.- En este caso se aplicaron 2 muestras, una de 20 y otra de 100  $\mu$ g en placas separadas y cromatografiadas en la misma forma. En ambos casos se observaron las dos manchas encontradas en el método de cromatografía en capa fina. Si estas mismas placas se corren en un se-

gunda dimensión, en la placa de 20 µg las dos manchas corrieron al mismo  $R_F$ \* (al mayor de los dos valores); el mayor  $R_F$  de los 100 µg ahora corrió como una sola mancha al mayor  $R_F$ , mientras que el valor más bajo del  $R_F$  la mancha corrió como en la original placa como dos manchas con las características y valores descritos. Una explicación racional para estos fenómenos es la transformación sobre la placa combinando de un bajo a un alto  $R_F$ .

Este material se sometió a distribución en contra corriente (30 tubos) empleando un sistema de ácido clorhídrico 0.1N-benceno-cloroformo (2:1:1) lo cual confirmó los resultados de la cromatografía bidimensional de que sólo era una sustancia.

SEPARACION DE NESODINA Y LIFOLINA.- La extracción de la planta la efectuaron en la misma forma que se describió al principio de este capítulo, partiendo de 14.4 Kg de la planta seca produjo 218.5 g (1.49%) de una mezcla cruda de alcaloides. La cristalización del producto en cloroformo produjo 19.35 g de criogenina.

La solución madre fue absorbida en 500 g de alúmina básica y secada se colocó sobre una columna que contiene 2000 g de alúmina básica Woelm, actividad grado I. La primera elusión la hicieron con 500 ml de cloroformo, luego con 3500 ml de cloroformo-metanol 2:1 y finalmente con 17 l de metanol, pero la mezcla no se separó apreciablemente.

Los eluatos mezclados y concentrados los absorbieron en 300 g de alúmina básica, la mezcla la secaron y pusieron sobre una columna de 2000 g de alúmina básica Woelm, actividad grado I. La elusión la efectuaron con 12 l de cloroformo produciendo la fracción I, en seguida con 100 ml de cloroformo-metanol 2:1 dando la fracción II y por último con 16 l de metanol dando la fracción III.

---

\* $R_F$  se define como la relación entre el  $R_F$  del alcaloide /  $R_F$  de la clorpromazina (7).

La fracción I (75.4 g) al concentrarla dió una segunda cantidad de criogenina (36.9 g). La solución madre la seccionaron y cristalizaron en fracciones en cloruro de metileno dió 8.1 g de nesodina (0.055%) junto con pequeñas cantidades de litrina 1.0 g. La fracción III está compuesta principalmente de lifolina y la purificaron por medio de varias recristalizaciones en benceno dando 26.7 g (0.18%). El contenido de alcaloides en cada fracción lo determinaron por cromatografía en capa fina empleando para revelar el reactivo modificado de Dragendorff. Características Físicas en las páginas 40 y 42.

SEPARACION DE LA HEIMIDINA.- La separación de este alcaloide la efectuaron El-Olemy, M.M., S.J. Stohs y Arthur E. - Schwarting (9) en el año de 1971. Siguiendo el procedimiento de extracción original obtuvieron una mezcla cruda de alcaloides (85 g) la cual fue tratada con 350 ml de metanol a ebullición, la mezcla la llevaron a ebullición y filtraron, por medio del cual obtuvieron 35 g de un material insoluble.

La porción insoluble en metanol la trataron con 250 ml de cloroformo, la llevaron a ebullición y la filtraron, obtuvieron 10.2 g de material insoluble en cloroformo. El cloroformo después de haberlo filtrado lo concentraron y lo absorbieron sobre 70 g de alúmina neutra Merck actividad grado I. La elusión la efectuaron primero con 1000 ml de benceno, en seguida con 2000 ml de una solución al 4% de etanol en benceno, después con 1000 ml de cloroformo y finalmente con 1000 ml de cloroformo-metanol 1:1

La heimidina la obtuvieron en las fracciones 171-183 -- junto con pequeñas cantidades de criogenina. Las fracciones las mezclaron y evaporaron a sequedad a 40°, el residuo lo cristalizaron dos veces en cloroformo produciendo 150 mg de heimidina. Para saber el contenido de alcaloides fueron analizadas cada una de las fracciones por cromatografía en capa fina sistema A. Características Físicas en la página 44.

## VII.- IDENTIFICACION DE LOS ALCALOIDES

Los estudios efectuados por Ralph N. Blomster, Arthur - E. Schwarting y James M. Bobbitt (5) demostraron que los - alcaloides, lo mismo que sus derivados, pueden ser identifi- cados por medio de: su punto de fusión, rotación óptica, ab- sorción en el ultravioleta, absorción infrarroja, cromatogra- fía en capa fina, cromatografía bidimensional y poder de di- fracción a los rayos X.(7).

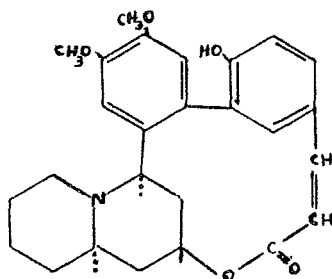
Todas estas pruebas fueron hechas bajo ciertas condicio- nes y utilizando determinado equipo. Así tenemos, que los -- puntos de fusión se determinaron al vacío en un aparato de - Thomas Hoover. Para obtener el espectro de absorción en el - infrarrojo se emplearon pastillas de bromuro de potasio y - un espectrofotómetro Infracord, o bien, un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 21. El espectro de absorción en el ultra violeta se determinó en un espectrofotómetro Cary modelo 14 con registrador.

### LITRINA

La litrina base se obtiene en forma de agujas blancas, con P.M. = 435.53 y p.f. 241-243<sup>o</sup>; la rotación específica es  $[\alpha]_D^{25} +32.5$  (5,19).

Fórmula Condensada:  $C_{26}H_{29}NO_5$  (19)

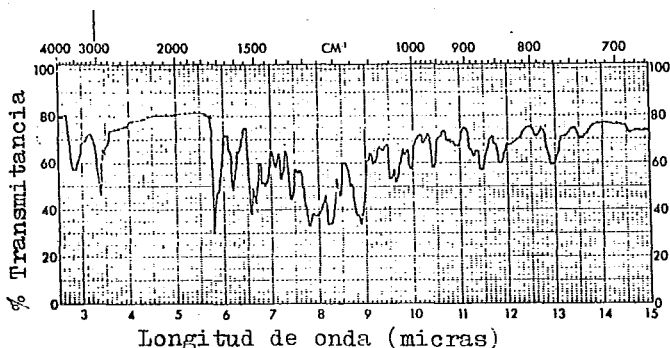
Fórmula Desarrollada: (10,25).



Análisis:  $C_{24}H_{23}NO_3(O-CH_3)_2$ ; calculado: C, 71.70;  
H, 6.71; N, 3.22; O- $CH_3$ , 14.25

Encontrado: C, 72.23; H, 6.96; N, 3.24; O- $CH_3$ , 14.47;  
(N)- $CH_3$ , 0.00

Espectro de Absorción en el Infrarrojo.- La absorción - en el espectro infrarrojo exhibe entre otras la presencia de bandas a  $3500\text{ cm}^{-1}$  para grupos OH ó N-H, a  $1720\text{ cm}^{-1}$  grupos carbonilo, a  $1605\text{ cm}^{-1}$  y  $1510\text{ cm}^{-1}$  indica la absorción del anillo aromático; ver Gráfica 1



Gráfica 1.- Espectro de Absorción Infrarroja de la Litrina.

Espectro de Absorción en el Ultravioleta.- El espectro de absorción en el ultravioleta de la litrina a una concentración de 0.00152% en etanol da:  $\lambda_{\text{max}}$  a 285 m $\mu$  ( $\log \epsilon$  4.14) a 260 m $\mu$  (4.04). Cuando se adiciona una solución de hidróxido de sodio (diluyendo 1 gota de NaOH 1N en 2 ml de agua) -- origina la absorción que produce el punto máximo a 327.5 m $\mu$  con una inflexión a 260 m $\mu$ .

Datos de Difracción de Rayos X (polvo): (agujas de  $CH_2Cl_2$  éter de petróleo); d, A, 10.10,  $I/I_1$ , 75; 9.00, 75; 8.30, 45; 6.70, 65; 6.20, 45; 5.79, 100; 4.60, 95; 4.20, 90; 4.10, 90;



3.85, 65; 3.70, 50; (7).

Cromatografía en Capa Fina.- Cuando se emplea como adsorbente alúmina G, el valor para los  $R_f$  fueron:  $R_f$  0.83, empleando como eluente benceno-etanol (9:1);  $R_f$  0.95, con cloroformo-n-butanol (20:1);  $R_f$  0.76, con benceno-metanol (19:1);  $R_f$  0.82, con isopropanol.

En caso de emplear gel de sílice G:  $R_f$  0.90, utilizando como eluente etanol-hidróxido de amonio (9:1);  $R_f$  0.47, con etanol;  $R_f$  0.76, con metanol.

Cromatografía en Capa Fina Bidimensional.- El  $R_{cp}^4 = 2.01 \pm 0.09$

Para la determinación cualitativa del grupo dioximetileno se empleó el método de Stamm y colaboradores citado en (5) dando la prueba negativa.

#### COMPUESTOS DE LA LITRINA

CLORHIDRATO DE LITRINA.- El clorhidrato de litrina se preparó solubilizando la base en cloroformo, saturando con ácido clorhídrico y diluyendo con éter, o bien, pasando ácido clorhídrico a través de una solución de metanol-éter etílico en donde previamente se ha solubilizado la base. El precipitado obtenido se recristaliza en metanol, obteniendo una muestra analítica en forma de prismas blancos con p.f. de -- 325-331° con descomposición.

Análisis:  $C_{26}H_{30}ClNO_5$ ; calculado: C, 66.1; H, 6.4; N, 3;

Encontrado: C, 66.1; H, 6.4; N, 2.9

Reducción del Alcaloide.- Por dos procedimientos puede efectuarse: reduciendo el alcaloide a 20° en etanol en un aparato de microhidrogenación a presión atmosférica con paladio sobre carbón como catalizador. La mezcla reaccionante se filtra y el filtrado se evapora en corriente de aire reduciéndose hasta la mitad del volumen original. Los cristales obtenidos funden a 230-231.5°. La litrina absorbe una molécula

la de hidrógeno.

También puede efectuarse la reducción en ácido acético a 20° a presión atmosférica y con óxido de platino como catalizador. Los resultados demostraron que la litrina tomada en este otro procedimiento también es equivalente a una molécula de hidrógeno.

Espectro de Absorción en el ultravioleta.- La litrina reducida ofrece un espectro de absorción en el ultravioleta a una concentración de 0.003% en etanol. Les dió  $\lambda_{\max}$  a 294 m $\mu$  y el valor para el  $\log \epsilon = 3.88$  con una inflexión a 250 m $\mu$ . Sin embargo, si se adiciona una solución de hidróxido de sodio produce un cambio en el espectro de absorción con la producción del valor máximo 317.5 a 294 m $\mu$ .

Espectro de Absorción en el Infrarrojo.- El espectro de absorción infrarroja de la litrina reducida no muestra cambios en las bandas del grupo carbonilo a 1720 cm<sup>-1</sup>, el oxidrilo en bandas de 3500 cm<sup>-1</sup>, pero si se exhiben cambios muy notorios en las bandas comprendidas entre 1650 y 1175 cm<sup>-1</sup>.

ACETATO DE LITRINA.- Se obtiene tratando la litrina con anhídrido acético y piridina, dando un producto que recristalizado funde entre 172 y 173°; la rotación específica es  $[\alpha]_D^{25} +33.1$

Las bandas en el infrarrojo empleando Nujol caliente fueron: 5.59, 5.87  $\mu$  (7).

ESTIFNATO DE LITRINA.- Se obtiene a partir de una solución saturada de ácido estífnico en etanol, adicionándose a igual volumen de una solución de litrina disuelta en etanol. La mezcla se calienta a ebullición en un baño de vapor y luego se enfría. Los cristales obtenidos se separan por filtración y se recristalizan dos veces en etanol. El estifnato de litrina que se obtiene funde entre 268-269.5°

Análisis: C<sub>32</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>13</sub>; calculado: C, 56.47; H, 4.74; N, 8.23

Encontrado: C, 56.85; H, 4.98; N, 8.06

METILATO DE LITRINA.- La metilación se llevó a cabo disolviendo la litrina en metanol y haciéndola reaccionar con una solución etérea de diazometano, esta última fue preparada de acuerdo con el método de Blatt citado en (5). La mezcla reaccionante se deja reposar durante la noche en frío, - después se calienta suavemente a ebullición hasta evaporar - completamente el diazometano y se filtra, se evapora hasta - la mitad de su volumen original con ayuda de una corriente - de aire y se enfría. Los cristales obtenidos fueron recrista - lizados dos veces en etanol absoluto. Funde entre  $239.5-241^{\circ}$ .

Espectro de Absorción en el Infrarrojo.- El espectro de absorción en el infrarrojo muestra una reducción significati - va de la absorción a  $3500\text{ cm}^{-1}$  lo cual indica la desaparici - ón del grupo oxidrilo; en Nujol la banda estuvo ausente y se presenta un cambio a una baja frecuencia en las bandas de absorción entre  $1700$  y  $1150\text{ cm}^{-1}$ .

Espectro de Absorción en el Ultravioleta.- El espectro de absorción en el ultravioleta a una concentración de ----  $0.0014\%$  en etanol da  $\lambda_{\text{max}}$  a  $280\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4.23$ ). La adi - ción de hidróxido de sodio en solución no causa cambios en - el máximo.

METILATO DE LITRINA REDUCIDA.- La litrina reducida fue metilada en la misma forma que el metilato de litrina. El -- compuesto obtenido dió un p.f. comprendido entre  $173-174^{\circ}$ .

Análisis:  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{NO}_2(\text{O}-\text{CH}_3)_3$ ; calculado: C, 71.82; H, 7.37; N, 3.10;  $\text{O}-\text{CH}_3$ , 20.60

Encontrado: C, 71.40; H, 7.48; N, 3.11;  $\text{O}-\text{CH}_3$ , 20.11

TITULACION DE LA LACTONA DE LA LITRINA.- La litrina se trata con solución alcohólica de hidróxido de potasio  $0.491\text{ N}$  a  $40^{\circ}$  durante setenta y dos horas, al cabo de las cuales - se titula con ácido clorhídrico  $0.25\text{ N}$ . La solución se acidifi - ca a  $\text{pH } 2$  con ácido clorhídrico  $1\text{ N}$  y luego se alcaliniza a

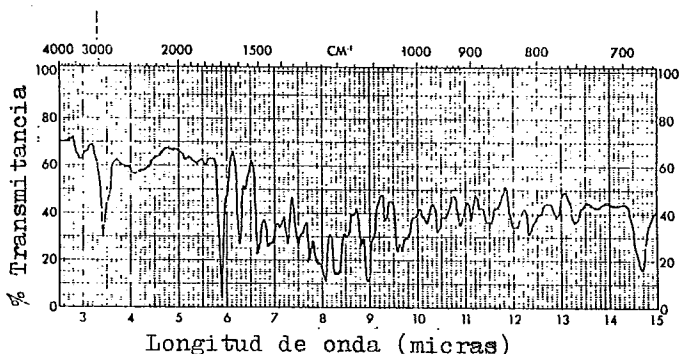


Análisis:  $C_{24}H_{23}NO_3(O-CH_3)_2$ ; calculado: C, 71.70;  
H, 6.71; N, 3.22; O- $CH_3$ , 14.52

Encontrado: C, 71.16; H, 6.87; N, 3.17; O- $CH_3$ , 14.24;  
(N)- $CH_3$  0.00

Espectro de Absorción en el Infrarrojo.- El espectro de absorción en el infrarrojo muestra entre otras la presencia de bandas a  $3500\text{ cm}^{-1}$  para grupos OH ó N-H, a  $1720\text{ cm}^{-1}$  grupos carbonilo y dos bandas a  $1605$  y  $1510\text{ cm}^{-1}$  que nos indica la absorción del anillo aromático: ver Gráfica 2

Espectro de Absorción en el Ultravioleta.- El espectro de absorción en el ultravioleta a una concentración de 0.001% da  $\lambda_{\text{max}}$  a 285 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4.17$ ) a 260 m $\mu$  (4.08). La adición de solución de hidróxido de sodio causa un cambio en la absorción del punto máximo a 323 m $\mu$  con una inflexión a 250 m $\mu$



Gráfica 2.- Espectro de Absorción en el Infrarrojo de la Criogenina.

Cromatografía en Capa Fina.- Utilizando como adsorbente alúmina G se obtiene:  $R_f$  0.46, empleando como eluente benceno-etanol (9:1);  $R_f$  0.88, con cloroformo-n-butanol (20:1); -  $R_f$  0.44, con benceno-metanol (19:1);  $R_f$  0.74, con isoprop--nol.

En caso de usar como adsorbente gel de sílice G:  $R_f$  ---

0.81, con eluente etanol-NH<sub>4</sub>OH (9:1); R<sub>F</sub> 0.15, con etanol; - R<sub>F</sub> 0.23, con metanol.

La determinación cualitativa del grupo dioximetilen se hizo empleando el método de Stamm y colaboradores citado en (5) dando la prueba negativa.

Aparentemente la criogenina no forma ningún derivado en la forma usual, al tratar el grupo carbonilo con los reactivos de dinitrofenilhidrazina, clorhidrato de hidroxilamina y clorhidrato de semicarbazida.

#### COMPUESTOS DE LA CRIOGENINA

ACETILCRIOGENINA.- El p.f. de este compuesto es de 186 a 187°; la rotación óptica es:  $[\alpha]_D^{25} -28.7$

DIHIDROCRIOGENINA.- Su p.f. es de 214.5-216°; la rotación óptica es:  $[\alpha]_D^{25} -160$ . Ferris citado en (5) la describe como dihidrovertina con p.f. de 223-224° y da un valor para la rotación óptica de:  $[\alpha]_D^{25} -145$

ACETILDIHIDROCRIOGENINA.- Funde entre 197-198°; la rotación específica es:  $[\alpha]_D^{25} -193$ . La describe Ferris citado en (5) como acetildihidrovertina con p.f. de 202-203°; la rotación óptica es:  $[\alpha]_D^{25} -188$

CLORHIDRATO DE CRIOGENINA.- El clorhidrato de criogenina es preparado en la misma forma que se preparó el clorhidrato de litrina, recristalizándose en metanol. El producto da un p.f. de 322-323°.

REDUCCION DEL ALCALOIDE.- La reducción del alcaloide se llevó a cabo a 20° en etanol en un aparato microhidrogenador a presión atmosférica con paladio sobre carbón como catalizador. La mezcla resultante se filtra y se reduce a la mitad de su volumen original con ayuda de una corriente de aire. - La criogenina reducida es cristalizada en frío y recristalizada dos veces en etanol, el producto obtenido debe fundir -

de 214.5-216°. La criogenina tomada es equivalente a una molécula de hidrógeno.

También se puede efectuar la reducción de la criogenina en ácido acético a 20° a presión atmosférica con óxido de platino como catalizador. Los resultados en este caso también fueron: la criogenina tomada es equivalente a una molécula de hidrógeno.

Espectro de absorción en el Ultravioleta.- El espectro de absorción en el ultravioleta de la criogenina reducida a una concentración de 0.002% en etanol da  $\lambda_{\max}$  a 293 m $\mu$  y un valor para el  $\log \epsilon = 3.88$  con una inflexión a 250 m $\mu$ . Causa un cambio en la absorción al espectro la adición de una solución de hidróxido de sodio con la producción del valor máximo de 317.5 a 295 m $\mu$ .

Espectro de Absorción en el Infrarrojo.- El espectro de absorción en el infrarrojo de la criogenina reducida no muestra cambios en el grupo oxidrilo en la banda a 3500  $\text{cm}^{-1}$ . Hubo un cambio en el grupo carbonilo variando la banda desde 1720 hasta 1735  $\text{cm}^{-1}$  y la principal diferencia fue exhibida en la absorción entre 1650 y 800  $\text{cm}^{-1}$ .

METIOYODURO DE CRIOGENINA.- Este compuesto se prepara mezclando igual volumen de solución de yoduro de metilo a una solución de criogenina en benceno, la mezcla es calentada a ebullición en un baño de vapor y después se enfría. Los cristales obtenidos se separan y recristalizan dos veces disolviéndolos en etanol luego se adiciona benceno y se destila en el mismo baño de vapor con la intermitente adición de benceno hasta reducir el volumen de etanol. El metioyoduro de criogenina obtenido de esta manera tiene un p.f. 214.5 a 217°.

Análisis:  $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{NO}_5(\text{CH}_3)\text{I}$ ; calculado: C, 56.16; H, 5.59; N, 2.43; I, 21.98; O- $\text{CH}_3$ , 10.95; (N)- $\text{CH}_3$ , 2.60

Encontrado: C, 55.37; H, 5.67; N, 2.50; I, 22.01; O- $\text{CH}_3$ ,

10.90; (N)-CH<sub>3</sub>, 2.43

METILATO DE CRIOGENINA.- La criogenina se disuelve en metanol y se adiciona a una solución etérea de diazometano preparada según el método de Blatt citado en (5) la mezcla se seca al vacío a 40° y el residuo se cristaliza en acetato de etilo. Los cristales obtenidos fueron separados y recristalizados dos veces en acetato de etilo, el producto tiene un p.f. de 226.5-228.5°.

Análisis: C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>3</sub>(O-CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>; calculado: C, 69.66; H, 6.71; N, 3.01; O-CH<sub>3</sub>, 20.06

Encontrado: C, 71.44; H, 7.06; N, 3.15; O-CH<sub>3</sub>, 20.04

Espectro de Absorción en el Infrarrojo.- El espectro de absorción en el infrarrojo muestra una importante reducción de la absorción a 3500 cm<sup>-1</sup> que indica la desaparición del grupo oxidrilo; en Nujol la banda estuvo ausente. También hubo cambios en las bandas comprendidas entre 1600 y 800 cm<sup>-1</sup>.

Espectro de Absorción en el Ultravioleta.- El espectro de absorción en el ultravioleta a una concentración de 0.0021% en etanol da  $\lambda_{max}$  a 280 m $\mu$  (log  $\epsilon$  = 4.02). La adición de una solución de hidróxido de sodio no causa cambios en el máximo.

TITULACION DE LA LACTONA DE LA CRIOGENINA.- La criogenina base se trata con solución alcohólica de hidróxido de potasio 0.491 N durante 72 horas a 40°. Esta mezcla se acidifica a pH 2 con ácido clorhídrico 1N, luego se alcaliniza a pH 9 empleando una solución de hidróxido de amonio al 28% extra yéndose finalmente con cloroformo. Se evapora a sequedad todo el cloroformo con ayuda del vacío a 40° y el residuo lo disolvieron en acetato de etilo caliente utilizando el menor volumen posible, finalmente enfriaron. Los cristales que obtuvieron los separaron y recristalizaron 2 veces en acetato de etilo, estos no mostraron cambios en el punto de fusión -



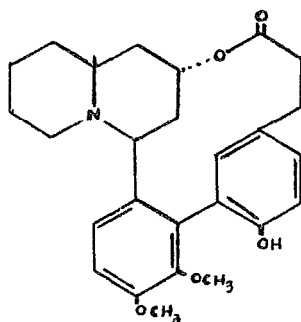
sobre mezclas con criogenina y su equivalencia con esta fue además verificada por cromatografía en capa fina. Se demostró que la muestra tomada es equivalente a una molécula de hidróxido de potasio.

### SINICUICHINA

La sinicuichina se presenta como cristales blancos, -- que secados al vacío a  $110^{\circ}$  funden entre  $187-188^{\circ}$ ; la rotación óptica es:  $[\alpha]_D^{25} +77.8$ ; P.M. = 435.53 (5,19).

Fórmula Condensada:  $C_{26}H_{29}NO_5$  (19)

Fórmula Desarrollada: (12)



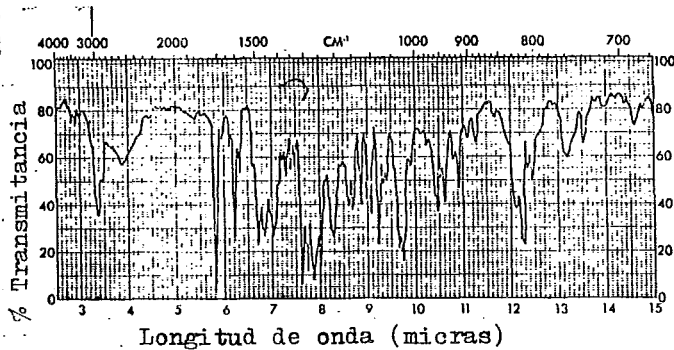
Análisis:  $C_{24}H_{23}NO_3(O-CH_3)_2$ ; calculado: C, 71.70; H, 6.71; N, 3.22; O-CH<sub>3</sub>, 14.25

Encontrado: C, 71.53; H, 6.68; N, 3.16; O-CH<sub>3</sub>, 14.39; (N)-CH<sub>3</sub>, 0.00

Espectro de Absorción en el Infrarrojo.- El espectro de absorción en el infrarrojo muestra entre otras la presencia de bandas a  $3500\text{ cm}^{-1}$  de grupos OH ó N-H, a  $1725\text{ cm}^{-1}$  grupos carbonilo y cerca de  $1605$  y  $1510\text{ cm}^{-1}$  indica la absorción del anillo aromático: ver Gráfica 3

Espectro de Absorción en el Ultravioleta.- El espectro de absorción en el ultravioleta a una concentración de ----

0.0021% en etanol da  $\lambda_{\max}$  a 285  $\mu$  y el valor para el log. de  $\epsilon = 4.01$ , si se adiciona solución de hidróxido de sodio causa el cambio de la absorción máxima a 327.5  $\mu$ .



Gráfica 3.- Espectro de Absorción en el Infrarrojo de la --  
Sinicuichina.

Cromatografía en Capa Fina.- Al emplear la alúmina G - como adsorbente, los valores para los  $R_f$  fueron los siguientes:  $R_f$  0.67, empleando como eluente benceno-etanol (9:1);  $R_f$  0.90, con eluente cloroformo-n-butanol (20:1);  $R_f$  0.65, con benceno-metanol (19:1);  $R_f$  0.71, con isopropanol.

En caso de emplear gel de sílice G como adsorbente los valores son:  $R_f$  0.83, empleando como eluente etanol-NH<sub>4</sub>OH - en la proporción de (9:1);  $R_f$  0.16, con etanol;  $R_f$  0.27, -- con metanol.

CLORHIDRATO DE SINICUICHINA.- Se preparó en la misma - forma que se prepararon los anteriores clorhidratos, recristalizándose en metanol. El producto funde a 265-266°.

TITULACION DE LA LACTONA DE LA SINICUICHINA.- Se siguió el mismo procedimiento empleado para determinar la lactona de la litrina y criogenina anteriormente descritas. Demos-- trándose también que la muestra tomada es equivalente a una

molécula de hidróxido de potasio.

### HEIMINA

La heimina base recristalizada en acetato de etilo se obtuvo en forma de cristales blancos que secados al vacío a  $110^{\circ}$  tienen un p.f. de  $247.5-249^{\circ}$ , P.M. 451.53; la rotación óptica es:  $[\alpha]_D^{25} +43$  (5,19)

Fórmula Condensada:  $C_{26}H_{29}NO_6$  (19)

Análisis:  $C_{24}H_{23}NO_4(O-CH_3)_2$ ; calculado: C, 69.16;  
H, 6.47 N, 3.10; O- $CH_3$ , 13.75

Encontrado: C, 69.50; H, 6.45; N, 3.01; O- $CH_3$ , 14.25;  
(N)- $CH_3$ , 0.00

Espectro de Absorción en el Infrarrojo.- Muestra entre otras la presencia de bandas a  $3500\text{ cm}^{-1}$  para grupos OH ó N-H, a  $1725\text{ cm}^{-1}$  grupos carbonilo y cerca de 1605 y  $1510\text{ cm}^{-1}$  indica la absorción del anillo aromático; ver Gráfica 4

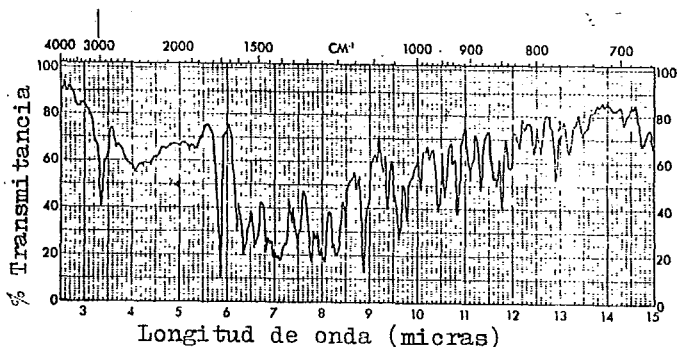
Espectro de Absorción en el Ultravioleta.- El espectro de absorción en el ultravioleta a una concentración de 0.00105% en etanol da  $\lambda_{\text{max}}$  a 285 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4.15$ ) a 260 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4.09$ ). Al adicionar una solución de hidróxido de sodio, origina un cambio en la absorción del punto máximo a 330 m $\mu$  con una inflexión a 260 m $\mu$ .

Cromatografía en Capa Fina.- Empleando como adsorbente alúmina G los valores son:  $R_f$  0.48, empleando como solvente benceno-etanol (9:1);  $R_f$  0.88, con cloroformo-n-butanol (20:1);  $R_f$  0.46, con benceno-metanol (19:1);  $R_f$  0.74, con isopropanol.

Con gel de sílice G los valores son:  $R_f$  0.82, con etanol-hidróxido de amonio (9:1);  $R_f$  0.16, con etanol;  $R_f$  0.25, con metanol.

CLORHIDRATO DE HEIMINA.- Se obtiene por el mismo méto-

do que el clorhidrato de litrina y se recristaliza en metanol. El clorhidrato de heimina así obtenido funde a  $326^{\circ}$ .



Gráfica 4.- Espectro de Absorción en el Infrarrojo de la Heimina.

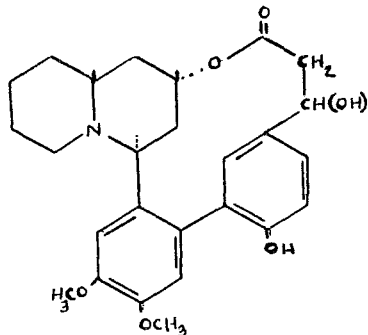
TITULACION DE LA LACTONA DE LA HEIMINA.- La heimina base se trata como en la forma anteriormente descrita para los otros alcaloides y se demostró también que la muestra tomada es equivalente a una molécula de hidróxido de potasio.

#### SININA

La base se presenta en forma de cristales que secados al vacío funden entre  $217.5-219^{\circ}$ , P.M. = 435.53; la rotación óptica es:  $[\alpha]_D^{25} -174.2$  (5,19)

Fórmula Condensada:  $C_{28}H_{33}NO_7$

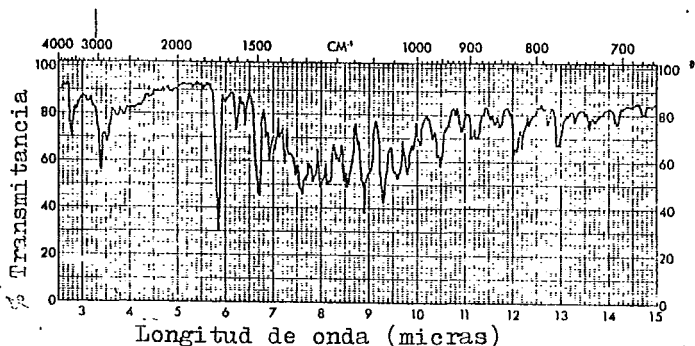
Fórmula Desarrollada: (7,19)



Análisis:  $C_{26}H_{27}NO_5(O-CH_3)_2$ ; calculado: C, 67.86;  
H, 6.71; N, 2.83; O- $CH_3$ , 12.55

Encontrado: C, 67.96; H, 6.77; N, 2.75; O- $CH_3$ , 12.82;  
(N)- $CH_3$ , 0.00

Espectro de Absorción en el Infrarrojo.- El espectro de absorción en el infrarrojo muestra entre otras la presencia de bandas a  $3500\text{ cm}^{-1}$  para los grupos OH ó N-H, a  $1720\text{ cm}^{-1}$  grupos carbonilo y cerca de  $1605$  y  $1510\text{ cm}^{-1}$  indica la absorción del anillo aromático; ver Gráfica 5



Gráfica 5.- Espectro de Absorción en el Infrarrojo de la Sinina.

Espectro de Absorción en el Ultravioleta.- El espectro de absorción en el ultravioleta a una concentración de ---- 0.00176% en etanol da  $\lambda_{max}$  a 292.5 m $\mu$  y un valor para el  $-\log \epsilon = 3.85$  con una inflexión a 250 m $\mu$ . Con la adición de una solución de hidróxido de sodio se produce un cambio en el espectro de absorción con la producción del valor máximo de 317.5 a 292 m $\mu$ .

Cromatografía en Capa Fina.- Utilizando alúmina G se obtiene:  $R_F$  0.61, empleando como eluyente benceno-etanol --- (9:1);  $R_F$  0.79, con cloroformo-n-butanol (20:1);  $R_F$  0.40, con benceno-metanol (19:1);  $R_F$  0.79, con isopropanol.

Con gel de sílice G se obtiene:  $R_f$  0.92, usando como eluyente solución de etanol-hidróxido de amonio (9:1);  $R_f$  -- 0.42, con etanol;  $R_f$  0.75, con metanol.

CLORHIDRATO DE SININA.- Se prepara por el método usual ya descrito y se recristaliza en metanol, tiene un p.f. de  $330^{\circ}$ .

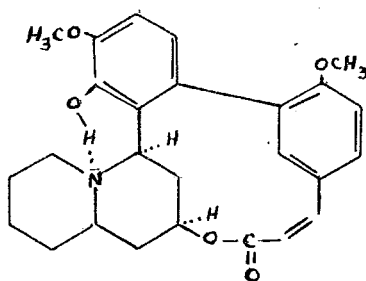
TITULACION DE LA LACTONA DE LA SININA.- La sinina base se trató en la misma forma anteriormente descrita y se demostró que la muestra tomada es equivalente a una molécula de hidróxido de potasio.

#### NESODINA

La nesodina obtenida por la extracción de la planta se cristaliza en cloruro de metileno ó en isopropanol, el producto se obtiene en forma de agujas blancas que funden a --  $190^{\circ}$ , P.M. = 435.53

Fórmula Condensada:  $C_{26}H_{29}NO_5$  (19)

Fórmula Desarrollada: (1)



Análisis:  $C_{24}H_{23}NO_3(OCH_3)_2$ ; calculado: C, 71.70; H, 6.71; N, 3.22; O, 18.37;  $(O)CH_3$ , 6.39

Encontrado: C, 71.47; H, 6.50; N, 3.45; O, 18.60;  $(O)CH_3$ , 6.61

IR:  $\nu_{\max}$  1715  $\text{cm}^{-1}$

UV:  $\lambda_{\max}$  281  $\text{m}\mu$  ( $\epsilon$  12470);  $\lambda_{\min}$  258  $\text{m}\mu$  ( $\epsilon$  8410)

DIHIDRONESODINA.- La nesodina se hidrogena a 20° a presión atmosférica con paladio sobre carbón. El producto crudo obtenido se recristaliza en isopropanol. La dihidronesodina funde a 226-228° y tiene un P.M. de 437.5

Análisis:  $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{NO}_3(\text{OCH}_3)_2$ ; calculado: C, 71.37; H, 7.14; N, 3.2; O, 18.28;  $\text{OCH}_3$ , 14.17

Encontrado: C, 71.38; H, 7.29; N, 3.13; O, 18.11;  $\text{OCH}_3$ , 14.07

IR:  $\nu_{\max}$  1230  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu_{\text{CO}}$  1728  $\text{cm}^{-1}$

UV:  $\lambda_{\max}$  286  $\text{m}\mu$  ( $\epsilon$  4960),  $\lambda_{\min}$  257  $\text{m}\mu$  ( $\epsilon$  875)

O-METILNESODINA.- La nesodina en hidróxido de sodio 2N se metila a 20° con dimetilsulfato, extrayéndose después de la mezcla con cloroformo el cual se evapora hasta sequedad. El material crudo se sublima a una presión de  $10^{-1}$  mm de Hg y 140°, se cristaliza en metanol-agua y n-heptano. La pureza se comprueba por cromatografía en capa fina; la o-metilnesodina funde entre entre 95-110° y tiene un P.M. de 449.6

Análisis:  $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{NO}_2(\text{OCH}_3)_3$ ; calculado: C, 72.14; H, 6.95; N, 3.12; O, 17.79;  $\text{OCH}_3$ , 20.68

Encontrado: C, 71.87; H, 6.85; N, 3.18; O, 17.94;  $\text{OCH}_3$ , 20.84

IR:  $\nu_{\max}$  1267  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu_{\text{CO}}$  1715  $\text{cm}^{-1}$

UV:  $\lambda_{\max}$  279  $\text{m}\mu$  ( $\epsilon$  13370),  $\lambda_{\min}$  258  $\text{m}\mu$  ( $\epsilon$  9590)

O-METILDIHIDRONESODINA.- Se obtiene a partir de la dihidronesodina en hidróxido de sodio 4N conteniendo 10% de acetona, luego se metila con dimetilsulfato a 20°. El producto obtenido se recristaliza en metanol-agua (2:1) y se deja secar durante varias horas a 100° empleando el vacío.

La o-metildihidronesodina funde entre 203-205°, tiene un P.M. de 451.6

Análisis:  $C_{24}H_{24}NO_2(OCH_3)_3$ ; calculado: C, 71.82; H, 7.37; N, 3.10;  $OCH_3$ , 20.60

Encontrado: C, 71.92; H, 7.18; N, 3.18;  $OCH_3$ , 21.27

IR:  $\nu_{max}$  1712  $cm^{-1}$

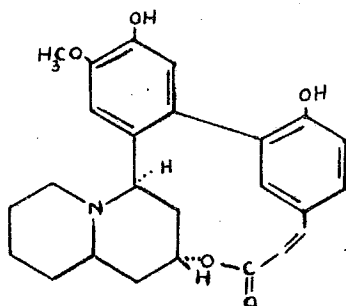
UV:  $\lambda_{max}$  285 m $\mu$  ( $\epsilon$  3910),  $\lambda_{min}$  257 m $\mu$  ( $\epsilon$  982)

### LIFOLINA

Se observó que este alcaloide al ser recristalizado varias veces con benceno se contamina con otros alcaloides tales como criogenina y o-desmetilcriogenina por lo que da un falso p.f. arriba de 155° y con una amplia variación de temperatura. En cambio al solubilizarse en ciclohexano caliente luego de filtrarse y someterse a ebullición se produce una pequeña cantidad de un precipitado microcristalino blanco con p.f. de 223-224°, tiene un P.M. de 421.5

Fórmula Condensada:  $C_{25}H_{27}NO_5$  (19)

Fórmula Desarrollada: (1)



Análisis:  $C_{24}H_{24}NO_4(OCH_3)$ ; calculado: C, 71.24; H, 6.46; N, 3.32;  $OCH_3$ , 7.36



Encontrado: C, 71.37; H, 6.60; N, 3.38; OCH<sub>3</sub>, 7.29

IR:  $\nu_{\max}$  1294 cm<sup>-1</sup>,  $\nu_{\text{CO}}$  1700 cm<sup>-1</sup>

UV:  $\lambda_{\max}$  282 m $\mu$  ( $\epsilon$  14220);  $\lambda_{\min}$  246 m $\mu$  ( $\epsilon$  11050)

DIHIDROLIFOLINA.- Se obtiene a partir de la lifolina - la cual se hidrogena a 20° y presión atmosférica con paladio sobre carbón. La dihidrolifolina funde entre 269-271° y tiene un P.M. de 423.5

Análisis: C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>4</sub>(OCH<sub>3</sub>); calculado: C, 70.90; H, 6.90; N, 3.31; OCH<sub>3</sub>, 7.32

Encontrado: C, 71.23; H, 6.85; N, 3.45; OCH<sub>3</sub>, 7.42

IR:  $\nu_{\max}$  1293 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{\text{CO}}$  1715 cm<sup>-1</sup>

UV:  $\lambda_{\max}$  295.5 m $\mu$  ( $\epsilon$  8040);  $\lambda_{\min}$  268 m $\mu$  ( $\epsilon$  3070)

O,O-DIMETILLIFOLINA.- Se obtiene a partir de la lifolina en hidróxido de sodio 2N se metila a 20° con dimetilsulfato, después se extrae con cloroformo y se evapora éste -- hasta sequedad, se recristaliza en metanol. La o,o-dimetil-lifolina funde entre 231-233° después de secarla al vacío a 100° durante varias horas.

Análisis: C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>2</sub>(OCH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>.1/2 CH<sub>3</sub>OH; calculado: C, 79.9 H, 7.14; N, 3.03; O, 18.90

Encontrado: C, 70.63; H, 7.01; N, 3.10; O, 19.10

IR:  $\nu_{\text{CO}}$  1705 cm<sup>-1</sup>

UV:  $\lambda_{\max}$  278 m $\mu$  ( $\epsilon$  16570);  $\lambda_{\min}$  247 m $\mu$  ( $\epsilon$  12380)

O,O-DIMETILDIHIDROLIFOLINA.- Se obtiene a partir de la dihidrolifolina ésta se adiciona a una solución de hidróxido de sodio 2N y se metila a 20° con dimetilsulfato, se extrae con cloroformo, la fase clorofórmica se evapora hasta sequedad, el producto se recristaliza en metanol varias veces y se seca al vacío a 140° por 30 minutos tiene un p.f. de 169-170° y su P.M. es 451.6

Análisis:  $C_{24}H_{24}NO_2(OCH_3)_3$ ; calculado: C, 71.82;  
H, 7.37; N, 3.10; O, 17.72;  $OCH_3$ , 20.60

Encontrado: C, 72.20; H, 7.17; N, 3.2; O, 17.68;  
 $OCH_3$ , 20.26

IR:  $\nu_{CO}$  1725  $cm^{-1}$

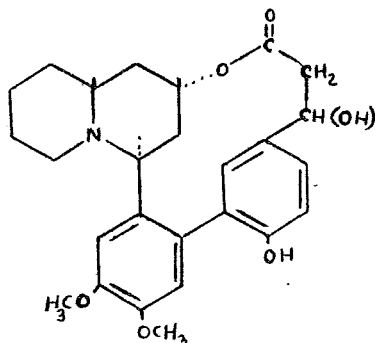
UV:  $\lambda_{max}$  293 m $\mu$  ( $\epsilon$  7775);  $\lambda_{min}$  269 m $\mu$  ( $\epsilon$  3270)

### HEIMIDINA

La heimidina se cristaliza dos veces en cloroformo, los cristales formados funden entre 221-223 $^{\circ}$ , tiene un P.M. de 453.21

Fórmula Condensada:  $C_{26}H_{31}NO_6$

Fórmula Desarrollada:



IR:  $\nu_{CO}$  1720  $cm^{-1}$ ,  $\nu_{OH}$  3440  $cm^{-1}$

UV:  $\lambda_{max}$  292 m $\mu$  ( $\log \epsilon$  3.8) (9)

VIII.-- METODOS FARMACOLOGICOS EMPLEADOS PARA EL ESTUDIO DE LOS ALCALOIDES, NESODINA, CRIOGENINA Y OTROS ALCALOIDES - DE LA HEIMIA SALICIFOLIA.

En este estudio Kaplan, H.R. y M.H. Malone (14) encontraron que el principal alcaloide constituyente de esta planta, la criogenina, imita cualitativa y cuantitativamente, la acción de los extractos de los alcaloides totales y observaron que produce una ligera depresión en el sistema nervioso central en animales sin anestesiar.

Material.- Emplearon los alcaloides criogenina base, clorhidrato de litrina, nesodina base, lifolina y heimina base.

Todos los alcaloides los usaron en forma de soluciones habiéndose usado la nesodina y la criogenina base disueltas en éter al 2%, ácido clorhídrico al 2% o ácido acético y calentando ligeramente para facilitar la solubilidad. Sin embargo, clorhidrato de litrina, heimina y lifolina base por su poca solubilidad, primero se suspendieron en forma uniforme por trituración en agar al 0.25% y después se calentaron ligeramente para solubilizarlas. Antes de emplear los disolventes los probaron por diferentes sistemas biológicos para comprobar que no provocaban ningún efecto en los animales de experimentación.

Los animales que se emplearon en las pruebas fueron ratas blancas de la cepa Wistar y ranas (*rana pipiens*). Los demás animales los obtuvieron de abastecimientos locales.

METODOS

DEFENSA HIPOCRATICA.- Con esta técnica se determinó la dosis-respuesta de todos los animales inyectados y se dedujo por la relación de la dosis con la intensidad de los efectos producidos o respuestas, la curva de dosis-respuesta. Todos

los compuestos los probaron a diferentes dosificaciones variando desde 10-100 mg/Kg; con nesodina la dosis fue más amplia desde 100-1000 mg/Kg.

Primeramente llevaron a cabo un total examen de defensa con los alcaloides usando 1 ó 2 ratas machos o hembras sin ayunar y sin anestesiar, con peso que variaba entre 170 y 375 g. Los animales los inyectaron por vía intraperitoneal empleando un volumen constante de inyección de 5 ml/Kg con 0.25% de agar como vehículo y observaron cuidadosamente la sintomatología cualitativa y semicuantitativamente durante un período de una semana. Los animales que sobrevivieron los sacrificaron por dislocación craneo-vertebral practicándoles la autopsia para determinar la causa de una latente toxicidad.

Efectos y Toxicidad de los Alcaloides.- La criogenina la administraron por vía intraperitoneal a una dosis de 10 mg/Kg y observaron los siguientes efectos: una pasividad definitiva y percusión en la cabeza. Los máximos efectos los observaron a partir de 2 hasta 6 horas después que administraron esta dosis, observaron junto con la enoftalmia una reducción espontánea de la actividad motora y una ligera hipotermia progresiva relacionada con la dosis, además causaron una presión abdominal con efectos en la velocidad y profundidad de la respiración.

La DL de la criogenina administrada por vía intraperitoneal fue de 100 mg/Kg.

La relativa inactividad del clorhidrato de litrina, heimina y lifolina base, puede deberse a su insolubilidad, aunque la cavidad peritoneal tiene una considerable habilidad para movilizar las moléculas insolubles pero fisiológicamente se activan después de la inyección intraperitoneal.

Sin embargo, cuando les administraron a los animales dichos alcaloides por la vía especificada a dosis de 10 mg/Kg notaron pequeños síntomas después de aplicar el estandar de dosis-respuesta, la pasividad sólo la observaron con litrina

y heimina, todos los alcaloides causaron una presión abdominal con efectos en la velocidad y profundidad de la respiración.

La DL del clorhidrato de litrina y heimina base fue de 100 mg/Kg, para lifolina fue de > 100 mg/Kg administrados -- por vía intraperitoneal.

La nesodina base a la dosis inferior o sea 100 mg/Kg la aplicaron por vía intraperitoneal y observaron los siguientes efectos: tendencia hacia hipotermia y pasividad con una considerable baja de la temperatura rectal (-2.9°), también observaron la enoftalmia y la reducción espontánea de la actividad motora, no hubo analgesia, pero si algo de ataxia -- junto con un ligero estremecimiento del músculo envolvente -- del esqueleto y una presión abdominal con efectos en la velocidad y profundidad de la respiración. La completa recuperación de los animales la lograron en el transcurso de 24 horas.

La autopsia que practicaron en la mayor parte de los -- animales que sobrevivieron el período de observación de una semana, reveló una tendencia hacia hepatotoxicidad apareciendo también toxicidad en el riñón y en el bazo la cual fue ocasionada por peritonitis difusa no específica.

La DL de la nesodina fue de 316 mg/Kg que provocaron la muerte en el transcurso de dos días después de la inyección, mientras que 1000 mg/Kg fueron letales en ocho horas administrados por vía intraperitoneal.

Los resultados de estos estudios proporcionaron datos -- muy importantes, primeramente demostraron que al incrementar la dosis se aumenta tanto el grado como la duración de los -- síntomas, también probaron que la nesodina tiene una actividad semejante a la criogenina y que los otros alcaloides son menos potentes que éstos, menos específicos, pero igualmente tóxicos y con características físicas inconvenientes.

ESTUDIOS CARDIOVASCULARES EN PERROS ANESTESIADOS.- En --

este estudio emplearon los alcaloides en forma de soluciones que aplicaron por vía intravenosa, motivo por el cual sólo estudiaron el acetato de criogenina y el de nesodina.

En las pruebas que efectuaron determinaron los efectos que causaron los alcaloides al ser inyectados por vía intravenosa, las respuestas a inyecciones estandarizadas de epinefrina, acetilcolina e histamina, así como también la respuesta que observaron antes de inyectar el alcaloide a una doble oclusión carótida de 45 segundos.

Procedimiento.- A los animales los anestesiaron por medio de una inyección intravenosa de uretano al 30% y aplicaron inmediatamente la traqueotomía.

Camularon la vena femoral derecha y ahí aplicaron los **alcaloides** por vía intravenosa, así como los agentes de referencia en un tiempo de 20 segundos, teniendo la precaución de lavar la jeringa con 3 ml de solución salina al 0.9% para asegurar la exactitud de la dosis y la inyectaron inmediatamente en un tiempo de 10 segundos.

La dosificación del alcaloide la acumularon cada 40 minutos hasta que provocaron la muerte. Entre cada dosis doble acumulativa del alcaloide repitieron las inyecciones estandarizadas de epinefrina, ecetilcolina, histamina y la oclusión carótida.

Para obtener resultados más exactos durante el experimento, determinaron los electrocardiogramas antes y después de inyectar los alcaloides, registraron el tiempo, ritmo respiratorio y la presión sanguínea por medio de un Quimógrafo de tambor, estas determinaciones las efectuaron antes de cada inyección y en el momento de registrar los máximos efectos. La temperatura rectal la tomaron durante todo el experimento por medio de un Teletermómetro tipo termistor.

Efectos y Toxicidad de los Alcaloides.- En las pruebas que efectuaron con criogenina y nesodina cuando las aplicaron por vía intravenosa y comenzando por una dosis de ---- 0.001 mg/Kg para ambos alcaloides y llegando hasta dosis acu

mulativas de 32.8 y 65.5 mg/Kg respectivamente, los investigadores notaron a bajas dosis primeramente cambios en el ritmo y profundidad de la respiración y con las dosis acumulativas ya mencionadas provocaron la muerte por paro respiratorio.

La criogenina después de una dosis acumulativa de 0.128 mg/Kg Gráfica 6 produjo un descenso de la presión sanguínea, a dosis un poco mayores observaron una taquicardia aparente, a dosis acumulativas de 16.2 mg/Kg se mostraron pequeños cambios en el ritmo cardíaco.

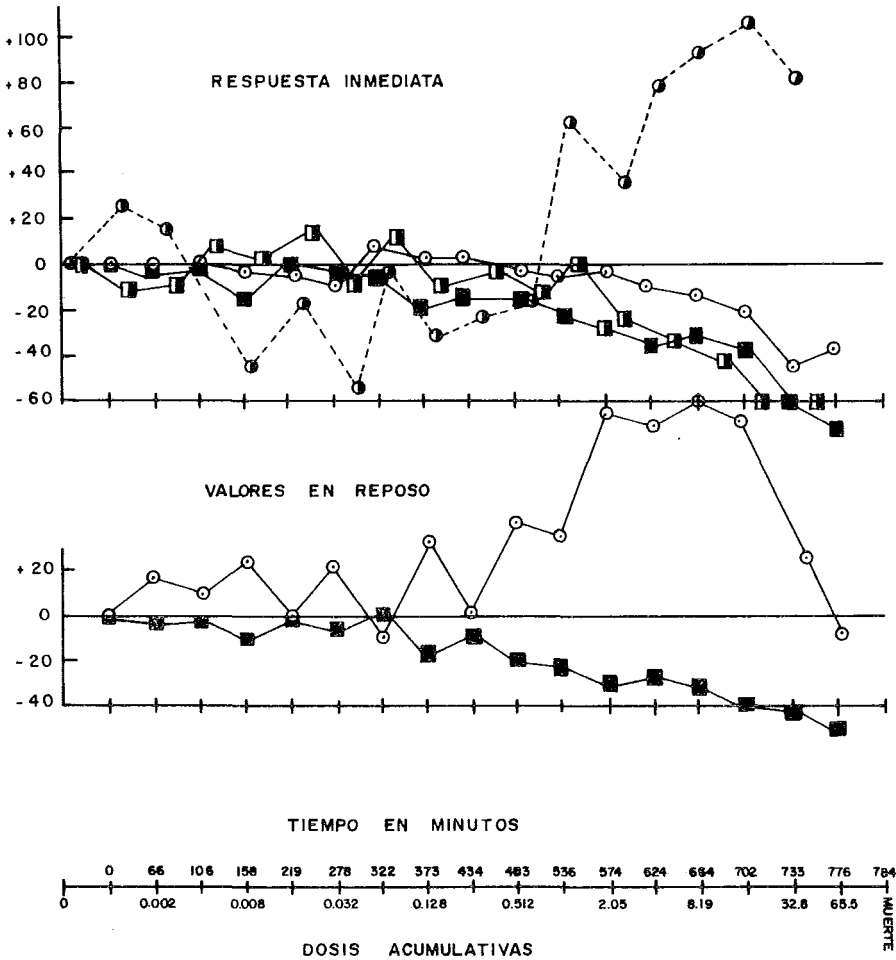
A bajas dosis la criogenina disminuye la respuesta-presor de la epinefrina; sin embargo, a dosis altas observaron un aumento de la respuesta-presor junto con una disminución resultando efectos secundarios depresores. La acción de la criogenina sobre la respuesta-presor de la epinefrina fue mayor que el de la nesodina.

También provocó la acción de la criogenina a altas dosis 2.05 mg/Kg una disminución de los efectos depresores de la acetilcolina y se demostró que a estas dosis los efectos son completamente similares a los descritos en los análisis de inyecciones de acetilcolina.

Robichaud y colaboradores citado en (14) efectuaron un experimento con criogenina usando una preparación doble vago tomizada y observaron una progresiva bradicardia y cambios no totales en la respuesta-presor debida a una doble oclusión carótida o al inyectar la epinefrina. Cuando emplearon en estas pruebas un gato intacto preparado y anestesiado observaron también bradicardia y aumento del efecto presor de la epinefrina.

Efectuaron también estudios de la criogenina sobre la respuesta-presor de la oclusión carótida y encontraron una tendencia del alcaloide a disminuir la respuesta-presor.

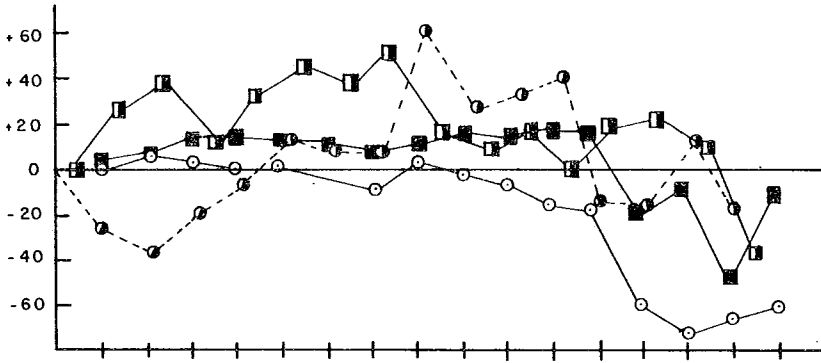
Con nesodina Gráfica 7 efectuaron las pruebas y se manifestaron los efectos por pequeños cambios en el ritmo cardíaco y presión sanguínea, sin embargo, cuando comenzaron por -



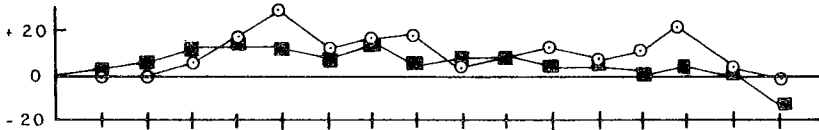
GRAFICA 6.-EFECTOS CARDIOVASCULARES DE LA CRIOGENINA EN EL PERRO ANESTESIADO



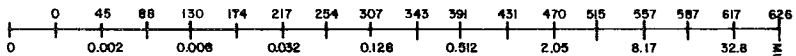
RESPUESTA INMEDIATA



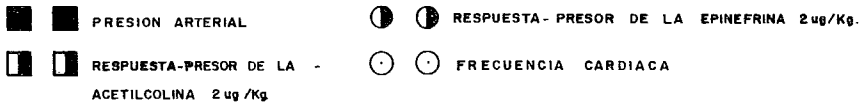
VALORES EN REPOSO



TIEMPO EN MINUTOS



DOSIS ACUMULATIVAS



GRAFICA 7.- EFECTOS CRDIOVASCULARES DE LA NESODINA EN EL PERRO ANESTESIADO

una dosis acumulativa de 2.05 mg/Kg los efectos se manifestaron por una transitoria reducción del ritmo cardíaco siendo éstos más marcados al incrementar la dosis del alcaloide, -- también notaron los cambios en el ritmo y profundidad de la respiración.

En pruebas que efectuaron con la epinefrina observaron que la nesodina actuó disminuyendo la respuesta-presor de la epinefrina, sin embargo, a dosis altas observaron un incremento en la respuesta-presor junto con una disminución resultando efectos secundarios depresores. La acción de la nesodina sobre la respuesta-presor de la epinefrina fue menor que el de la criogenina.

También probaron la acción de la nesodina sobre los --- efectos depresores de la acetilcolina la cual actuó inicialmente incrementándolos. Sin embargo, en posteriores períodos el aumento fue menos pronunciado y finalmente hubo una reducción en la respuesta.

En todo el período de experimentación los mecanismos - termoreguladores quedaron intactos en ambos perros, sin embargo, en los animales que trataron con criogenina observaron un lento pero progresivo aumento en la temperatura rectal. (máxima 2.2° al momento de morir).

ESTUDIOS CARDIOVASCULARES EN GATOS ANESTESIADOS.- En este estudio solamente se efectuaron las pruebas con nesodina.

Procedimiento.- Se emplearon gatos sanos, domésticos -- con peso que puede variar de 1.8 a 3.0 Kg, los anestesiaron con Dial-Uretano a dosis de 0.7 ml/Kg por vía intraperitoneal.

La arteria femoral izquierda la canularon para facilitar la determinación de la presión sanguínea la que efectuaron por medio de un registrador de presión. Como medida de - precaución introdujeron periódicamente en la arteria solución salina heparinizada con el objeto de disminuir la formación de un coágulo en la cánula de polietileno.

Administraron la nesodina por vía intravenosa aplicando

la en la vena femoral izquierda la cual fue canulada para facilitar la administración de la droga empleando un tiempo de 15 segundos, luego lavaron la jeringa con 3 ml de solución fisiológica aplicándola en el mismo tiempo. La dosificación del alcaloide fue acumulada cada 10 minutos comenzando con 0.01 mg/Kg y continuando hasta provocar la muerte.

Efectos y Toxicidad del Alcaloide.- Los efectos los observaron a través de las primeras nueve inyecciones en las lecturas de la presión sanguínea encontrando sólo ligeros o relativamente insignificantes cambios con relación a las lecturas tomadas antes de haber aplicado el alcaloide.

La nesodina a una dosis acumulativa de 5.12 mg/Kg aplicada por vía intravenosa causó un efecto dramático depresor ocurriendo simultáneamente una notable reducción en el ritmo cardíaco y semejante un incremento equivalente de la fuerza de contracción, estos efectos fueron transitorios ya que en el transcurso de 2 minutos se consideraron casi regularizados los efectos adquiridos. Semejantes resultados se observaron con una dosis acumulativa sobre 10.24 mg/Kg. La aplicación de subsecuentes inyecciones causaron el paro momentáneo de los latidos del corazón.

La DL de la nesodina fue de 40.96 mg/Kg administrados por vía intravenosa.

ESTUDIOS EL EL ILEON AISLADO DEL PUERCO DE GUINEA.- Efectuaron las pruebas con criogenina y nesodina.

Procedimiento.- Emplearon en este estudio el puerco de Guinea adulto, macho y virgen sin ayunar, lo sacrificaron por dislocación craneo-vertebral inmediatamente le extirparon el ileon y lo segmentaron en secciones de 2 a 3 cm dejándolos equilibrar por no menos de 1 hora antes de usarlos. Para evitar una mala interpretación producida por la contaminación de las drogas emplearon segmentos recientes para cada una de las diferentes drogas.

En un baño pusieron solución Tyrode previamente calenta

da a 37° y oxigenada con una mezcla de gases compuesta por 95% de oxígeno y 5% de dióxido de carbono en el sumergieron un segmento que va colocado en un calibrador de 10 ml. El fleon lo sujetaron a un calibrador frontal isotónico de palanca, que junto con un Quimógrafo lo emplearon para medir la actividad del músculo longitudinal.

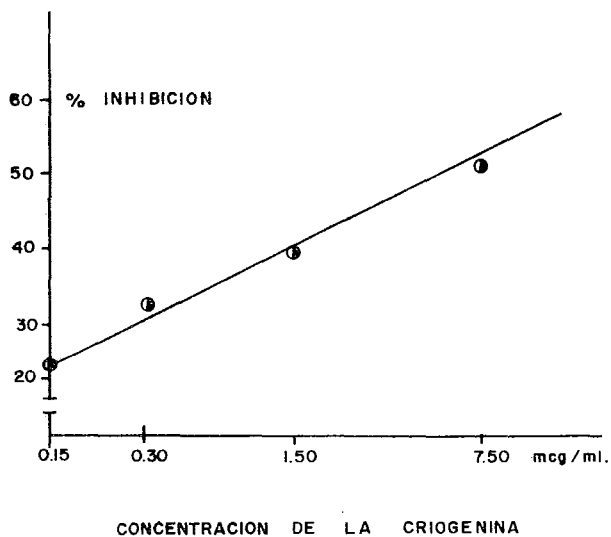
En diferentes baños adicionaron a uno nesodina y a otro criogenina y determinaron los efectos de estas sustancias sobre las contracciones ya producidas en el fleon por los agentes de referencia (acetilcolina, histamina, serotonina, nicotina y hexametonio) utilizándolos en concentraciones especificadas e incubándolos por espacio de 1 minuto.

Efectos de los Alcaloides.- La criogenina a concentraciones de 0.15, 0.30, 1.5 y 7.5  $\mu\text{g/ml}$  progresivamente inhibieron las contracciones producidas por la acetilcolina en el fleon a una concentración de 0.1  $\mu\text{g/ml}$ . Los mismos efectos los observaron con nesodina a una concentración de 1-5  $\mu\text{g/ml}$  Gráfica 8.

Cuando administraron la nicotina a una concentración de 2  $\mu\text{g/ml}$  en el baño ésta causó contracciones submáximas reproducibles en el fleon las cuales fueron reducidas por la adición de 0.2 - 2.0  $\mu\text{g/ml}$  de nesodina. Pero si en el momento que observaron las máximas contracciones le administran 2  $\mu\text{g/ml}$  de nesodina ésta no causó ninguna acción significativa sobre la respuesta. Estos efectos se pudieron vencer por un cuidadoso lavado de los tejidos.

En pruebas que efectuaron con el hexametonio encontraron que bloqueó las contracciones producidas por la nicotina a una concentración de 1  $\mu\text{g/ml}$  en este caso los efectos no fueron completamente reversibles ni lavando los tejidos ni incrementando la concentración de la nicotina.

También las contracciones submáximas reproducibles producidas por la histamina en el fleon a una concentración de 0.01  $\mu\text{g/ml}$  en el baño fueron inhibidas por la nesodina después de 1 minuto de incubación a una concentración de 0.01 -



GRAFICA 8.- INHIBICION DE LAS CONTRACCIONES INDUCIDAS EN EL ILEON DEL PUERCO DE GUINEA CON ACETILCOLINA, DESPUES DE LA INCUBACION CON VARIAS CONCENTRACIONES DE CRIOGENINA.

$\mu\text{g/ml}$  de alcaloide. Cuando incrementaron la concentración de la histamina en el baño 100 veces se invirtieron los efectos de la nesodina lo cual no es frecuente para agentes que poseen actividad anticolinérgica o que tengan alguna propiedad antihistamínica.

Con serotonina fueron producidas las contracciones submáximas en el ileon a una concentración de  $0.2 \mu\text{g/ml}$  en el baño y con la nesodina a concentración de  $0.2 \mu\text{g/ml}$  durante la incubación ésta causó contracciones cuando adicionaron la serotonina a una concentración de  $2 \mu\text{g/ml}$  y además observaron un efecto aditivo.

En estos estudios observaron también una estimulante actividad leiomiótónica producida por la criogenina y la nesodina a bajas y altas concentraciones  $1-5 \mu\text{g/ml}$  y por pruebas que efectuaron encontraron que el hexametonio no tiene acción sobre la actividad, por lo que concluyeron que la actividad de ambos alcaloides parece estar restringida a un receptor distante o al ganglio autonómico.

ESTUDIOS SOBRE EL VASO DEFERENTE AISLADO DE LA RATA.- Se estudiaron los efectos de la nesodina, criogenina y ácido acético vehículo control sobre la respuesta de la epinefrina.

Procedimiento.- En las pruebas experimentales emplearon una rata adulta, sin ayunar, la sacrificaron por decapitación y le extirparon inmediatamente el vaso deferente el cual pusieron en un calibrador de 10 ml sumergiendo éste en un baño que contenía solución oxigenada Tyrode a  $35^{\circ}$ .

Las contracciones submáximas reproducibles en el vaso deferente fueron producidas por la adición de una solución de epinefrina-ácido ascórbico (10 mg de epinefrina base por 10 mg de ácido ascórbico) y observaron los efectos producidos por los alcaloides después de 1 minuto de incubación.

Efectos de los Alcaloides.- A una concentración de  $5 \mu\text{g/ml}$  la epinefrina causó contracciones submáximas reproducibles en el tejido del vaso deferente y una vez establecida -

la respuesta hicieron primeramente las pruebas con nesodina a concentración de 1, 2 y 5  $\mu\text{g/ml}$  incubando durante 1 minuto después del cual ningún efecto observaron sobre la respuesta de la epinefrina.

La criogenina la administraron al baño a una dosis de - 10  $\mu\text{g/ml}$  y después de 1 minuto de incubación observaron que los efectos del alcaloide no alteraron las contracciones inducidas por la epinefrina.

Finalmente el ácido acético vehículo control correspondientes a 5  $\mu\text{g/ml}$  de nesodina en las mismas condiciones que los anteriores, no alteraron la integridad de los tejidos.

Los resultados de estos estudios indicaron que ambos alcaloides carecieron de una afinidad para los receptores adrenérgicos y por lo tanto no poseen ni actividad simpaticomimética ni simpaticolítica.

ESTUDIO CINETICO SOBRE EL MUSCULO LISO ABDOMINAL DE LA RANA.- En este estudio observaron los efectos que causaron - los alcaloides sobre la respuesta producida por la acetilcolina en el músculo liso abdominal.

Procedimiento.- Las ranas que emplearon en estas prue--bas las sacrificaron por doble destrucción de los centros --nerviosos, la de los hemisferios cerebrales y del cordón espinal, inmediatamente quitaron la piel, le extirparon el músculo abdominal liso y lo dividieron a la mitad. Una parte la colocaron dentro de un baño el cual contiene solución Ringer oxigenada (95% de oxígeno y 5% de dióxido de carbono) la que utilizaron a temperatura ambiente. En seguida administraron al baño acetilcolina a concentración menor de 10  $\mu\text{g/ml}$  esta dosis fue necesaria para obtener los máximos efectos en el -músculo. Una vez que establecieron la respuesta incubaron el antagónico en el baño durante 1 minuto y después de este ---tiempo observaron los efectos producidos por él.

Efectos de los Alcaloides.- Hicieron un estudio preliminar de los alcaloides: clorhidrato de criogenina, clorhidra-

to de litrina, clorhidrato de nesodina, heimina base y lifolina, todos fueron probados a una concentración de 100  $\mu\text{g/ml}$  en el baño con acetilcolina a concentración menor de 10 ----  $\mu\text{g/ml}$  y observaron que todos causaron una reducción en las contracciones inducidas por la acetilcolina en el músculo liso abdominal, además que alteraron la integridad de los tejidos, ésto lo comprobaron porque a pesar de los numerosos lavados que les hicieron estos fueron incapaces de invertir -- completamente la inhibición inducida por el alcaloide.

Por grande reducción en la concentración de los alcaloides de 1-2.5  $\mu\text{g/ml}$  e inhibiendo la acetilcolina hizo que se lograra amortiguar los efectos manteniéndose así la integridad de los tejidos.

La nesodina adicionada al baño a una concentración de 1  $\mu\text{g/ml}$  actuó como un clásico inhibidor no competitivo de la acetilcolina administrada ésta en el baño a una concentración de 0.5, 1.0 y 2.0  $\mu\text{g/ml}$  Gráfica 9.

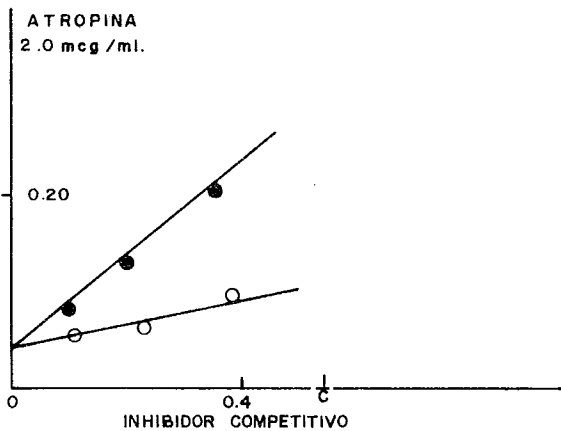
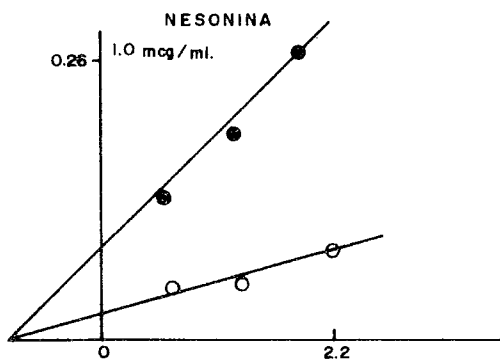
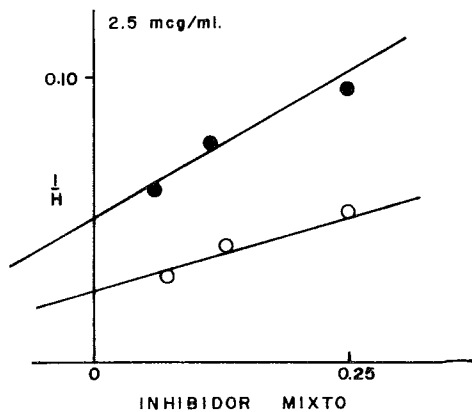
Sin embargo la criogenina cuando la administraron a una concentración de 2.5  $\mu\text{g/ml}$  con la acetilcolina a la misma -- concentración actuó como un híbrido y reveló ser un inhibidor entre el clásico inhibidor competitivo y no competitivo de la acetilcolina Gráfica 9. Así lo demostraron también los experimentos realizados por Robichaud y colaboradores citado en (14) los cuales emplearon diferentes especies de animales y tejidos (duodeno de conejo).

La atropina y la triflenamina sirvieron como un prototipo inhibidor y demostraron ser del clásico inhibidor competitivo de la acetilcolina a una amplia variación de concentración desde 2 hasta 160  $\mu\text{g/ml}$ . En esta variación Ariéns y Simonis citados en (14) fueron incapaces de obtener los efectos bifásicos de inhibición competitiva y no competitiva a bajas y altas dosis de atropina y triflenamina.

Los otros alcaloides los emplearon en forma de suspensiones en agar lo que ocasionó que los resultados fueron poco exactos, ésto se debió a la irregular distribución de los



CRIOGENINA



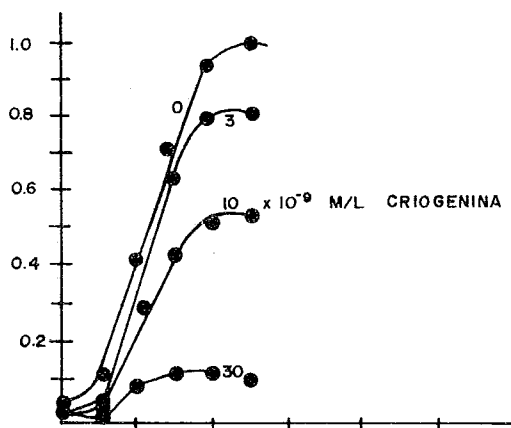
GRAFICA 9.- ESTUDIO CINETICO DE LA INHIBICION DE LAS CONTRACCIONES PRODUCIDAS POR LA ACETILCOLINA EN EL MUSCULO LISO ABDOMINAL DE LA RANA, USANDO UNA DOBLE GRAFICA RECIPROCA.

alcaloides en el baño y también las propiedades físicas de ellos hicieron que esta técnica fuera poco efectiva para ambas evaluaciones, la cualitativa y la cuantitativa.

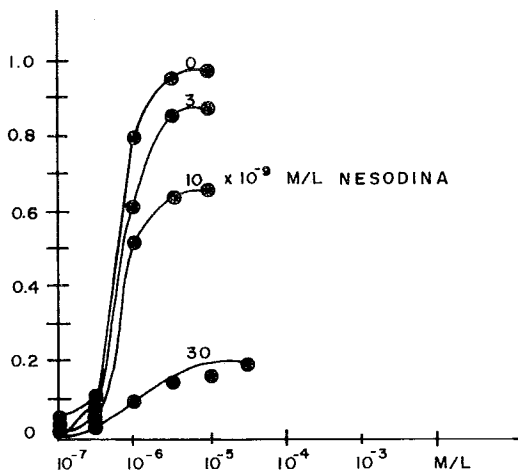
ESTUDIO CINETICO EN EL YEYUNO AISLADO DE LA RATA.- En este estudio establecieron dosis acumulativas, respuestas y curvas de furtretonio sólo y en la presencia de los alcaloides nesodina, criogenina y antagonicos de referencia, atropina y papaverina. La Tabla 2 resume los resultados de estos estudios cinéticos.

Procedimiento.- En las pruebas emplearon ratas jóvenes adultas, macho o hembra las sacrificaron por dislocación craneo-vertebral, les extirparon inmediatamente el yeyuno y lo segmentaron en secciones de 3 cm. Un segmento lo colocaron dentro de un baño que contenía 50 ml de solución Tyrode modificada por la adición de  $1 \times 10^{-5}$  g/ml de la sal disódica de calcio del ácido etilen diamino tetraacético.

Luego que establecieron la respuesta con el furtretonio a diferentes concentraciones observaron los efectos producidos por los alcaloides criogenina y nesodina después de ser incubados en el baño y concluyeron que dichos alcaloides son potentes antagonicos no competitivos del furtretonio o un agente estable parasimpaticomimético. Así lo demostraron el grupo de curvas deducidas por la incubación a varias concentraciones ver Gráficas 10 y 11. En cambio la atropina y la papaverina Gráficas 12 y 13 demostraron que son un competitivo de referencia y un inhibidor no competitivo del furtretonio respectivamente.

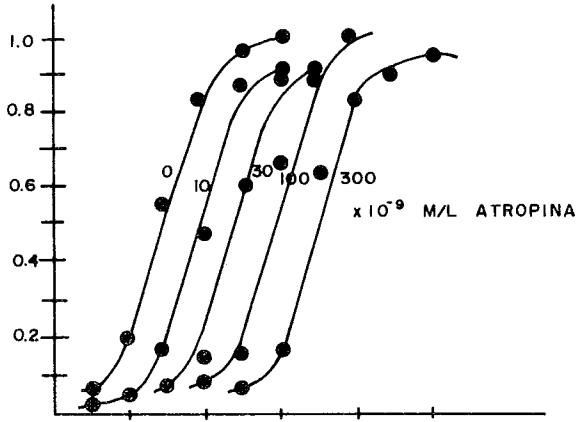


GRAFICA 10

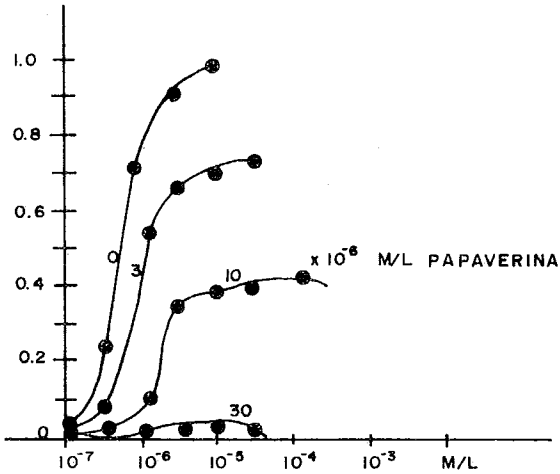


GRAFICA 11

GRAFICA 10 y 11.- CURVAS DE LOG-CONCENTRACION DE FURTRETONIO EN LA PRESENCIA DE CRIOGENINA o NESODINA, USANDO EL YEYUNO AISLADO DE LA RATA.



GRAFICA 12



GRAFICA 13

GRAFICA 12 y 13.- CURVAS DE LOG-CONCENTRACION ACUMULATIVA DE FURTRETONO EN LA PRESENCIA DE ATROPINA (INHIBIDOR COMPETITIVO DE REFERENCIA) o PAPAVERINA (INHIBIDOR NO COMPETITIVO DE REFERENCIA) USANDO EL YEYUNO AISLADO DE LA RATA.

Tabla 2.- Parámetros de Actividad (10 min. incubación) sobre Yeyuno aislado de la Rata.

	Log-Análogos			
	Actividad intrínseca	PD <sub>2</sub>	pA <sub>2</sub>	PD' <sub>2</sub>
(Furtretonio)	1.0	5.9 (5.9) <sup>a</sup>	---	---
Criogenina (Furtretonio)	-1 <sup>b</sup>	---	---	7.86
Nesodina (Furtretonio)	-1 <sup>b</sup>	---	---	7.64
Atrepina (Furtretonio)	0	---	8.42 (8.8) <sup>a</sup> (8.37-8.77) <sup>c</sup>	
Papaverina (Furtretonio)	-1			5.0 (4.8) <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Valores informados por Rossum citado en (14).

<sup>b</sup>En determinado ejemplo ( $\geq 3 \times 10^{-9}$  M), la actividad intrínseca es notable en aquel cambio detectable registrado del yeyuno.

<sup>c</sup>Valores informados por Schild citado en (14).

## IX.- VALORACION DEL PODER ANTI-INFLAMATORIO DE LA CRIOGENINA

Los estudios efectuados por Harvey R. Kaplan, Richard - E. Wolke y Marvin H. Malone (15) sobre la propiedad anti-inflamatoria de la **criogenina**, demostraron que no solamente -- fue efectiva al limitar el desarrollo inflamatorio inducido en casos agudos y crónicos en pruebas efectuadas con ratas, sino también demostraron que tiene una actividad en bajo orden como antipirético y analgésico, es efectiva en parte e -- inversa al edema y al dolor producido por las inyecciones de nitrato de plata aplicadas en la articulación del tobillo de las ratas empleadas en estos estudios.

Otro de los estudios demostraron que la criogenina bloquea la serotonina, bradikinina e histamina en pruebas que -- efectuaron en el ileon extraído del puerco de Guinea. En el pretratamiento limitando la serotonina e induciendo el edema en la pata de las ratas. En la valoración antiflogística blo-- quean la histamina e inducen intradermal una mancha amoratada en la piel de los conejos. También comprobaron que la --- criogenina no fue efectiva como agente fibrinolítico. Además, encontraron que posee una actividad anti-inflamatoria seme-- jante a la aspirina.

En los métodos que a continuación se describen para valorar el poder anti-inflamatorio de la criogenina, esta se -- empleó en dos formas diferentes: como una suspensión acuosa de la base libre en agar al 0.25% o bien, como una solución de la sal empleando el acetato, el cual lo prepararon disolviendo la base en ácido acético glacial al 0.5%.

Las ratas empleadas en estos estudios fueron de la especie Wistar y obtenidas de la E.G. Steinhilber Co., Oshkos, - Wis.

VALORACION AGUDA ANTI-INFLAMATORIA USANDO CARRAGENINA E INDUCIENDO EDEMA.- En las pruebas experimentales emplearon - ratas de ambos sexos, sin ayunar, sólo se debe tener la precaución de asegurar un uniforme grado de hidratación de cada

una de ellas y además administrar a cada animal una cantidad suplementaria de 5 ml.

La administración de la droga la efectuaron por vía oral en dosis de 10 mg/Kg de peso y por orden observar el más mínimo fenómeno de irritación.

Una hora después de la administración oral, inyectaron asépticamente 0.1 ml del agente flogístico que es una suspensión de carragenina al 1% en solución salina estéril al 0.9% en la aponeurosis de la planta en la pata trasera izquierda. Después de la aplicación de la carragenina determinaron inmediatamente la anchura o volumen que ocupó la solución inyectada y tres horas más tarde usando un calibrador o vernier con espesor de medio pie y con medidas cercanas a 0.1 mm. Así como también el tamaño del volumen y para el cual emplearon un aparato pletismográfico modificado, con medidas cercanas a 0.01 ml.

Las temperaturas rectales las registraron durante la prueba mediante un termómetro tipo termistor.

Induciendo el estado inflamatorio con carragenina la temperatura interna no se elevó y con el tratamiento con criogenina o con el vehículo controlado no causó cambios significativos en la temperatura rectal.

La criogenina posee una significativa actividad antiflogística a una dosis de 100 mg/Kg al compararse con el vehículo de ácido acético y demás controles Tabla 3.

ANALISIS DE LA CRIOGENINA COMPARADA CON LA FENILBUTAZONA.- En este procedimiento experimental se determinaron medidas pletismográficas después de la administración de 0.05 ml de carragenina al 1%. Para las pruebas emplearon ratas en grupos de 4 escogidas al azar, utilizando dos para cada dosis una mínima de 50 mg/Kg y una máxima de 100 mg/Kg ambas de acetato de criogenina y de fenilbutazona sódica. Cada tratamiento consta de 3 unidades por día con su respectivo análisis en 3 diferentes días, resultando 9 unidades por cada uno de los cuatro tratamientos.

Tabla 3.- Actividad Anti-Inflamatoria de la Criogenina Administrada Oralmente en Ratas a Dosis de 100 mg/Kg. Induciendo el Edema con Carragenina.

Tratamiento	% medio de la anchura	Incremento del volúmen	Significado igual observado
Criogenina	13.4 (2-24) <sup>a</sup>	....	0.01 - 0.05
Acido acético			
Control	26.8 (18-36) <sup>b</sup>	....	....
Criogenina	....	27 (2-61) <sup>b</sup>	0.001
Acido acético			
Control	....	118 (51-197) <sup>b</sup>	....

<sup>a</sup>Variación observada en cinco determinaciones 3 hrs. después de la inyección de la carragenina.

<sup>b</sup>Variación observada en seis determinaciones 3 hrs. después de inyectar la carragenina.

Los resultados obtenidos en el análisis de la criogenina comparada con la fenilbutazona demostraron que la primera posee una potencia anti-inflamatoria 0.86 veces superior a la fenilbutazona. El 95% equivalentes a los límites de confianza para la potencia son 0.61 - 1.11

La  $\lambda$  de los análisis fue calculada con cualquiera de las fórmulas siguientes:  $S/b$  o como  $SM \sqrt{N/2}$  siendo los resultados iguales para ambas 0.22 por lo que puede ser considerada de igual potencia la criogenina y la fenilbutazona.

COMPARACION CON MULTIPLES DROGAS.- Es otra de las pruebas en las que emplearon medidas pletismográficas en ratas jóvenes, escogidas al azar y en grupos de 2 machos y dos hembras, administrándose las drogas por vía oral en forma de --



suspensión en agar al 0.25% y como sustancia flogística carragenina al 1% inyectando 0.05 ml.

Los efectos producidos se analizaron aplicando la variación múltiple obtenida en el análisis de Duncan citado en -- (15) la cual se resume en la Tabla 4

Tabla 4.- Comparación de la Actividad Anti-Inflamatoria de Múltiples Drogas en Ratas, Induciendo el Edema con Carragenina.

Tratamiento	Dosis oral mg/Kg	Incremento medio en vol./ml en la pata del animal.	Significado establecido
Control	...	0.45 (0.37 - 0.56)	A
Ac. Cinámico	100	0.44 (0.32 - 0.66)	A
Control	...	0.44 (0.39 - 0.54)	A
Papaina	400	0.35 (0.29 - 0.40)	B
Esparteina	100	0.34 (0.30 - 0.38)	B
Criogenina	100	0.27 (0.19 - 0.36)	B
Indometacina	5	0.22 (0.18 - 0.31)	B
Clorpromazina	100	0.21 (0.05 - 0.33)	B

Nuevamente las propiedades anti-inflamatorias de la --- criogenina fueron confirmadas, aunque el ácido cinámico y la esparteina tienen alguna relación estructural química a la - criogenina, sólo la esparteina resultó tener poca actividad anti-inflamatoria.

VALORACION CRONICA ANTI-INFLAMATORIA.- Esta valoración

la efectuaron en ratas seleccionadas en grupos de cinco escogidas al azar, dejando equilibrar los animales al medio ambiente una semana antes de efectuar la prueba. Diariamente - determinaron a cada animal el peso promedio, el grosor de la pata y el promedio de consumo del alimento y agua.

Los animales fueron dosificados diariamente durante dos semanas comenzando el día 0 al 13 con el agente prueba, llamado también agente anti-inflamatorio como la fenilbutazona, indometacina, DMSO, cloroquina, hidrocortizona. Los que estructuralmente son semejantes a la criogenina como la citisina, esparteina y ácido cinámico o agentes relacionados farmacológicamente como la clorpromazina, papaverina y atropina.

La administración de las drogas la hicieron por vía oral en forma de suspensión al 0.25% en agar en dosis de 10 ml/Kg de peso, o bien, la que indica la literatura o la que ha sido determinada en los laboratorios como efectiva y no tóxica para los animales después de una aguda administración.

El primer día todos los animales fueron inyectados con una suspensión de *Mycobacterium butyricum* de los laboratorios Difco 0640-33 en petrolato líquido y preparada según el método de Nuss citado en (15) el cual se describe a continuación:

Técnica.- En un homogenizador de mano se mezclaron 20 ml de petrolato líquido con 100 mg de los organismos liofilizados hasta formar una suspensión, ésta se autoclavea a 15 libras de presión durante 20 minutos, se enfría y se coloca en el refrigerador durante la noche. Antes de inyectar la suspensión se deja equilibrar a temperatura del cuarto y se suspende por agitación con la mano.

A cada rata le inyectaron 0.05 ml en la aponeurosis de la planta en la pata derecha. Como precauciones se tomaron las medidas siguientes: inyectar directamente mediante inserción bajo la piel evitando escurrimientos que provoquen empequeñecer el local vascular.

La medicación la descontinuaron desde el día 14 hasta -

el 30, sin embargo, la determinación del peso del cuerpo, es pesor de la pata y el promedio de consumo de comida y agua - se continuaron a través de la duración del experimento. El - por ciento de inhibición en el grosor de la pata incrementada por la inyección lo calcularon de acuerdo a los métodos de - Newbould citado en (15) los días 13 y 30.

Para el análisis histopatológico se tomaron tejidos sec cionados en 10  $\mu$  incluyendo sección sagital de cuerpo femore tibial, articulaciones y secciones transversales de áreas me tatarsales, miocardio, hígado, bazo, pulmón, riñón y epidermis abdominal. Primeramente los tejidos los fijaron en defor malina al 10% luego los colocaron en parafina y finalmente - los tiñeron con hematoxilina y eosina.

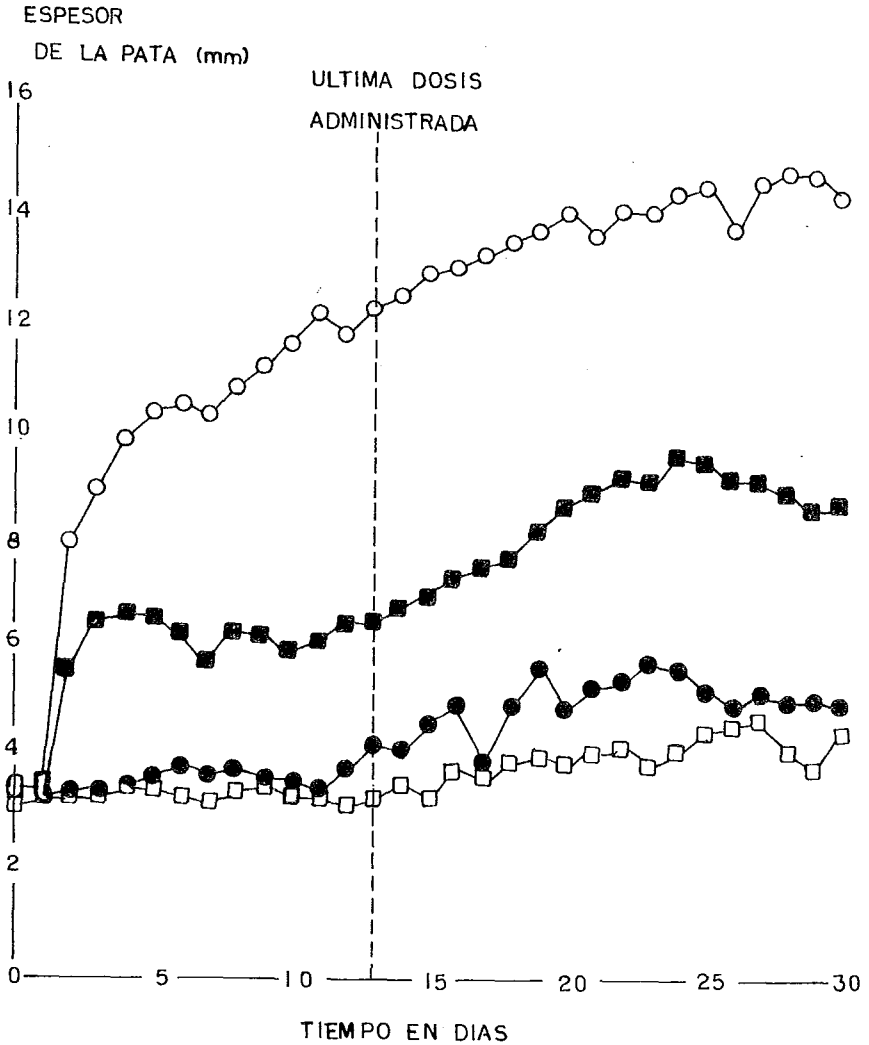
Las secciones óseas las decalcificaron por medio de un procedimiento de termo-agitación empleando una solución al - 18% de fórmico y ácido clorhídrico. Terminada la decalcifica ción las secciones se pusieron en una solución saturada de - carbonato de litio durante 24 horas al cabo de las cuales se lavaron y se colocaron en formalina.

Los efectos de la criogenina y fenilbutazona sobre la - progresión de la artritis crónica artificial producida en ra tas es presentada en las Gráficas 14 y 15.

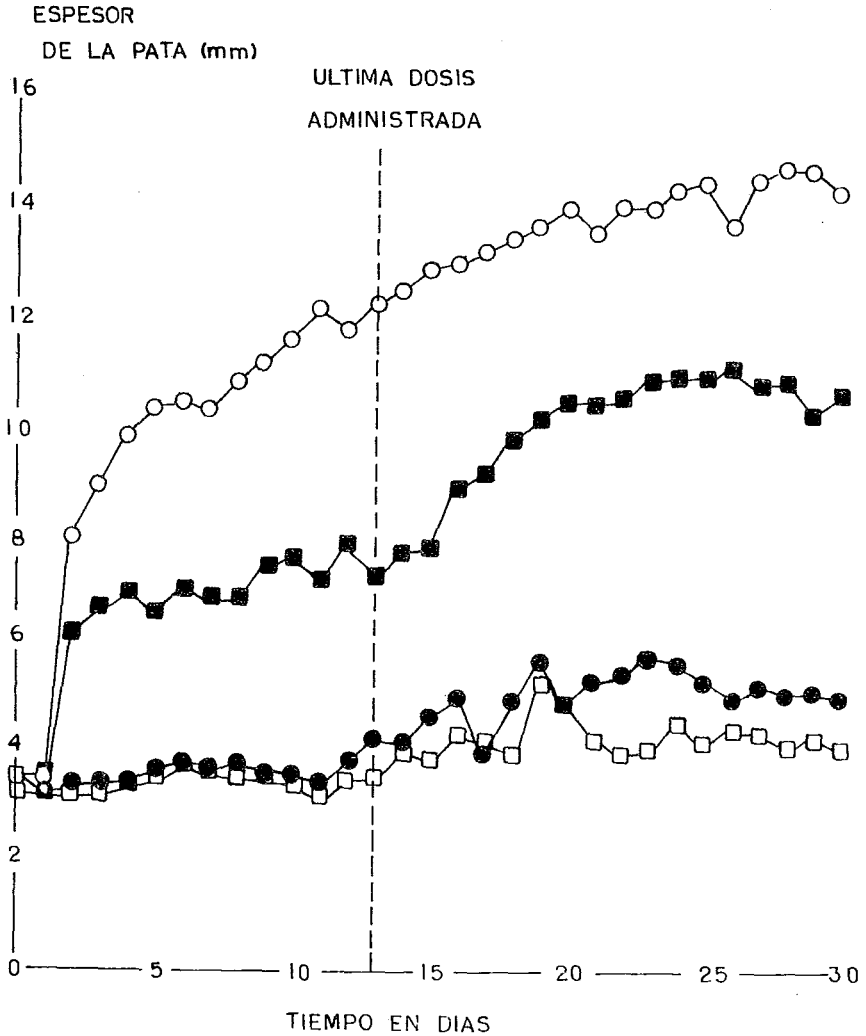
La protección proporcionada por la criogenina y la fe-- nilbutazona cuando las compararon con un control no tratado fueron muy claras en fotografías de muestras gruesas repre-- sentativas tomadas diez días después de la administración de *Mycobacterium butyricum* Figura 3.

Se observaron lesiones secundarias en otros tejidos si-- milares a los descritos por Newbould citado en (15) sin em-- bargo, la variabilidad en las lesiones como fracuencia, tama ño y lugar no permitieron que se usaran como patrón.

De los tres animales que fueron seleccionados para la - valoración histopatológica 2 no presentaron lesiones en las articulaciones femorotibial, sin embargo, las tres si revela ron cambios en el área metatarsal.



GRAFICA.-14.-EFECTOS DE LA CRIOGENINA, ADMINISTRADA DIARIAMENTE POR VIA ORAL DURANTE DOS SEMANAS 100mg/Kg. SOBRE EL DESARROLLO DE LA POLIARTRITIS INDUCIDA. CLAVE: ○, ANCHURA MEDIA DE LA PATA INYECTADA (CONTROLES); ●, ANCHURA MEDIA DE LA PATA CONTRALATERAL (CONTROLES); ■ ANCHURA MEDIA DE LA PATA INYECTADA (CRIOGENINA); □, ANCHURA MEDIA DE LA PATA CONTRALATERAL (CRIOGENINA).



GRAFICA 15.-EFECTOS DE LA FENILBUTAZONA ADMINISTRADA DIARIAMENTE 100mg/Kg. EN FORMA ORAL DURANTE DOS SEMANAS SOBRE EL DESARROLLO DE LA POLIARTRITIS INDUCIDA. CLAVE ○ ,ANCHURA MEDIA DE LA PATA INYECTADA (CONTROLES) ; ● ,ANCHURA MEDIA DE LA PATA CONTRALATERAL (CONTROLES) ■ ANCHURA MEDIA DE LA PATA INYECTADA (FENILBUTAZONA); □ ,ANCHURA MEDIA DE LA PATA CONTRALATERAL (FENILBUTAZONA)

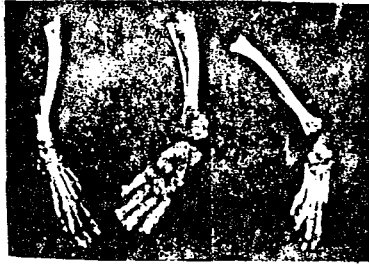


Fig. 3.- Típicas muestras gruesas de esqueleto de ratas inyectadas en las patas. Tratada con criogenina (izquierda), controles no tratados (centro) y con fenilbutazona (derecha).

En la mayor parte de los animales se presentaron lesiones que afectaron severamente el control del animal, siendo similares a las descritas por Glenn y Grey citado en (15) como granuloma supurativo y fibrosis en zonas de primaria y secundaria osificación cercanas a la articulación femorotibial, destrucción del cartílago articular, un ocasional hallazgo, aparece secundario a la respuesta progresiva subcondral granulomatosa.

Dentro de las articulaciones encontraron la membrana sinovial hinchada, edematosa, hiperplástica e invadida por linfocitos, células mayores y células mononucleares Figura 4.

También observaron un progresivo resultado en fibrosis de la membrana sinovial, con una ocasional proliferación que rellena completamente entre la cavidad articular y la superficie articular.

En secciones transversales de áreas metatarsales encontraron múltiples granulomas subdermales y focos de células mononucleares.

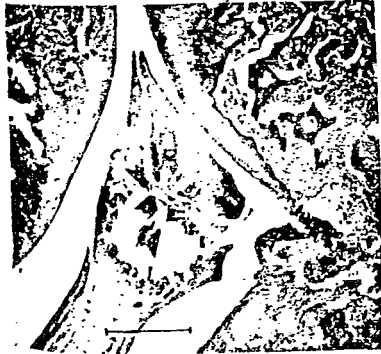


Fig. 4.- Sección sagital de articulación femorotibial derecha de un animal controlado, con reacción granulomatosa y destrucción del cartilago tibial.

Una notable proliferación de nuevo hueso periostial lo encontraron alrededor de todos los huesos metatarsales. Observaron también nuevo hueso altamente celular de tejido aspero fácilmente diferenciado del hueso laminar cortical maduro, el cual es separado por una diferente línea de cemento basofílico. Figura 5.

Una respuesta inflamatoria disminuída observaron en secciones femorotibial de ratas tratadas con criogenina Figura 6.

Observaron una reacción granulomatosa supurativa en una prueba de la metafisis tibial y con la excepción de edema en la membrana sinovial, no hubo cambios patológicos dentro de la cavidad de la articulación.

En secciones metatarsales de animales tratados con criogenina, revelaron lesiones tan dolorosas como las que se vieron en el control de ratas Figura 7.



Fig. 5.- Sección transversal de metatarso derecho de un animal controlado, con extenso hueso nuevo de proliferación periostal.



Fig. 6.- Articulación femorotibial derecha de una rata tratada con criogenina, con ausencia de la destrucción del cartilago articular e inflamación de la membrana sinovial.





Fig. 7.- Sección transversal de metatarso derecho de ratas tratadas con criogenina, con -- múltiples granulomas y destrucción grave de tejido óseo, con proliferación de nuevo hueso periostal.

Cuando efectuaron las pruebas sobre una rata y recibiendo en forma oral 100 mg/Kg de criogenina, aplicada diariamente comenzando el día 0 al 13 pero sin aplicar la inyección de *Mycobacterium butyricum*, al examinar los tejidos blandos no encontraron lesiones en el miocardio, hígado, pulmón, riñón, bazo y piel abdominal.

Es probable que se pueda detectar la posibilidad de un aparente actividad anti-inflamatoria porque junto con la poliartritis inducida, inmediatamente notaron una manifestación tóxica crónica.

En la tabla 5 además de resumir los resultados de otros compuestos que fueron escogidos como de referencia para el análisis, expone en cantidad decreciente el porcentaje restante en el último día de la prueba notándose claramente con cloroquina, atropina y clorpromazina; cambio total en el peso del cuerpo con cloroquina, hidrocortizona; reducción del

TABLA 5.- VALORACION ANTI-INFLAMATORIA INDUCIENDO POLIARTRITIS CRONICA EN RATAS.

Tratamiento	DOSIS		Inhibición del				Peso medio	Alteración media		Consumo medio:		
	oral	diaria	Cantidad	Resto	grosor	del cuerpo	en el peso del	Consumo medio:	Alimento, gr./agua, ml			
	mg/Kg	Día 13	Día 30	Día 13	Día 30	Día 0	Día 13	Día 30	Día 0	Día 13	Día 30	
Criogenina	100	5/5	5/5	63	55	166	+26	+71	14/24	17/27	16/30	
Fenilbutazona	100	5/5	5/5	58	41	201	+32	+65	18/33	20/33	17/32	
Indometacina	0.5	5/5	5/5	50	30	190	+32	+74	15/23	20/24	18/35	
Dimetilsulfoxide	... <sup>c</sup>	5/5	5/5	20	28	236	+22	+50	18/27	20/29	21/34	
Cloroquina	100	4/5	3/5	76	35	246	-70	- 6	17/26	5/12	36/20	
Hidro cortisona	100	5/5	5/5	66	43	249	-20	+18	18/25	16/23	18/29	
Aspirina	100	5/5	5/5	33	29	216	+15	+46	20/31	15/24	16/31	
Esparteina	100	5/5	4/5	16	4	242	+24	+56	23/35	17/26	16/26	
Citisina	25	5/5	5/5	42	1	213	+13	+70	22/31	20/27	17/38	
Acido Salicílico	100	5/5	5/5	8	2	209	+35	+83	20/32	20/29	16/39	
Papaverina	100	5/5	5/5	-6	10	166	+37	+91	... <sup>d</sup>	...	...	
Atropina	100	4/5	4/5 <sup>r</sup>	41	4	162	+35	+85	... <sup>d</sup>	...	...	
Clorpromazina	25	4/5	4/5	15	0	150	+26	+71	... <sup>d</sup>	...	...	
Controles	...	30/30	28/30	(10) <sup>e</sup>	(8) <sup>e</sup>	191	+27	+81	19/29	16/22	17/28	

consumo de comida y agua con cloroquina; un cambio notable en general en la apariencia y reactividad con la cloroquina, atropina, clorpromazina. La esparteina y el ácido cinámico no mostraron ninguna actividad semejante a la criogenina, - pero en cambio es posible que la citisina tenga algún potencial, aunque esta actividad parece ser de corta vida y correlacionada con una disminución del peso del cuerpo.

En esta valoración la criogenina, fenilbutazona e indometacina, resultaron ser convenientes agentes anti-inflamatorios considerándose más potente la indometacina que los otros dos.

VALORACION ANTI-PIRETICA EMPLEANDO PEPTONA PARA INDUCIR LA FIEBRE.- En esta valoración se emplearon ratones los cuales fueron aclimatados durante la noche en un cuarto controlando la temperatura a 23°. Durante el experimento les quitaron la comida a los animales, sin embargo, la administración del agua es libremente accesible.

La temperatura rectal de los animales la registraron - empleando un termómetro tipo termistor, la parte flexible - la insertaron a una profundidad de 5 cm y la mantuvieron -- así durante no menos de 35 segundos antes de tomar la temperatura.

Primeramente les provocaron fiebre a las ratas mediante la aplicación subcutánea en la región dorsal del cuello del animal con 0.6 ml de una solución acuosa al 5% de peptona triptica digestiva de caseína (N-Z amino tipo E triptica digestiva, Sheffield Chemical Co. 02-537) la cual fue clarificada por filtración e incubada a 37.5° durante 12 horas. Cuatro horas después de aplicar la inyección pirogénica se registraron otra vez las temperaturas.

Cualquier animal que halla mostrado una elevación de temperatura inferior a 1° no lo consideraron adecuado para la prueba como febril y fue descartado de ella.

Para cada uno de los tratamientos en grupo asignaron 5 ratas escogidas al azar, las drogas criogenina y aspirina -

las administraron oralmente y tomaron la temperatura rectal después de 1 a 2 horas de haber administrado la droga.

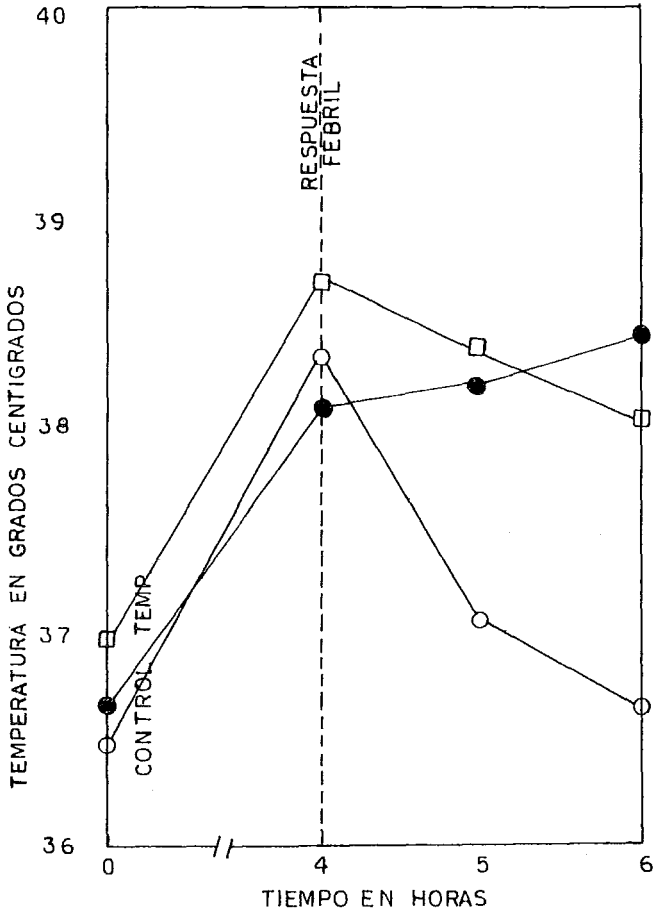
La Gráfica 16 representa los resultados de la valoración antipirética. Cuatro horas justamente antes de la administración de la droga no había diferencia significativa, entre la respectiva media y variación de los tres grupos experimentales reunidos al azar ( $P = > 0.050$ ). Después de 5 horas no había diferencia significativa entre los controles y las ratas tratadas con criogenina ( $P = 0.25 - 0.50$ ). Mientras que si había una diferencia significativa entre los controles y el tratamiento con aspirina ( $P = < 0.001$ ) y tratamiento con criogenina y grupos tratados con aspirina ( $P = < 0.001$ ). Subsecuentemente a las 6 horas hubo una diferencia muy significativa presente aún entre los controles no tratados y el tratamiento con aspirina ( $P = < 0.001$ ) y en el tratamiento con criogenina y aspirina ( $P = < 0.001$ ). Además hubo una diferencia muy significativa entre los controles y los animales medicamentados con criogenina ( $P = 0.01 - 0.025$ ).

La aspirina fue más efectiva en una dosis oral de 300 mg/Kg siendo totalmente abolida la respuesta febril con reducción de 69 - 91% de una a dos horas después de la administración de la dosis.

La criogenina base a una dosis oral de 100 mg/Kg fue - mucho menos efectiva pues solamente una reducción de 41% de la fiebre inducida por la peptona fue observada dos horas - después de la administración.

VALORACION ANALGESICA.- La valoración se basa en medir el latigazo producido por la cola de la rata y que es una - respuesta del estímulo standard termal. Para el experimento emplearon ratones sanos de cola no queratinizada.

Un conductor dolorimétrico modificado metro científico, Inc. ME-5410 fue utilizado para medir el latigazo. Para obtener resultados más exactos adaptaron al instrumento una - fotocelda y un marcador de tiempo eléctrico tanto para re-



GRAFICA 16.- EFECTOS DE LA CRIOBENINA Y ASPIRINA, ADMINISTRADAS POR VIA ORAL SOBRE LA FIEBRE INDUCIDA POR LA PEPTONA EN LA RATA. CLAVE: □ , 100mg/Kg DE CRIOBENINA; ○ , 300 mg/Kg DE ASPIRINA; ● , CONTROLES NO TRATADOS.

gistrar el tiempo como para medir el estímulo termal.

El aparato actúa en la forma siguiente las colas de -- las ratas se colocan sobre la entrada a la fotocelda, un -- circuito se cierra activando a ambos al calentador y al mar-- cador eléctrico. Posteriormente el alejamiento de la cola - hace que se abra el circuito y se pare el marcador del --- tiempo.

Los tiempos de reacción para cada animal fueron deter-- minados antes de la administración de la droga y después de 15, 30, 45 y 120 minutos de haber aplicado la inyección.

La criogenina la administraron oralmente continuando - la forma de administración establecida al principio del ex-- perimento. Sin embargo, todos los agentes y el grupo con--- trol los inyectaron intraperitonealmente como es usual en - análisis de analgésicos.

El porciento de analgesia lo calcularon considerando - una reacción de 20 segundos menos el control de la reacción de tiempo en segundos como el equivalente a 100% de analge-- sia.

Así tenemos que:

$$\% \text{ de analgesia} = 100 (R_x - R_0) / (20 - R_0)$$

en donde:  $R_0$  = tiempo de reacción en el pretratamiento en segundos.

$R_x$  = tiempo de reacción en el post-tratamien-- to en segundos a el tiempo especificado.

Cuando se expone el estímulo termal por más tiempo de - 20 segundos es considerado generalmente como poco aconseja-- ble, pues provoca un daño irreversible al receptor sensorial.

La Tabla 6 representa un resumen de la valoración anal-- gésica la cual se considera generalmente ser más empleada en la detección de narcóticos y analgésicos.

Tabla 6.- Intercepción Analgésica de Criogenina y Agentes de Referencia

Tratamiento	Dosis mg/Kg	% medio de analgesia				
		+15	+30	+45	+60	+120 min
Control	...	-2	-2	-6	-4	+2
Criogenina	100	-10 (0)	+17 (+)	+1 (±)	+3 (+)	-2 (±)
Fenilbutazona	100	+1 (±)	-2 (±)	-2 (±)	-2 (±)	-1 (±)
Morfina	10	+68 (+)	+86 (+)	+88 (+)	+80 (+)	+87 (+)

La criogenina aparentemente tiene una actividad analgésica en esta valoración, sin embargo, esto puede ser debido a la capacidad de bloquear las respuestas condicionadas, más bien que poseer cierta capacidad analgésica.

ANÁLISIS SIMULTANEO ANALGÉSICO Y ANTI-INFLAMATORIO.-

Una modificación de la técnica inicialmente desarrollada por Laballe y Tislow citado en (15) fue la que emplearon en este experimento. Utilizaron ratas para las pruebas las cuales durante la administración del nitrato de plata no pueden tomar alimento y durante la administración de la droga no pueden tomar agua.

A cada animal le inyectaron 0.2 ml de solución acuosa - al 1% recientemente preparada de nitrato de plata en la pata derecha, entre el tendón de Aquiles, tobillo y hueso del tendón por vía superficial en la planta de la pata.

Este procedimiento sólo permite que una insignificante cantidad de nitrato de plata penetre en la pata en áreas subsecuentemente limitadas por el edema, sugiriendo que un alivio local en un método humoral es la respuesta de la inflama

ción la acción mediadora endógena.

Los animales reaccionan diez y ocho horas después de -- haber aplicado la inyección de nitrato de plata con dolor -- producido en la pata inyectada el cual es valorado, esto requiere la repentina flexión manual de la articulación del to billo con registro de la vocalización y resistencia empleando una arbitraria escala de 0 a +3

- 0 = No lanzan alaridos y no ofrecen resistencia.
- +1 = Preceptibles alaridos, pero no ofrecen resistencia.
- +2 = Definidos alaridos y un poco de resistencia.
- +3 = Fuertes alaridos y violenta resistencia.

Los animales son contados por respuesta de dolor durante 5 horas a intervalos de cada hora y al final de este tiem po se determina el espesor de la pata.

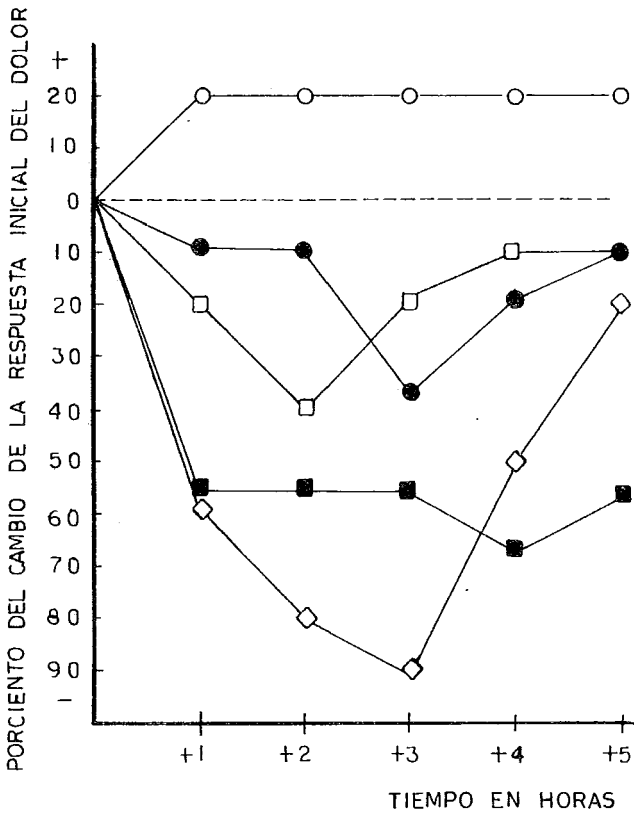
En la prueba puede fallar uno u otro animal debido a -- que producen una respuesta de dolor de +2 ó 3 y no muestran un edema marcado (técnica Caliper) siendo eliminado de la -- prueba.

Los resultados de este análisis nos indican que tanto - la criogenina como la fenilbutazona demostraron tener activi dad analgésica Gráfica 17, pero en ambos fue significativa-- mente menor el grado y duración que la respuesta producida - por la indometacina. Otro de los resultados obtenidos fue -- que ninguno de los agentes causan el grado de analgesia como el producido por la morfina.

En el tratamiento con criogenina, fenilbutazona e indometacina, durante 5 horas y empleando 4 ratas por cada trata miento causaron reducciones en el desarrollo del edema producido en la pata, 10, 11 y 8% respectivamente, mientras que - los animales tratados y controlados con morfina demostraron ligero aumento en la respuesta edematosa 0.4 y 2% respon si va mente.

En esta técnica se vió claramente que la morfina actúa lo mismo que como narcótico o como analgésico y que puede -- ser distinguida fácilmente de los compuestos anti-inflamato-





GRAFICA 17.- VALORACION ANALGESICA DE LA CRIOGENINA Y OTROS AGENTES DE REFERENCIA, ADMINISTRADOS POR VIA ORAL FRENTE AL DOLOR INDUCIDO CON NITRATO DE PLATA  
CLAVE : □ , 100 mg / Kg. DE CRIOGENINA ; - ■ , 100 mg / Kg DE INDOMETACINA ; ● 100 mg / Kg. DE FENILBUTAZONA ; ◇ 25 mg / Kg DE MORFINA ; ○ CONTROLES NO TRATADOS

rios no esteroideos porque tienen un componente analgésico

VALORACION ANTIFLOGISTICA USANDO UNA HISTAMINA QUE ----  
APLICADA EN FORMA INTRADERMAL PRODUCE MANCHAS.- Emplearon pa  
ra esta valoración conejos de ambos sexos sin anestésiar y -  
que obtuvieron de abastecimientos locales.

Colocaron los animales en tablas en posición supina, --  
les ataron perfectamente para evitar que se muevan y les qui  
taron el pelo abdominal 2 horas antes del experimento usando  
una máquina eléctrica. Una vez que terminaron de afeitarlos,  
marcaron el abdomen de cada animal con 8 a 10 regiones circu  
lares de aproximadamente 30 mm de diámetro usando una pluma  
suave para marcar al tacto.

Las drogas por analizar las inyectaron por vía intrape  
ritonial 30 minutos antes de aplicar en el centro de cada re  
gión marcada 0.3 ml de la inyección intradermal de difosfato  
de histamina al 0.02 mg/ml (como base). Veinticinco minutos  
después administraron por vía intravenosa azul de trypan a -  
dosis de 1 ml/Kg de una solución acuosa al 1%. El color de -  
la histamina induce las manchas azules las cuales se miden a  
+ 30, 60 y 180 minutos usando posteriormente el cuenta esca  
la de Hoppe y colaboradores citado en (15).

En pruebas que efectuaron premedicando el clorhidrato -  
de difenhidramina administrada por vía intraperitoneal 20 --  
mg/Kg observaron que parcialmente bloquea la respuesta infla  
matoria y obtuvieron resultados medios de 0, 0.8, 2.0 que no  
taron a +30, 60 y 180 minutos después de haber aplicado la -  
histamina.

Con la criogenina que también aplicaron por vía intrape  
ritonial a dosis de 10 mg/Kg observaron que bloqueó completa  
mente la acción de la histamina y obtuvieron resultados me--  
dios de 0, 0, 0.2 que notaron a +30, 60 y 180 minutos respec  
tivamente.

Los resultados de la valoración indicaron que la crioge  
nina ejerce una acción sedativa sobre el conejo.

VALORACION ANTI-INFLAMATORIA DE LA CRIOGENINA, INDUCIENDO EL EDEMA CON SEROTONINA, BRADIKININA E HISTAMINA.- En esta valoración se emplearon grupos de 5 ratas a las que primeramente les administraron la criogenina por vía oral en forma de suspensión y una hora después aplicaron en la aponeurosis de la planta cualquiera de los agentes flogísticos ya sea la serotonina o sulfato de creatinina 0.01 mg como base, bradikina sintética 0.05 mg o difosfato de histamina 0.15 mg como base, contenidas cada una de ellas en un volumen de inyección de 0.05 ml y por último midieron la inflamación producida por ellos a intervalos de 30 minutos durante 180 minutos.

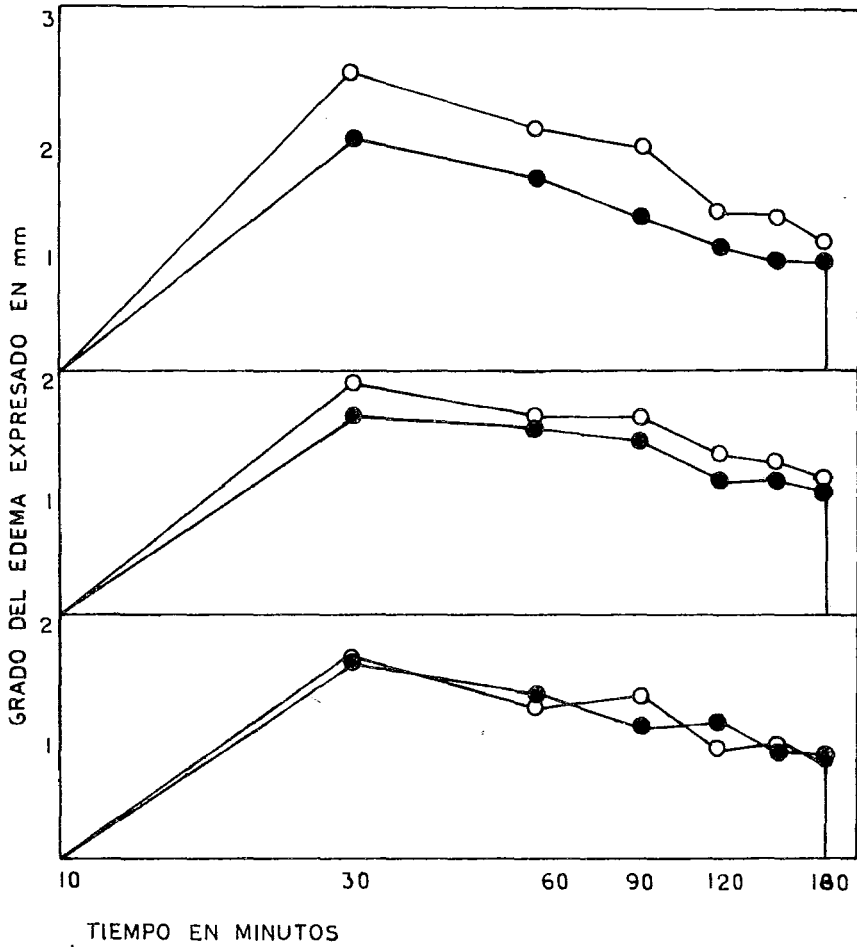
La progresión de la respuesta edematosa en el control, así como los efectos de la premedicación oral de criogenina sobre los agentes flogísticos se muestra claramente en la Gráfica 18.

En los edemas producidos por todos los agentes flogísticos se produjo la máxima respuesta aproximadamente dentro de los 30 minutos después de haber aplicado la inyección, además, se vió claramente que la inflamación producida por la histamina es mucho menor a la producida por la serotonina y bradikina sintética.

En los resultados de esta valoración se encontró que en el pretratamiento proporcionado por la criogenina estadísticamente significa que hubo protección  $P < 0.05$  contra el edema producido por la aplicación de la serotonina. No significa protección  $P > 0.05$  y fue visto contra el edema producido por la aplicación de la bradikina o histamina.

ESTUDIOS ANTAGONICOS SOBRE EL ILEON AISLADO DEL PUERCO DE GUINEA.- Puercos de Guinea que obtuvieron de abastecimientos locales se emplearon en este estudio. Los animales deben ser hembras virgenes sin ayunar, las cuales son sacrificadas por dislocación craneo-vertebral, inmediatamente les extirparon el íleon y lo segmentaron en secciones de 2 a 3 cm.

Un segmento lo colocaron en un calibrador con baño de -



GRAFICA 18.- EFECTOS DE LA PREMEDICACION ORAL DE CRIOGENINA, SOBRE EL EDEMA INDUCIDO CON SEROTONINA (SUPERIOR), BRADIKININA (CENTRO) y HISTAMINA (INFERIOR), CLAVE: ●, 100 mg/Kg DE CRIOGENINA; ○ CONTROLES NO MEDICAMENTADOS, CINCO RATAS POR CADA GRUPO DE ANALISIS.

50 ml de capacidad, llenándose éste con solución reciente -- tyrode a  $37.5^{\circ}$  y oxigenándose constantemente con una mezcla de gases compuesta de 95% de  $O_2$  y 5% de  $CO_2$ . Para evitar una mala interpretación producida por la contaminación de los an tagónicos emplearon segmentos recientes de fleon para estu-- diar los efectos de la criogenina con respecto a cada antagó nico.

En seguida fueron incubadas varias concentraciones de - acetato de criogenina,  $1 \times 10^{-9}$  o  $1 \times 10^{-7}$  M con el fleon por 5 minutos y por último se inducen contracciones submáximas re- producibles en el fleon por la adición al baño de concentra- ciones de  $1 \times 10^{-6}$  M de cualquiera de los siguientes antagóni- cos: serotonina, sulfato de creatinina, difosfato de histami na o bradikinina sintética y finalmente determinaron los --- efectos de la criogenina sobre las contracciones mencionadas.

Los resultados de este estudio indicaron que la crioge- nina a una concentración de  $1 \times 10^{-7}$  M en el baño casi bloquea ron totalmente las contracciones inducidas por los antagóni- cos de referencia: serotonina, histamina y bradikinina. En - el caso de bradikinina y serotonina la inhibición no pudo -- ser reversible por incremento en la concentración del antagó nico; sin embargo, una parcial reversión fue posible al tra- tar con la histamina.

VALORACION FIBRINOLITICA.- Emplearon el método de Kau- lla citado en (15) el cual recomienda la formación del coágu lo a partir de 5 ml de plasma humano por la adición de 0.25 ml de cloruro de calcio al 5%.

Los coágulos preformados los suspendieron en diferentes concentraciones molares de las drogas que se van a estudiar y después los incubaron a  $37^{\circ}$  durante 24 horas.

Las drogas que se emplearon en este estudio así como un resumen de los resultados se expresan en la Tabla 7.

Tabla 7.- Defensa Fibrinolítica de la Criogenina y Agentes de Referencia

---

---

	%					
	de lisis del coágulo a conc. M					
	0.04 <sup>a</sup>	0.03	0.02	0.01	0.008	0.005
Fenilbutazona	10	100	>95	0	0	0
Indometacina	10	90	... <sup>b</sup>	0	0	0
Criogenina	... <sup>b</sup>	... <sup>c</sup>	... <sup>c</sup>	... <sup>c</sup>	... <sup>c</sup>	0
Sulfato de esparteina	... <sup>b</sup>	... <sup>d</sup>	... <sup>d</sup>	... <sup>d</sup>	... <sup>d</sup>	... <sup>d</sup>
Difosfato de cloroquina	0	0	0	0	0	0

---

---

<sup>a</sup>La preparación de las drogas se hizo pesando suficientes cantidades de éstas para obtener una solución 0.05 M y luego diluyendo la cantidad necesaria a 10 ml para tener las molaridades expresadas en la tabla. Para facilitar la solubilidad o ajustar el pH final a 7.4 se emplearon NaOH ó HCl.

Debido a que la criogenina, fenilbutazona e indometacina no fueron totalmente solubles a pH 7.4 se emplearon mejor soluciones saturadas a 37.5° y se filtraron hasta quedar completamente claras en filtros de vidrio.

<sup>b</sup>Concentraciones que no fueron analizadas.

<sup>c</sup>Lisis no detectables; notando algo de nebulosidad en el líquido de perfusión.

<sup>d</sup>Lisis no detectables; notando algo de formación de sedimento.

La valoración de la actividad fibrinolítica fue hecha al final de la incubación y expresada como % de lisis del coágulo, aún cuando también se llegó a observar alguna nebulosidad en la solución, contracción del coágulo o formación de sedimento.

Los resultados de esta valoración indicaron que las diferentes concentraciones de criogenina, esparteina y cloroquina no producen visibles lisis de los coágulos preformados. En la incubación de las soluciones con criogenina fue observado un poco de nebulosidad y con soluciones de esparteina - un sedimento blanco fue aparente.

Estos fenómenos pueden ser posibles considerando la posible interacción entre la solubilidad de la droga y la sustancia macromolecular intercelular del coágulo.

También encontraron que la fenilbutazona e indometacina producen variables grados de lisis del coágulo.

## X.- PROPIEDADES TERAPEUTICAS

La *Heimia salicifolia* posee una interesante y variada - actividad farmacológica típica de las plantas alucinógenas, con efectos auditivos y no visuales.

Los indígenas le atribuyen propiedades sagradas o sobre naturales y afirman que les ayuda a recordar hechos ocurridos muchos años antes como si hubieran sucedido el día anterior, a tal grado que les es posible recordar hasta cosas -- acaecidas antes del nacimiento, al ingerir el cocimiento de de dicha planta (3).

Se emplea en infusión utilizando únicamente las hojas, como ligero estomáquico para facilitar la digestión (21), como estimulante del apetito, contra la disentería, para combatir la enterocolitis de carácter benigno y al exterior contra las úlceras (18). Ejerce una acción especial sobre el útero y se administra con éxito en las afecciones atónicas de esta viscera y sus anexos (26).

En cocimiento y agregándole una pequeña cantidad de copal, es muy eficaz para combatir la bronquitis y todas las - afecciones del pecho.

Alas citado en (18) nos indica que el extracto alcohólico es muy empleado como hemostático. Standley citado en (18) dice que en medicina es muy empleado como emético, antisifilítico febrífugo, hemostático, diurético, laxante, vulnerario, tónico, astringente y recomienda el uso de la infusión en el tratamiento para la curación de úlceras y pruritis causada por rhus dermatitis, siendo muy efectiva (7). Palmer citado en (22) informa que en Tamaulipas el cocimiento de la - planta es empleado para lavados contra los efectos de la pizón que produce la planta llamada mala mujer (*Toxicodendron radicans*). Dragendorff citado en (5) dice que las hojas y tallos son empleados como diurético, diaforético, purgante y - antisifilítico.

Las recién paridas la emplean al interior tomando el --



jugo, este lo obtienen machacando la planta con agua, luego la exprimen y el jugo resultante lo calientan y lo ingieren previamente endulzado; al exterior la usan poniéndola también machacada en el baño que acostumbran tomar después del parto, con el objeto de reducir la cintura y para curar la inflamación de la matriz. (6).

Uno de los más interesantes efectos atribuidos a esta planta, es el que produce el jugo fermentado, dando un ligero efecto psicossomimético. La bebida se prepara humedeciendo las hojas secas con agua, estas se maceran por un día, - se exprimen y el jugo obtenido se deja fermentar por exposición al sol y es frecuentemente fortificado con bebidas alcohólicas. (25).

La bebida resultante tiene propiedades ligeramente intoxicantes, sin efectos secundarios desagradables; provoca una ligera sensación de aturdimiento seguido de una euforia soñolienta caracterizada por un escurrimiento y una gran -- contracción del espacio circundante, modificación de la sensación de tiempo y lugar, eficiencia en la memoria y un estado de irrealidad. Produce una embriaguez, durante la cual los objetos se ven amarillos y los sonidos llegan a los --- oídos como si se produjeran a gran distancia. (16,18).

## XI.- CONCLUSIONES

1.- En los análisis químicos preliminares se encontró, que la planta contiene: principios amargos, clorofila, materia grasa, resina soluble en éter, resina soluble en alcohol, tanino, materia colorante amarillo rojiza, materia extractiva, goma, almidón, glucosa y huellas de aceite esencial; además potasa, sosa, cal, magnesia, fierro y ácidos carbónico, sulfúrico, clorhídrico, fosfórico y silícico.

2.- La planta contiene diez alcaloides: litrina, criogenina, sinicuichina, heimina, sinina, nesodina, lifolina, heimidina, abresolina, anelisina.

3.- Se definió que los principales alcaloides, son compuestos mononitrogenados, que exhiben una función carbonilo en el infrarrojo a 5.8 - 5.9  $\mu$  y que contienen de cinco a seis oxígenos.

4.- Se pueden identificar los alcaloides, lo mismo que sus derivados por medio de: su punto de fusión, rotación óptica, absorción en el ultravioleta, absorción en el infrarrojo, cromatografía en capa fina, cromatografía bidimensional y poder de difracción de rayos X.

5.- En los sistemas farmacológicos empleados para el estudio de los alcaloides, se encontró que el principal alcaloide constituyente de la planta, la criogenina, imita cualitativa y cuantitativamente la acción de los extractos totales de los alcaloides de la *Heimia salicifolia*. Esta es muy interesante debido a que tiene la propiedad de inducir una ligera depresión en el sistema nervioso central, en animales sin anestesiar.

6.- En los métodos de valoración anti-inflamatoria, la criogenina demostró tener la propiedad de ser un anti-inflamatorio efectivo y poseer actividad, en bajo orden, como antipirético y analgésico.

7.- Se comprobó que la criogenina bloquea la serotonina,

bradikinina e histamina.

8.- Se demostró también, que la criogenina no es efectiva como agente fibrinolítico.

9.- Se encontró que la planta posee una interesante y muy variada actividad farmacológica, típica de los alucinógenos, con efectos auditivos y no visuales.

10.- Existe suficiente información para afirmar que presenta propiedades alucinógenas sobre el ser humano.

11.- La legislación mexicana considera a esta planta como estupefaciente.

## XII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Appel, H., A. Rother y A.E. Schwarting. Alcaloides de la *Heimia salicifolia*. II. Separación de Nesodina y Lifolina y su Correlación con otros Alcaloides de las Litráceas. *Lloydia* 28: 84-89. 1965.
- 2.- Baldini, F. Contribución al Estudio de la *Heimia salicifolia* (H.B.K.) Link et Otto. Universidad de Tucumán, Argentina 2: 5-12. 1929.
- 3.- Boletín de Estupefacientes. Naciones Unidas N.Y. Vol. XXII: 35-36. 1970.
- 4.- Blomster, R.N., A.E. Schwarting y J.M. Bobbitt, Un análisis de los Alcaloides de la *Heimia salicifolia* Link y Otto. *Lloydia* 26: 206. 1963.
- 5.- Blomster, R.H., A.E. Schwarting y J.M. Bobbitt, Alcaloides de la *Heimia salicifolia*. I. Un informe preliminar. *Lloydia* 27: 15-24. 1964.
- 6.- Calderón, J.B. Estudio sobre el arbusto llamado sinicuiche. Tesis de Farmacia. Anales del Instituto Médico Nacional. México. 2: 34-42. 1897.
- 7.- Douglas, B., J.L. Kirkpatrick, R.F. Raffauf, O. - Ribeiro y J.A. Weisbach. Problemas en Quimotaxonomía. II. El principal alcaloide del género *Heimia*. *Lloydia* 27: 25-31. 1964.
- 8.- Emboden, W.A. Jr. *Narcotic Plants*. 37 y 54. -- 1972.
- 9.- El-Olemy, M.M., S.J. Stohs y A.E. Schwarting. -- Heimidina, un nuevo alcaloide de la *Heimia salicifolia*. --- *Lloydia* 34: 439-441. 1971.
- 10.- Ferris, J.P., C.B. Boyce, R.C. Briner, B. Douglas, J.L. Kirkpatrick y J.A. Weisbach. Alcaloides de las litráceas. Estructura y estereoquímica de los principales alcaloides del *Decodon* y *Heimia*. *Chemical Abstracts* 65: ----- 17013-17015. 1966.
- 11.- Guerra, F. y A. Olivera. *Las plantas Fantásticas*

de México. Imprenta del Diario Español, México. 71-74. -- 1954.

12.- Hörhammer, R.B., A.E. Schwarting y J.M. Edwards. La Estructura de la Sinicuichina. *Lloydia* 33: 483. 1970.

13.- Hörhammer, R.B., A.E. Schwarting y J.M. Edwards. La estructura de Abresolina y Anelisina, dos nuevos alcaloides de la *Heimia salicifolia*. *Lloydia* 36: 439. 1973.

14.- Kaplan, H.R. y M.H. Malone. Un Estudio Farmacológico de Nesodina, Criogenina y otros Alcaloides de la *Heimia salicifolia*. *Lloydia* 29: 348-359. 1966.

15.- Kaplan, H.R., R.E. Woelke, M.H. Malone. Valoración Anti-Inflamatoria de la Criogenina. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 56: 1385-1392. 1967.

16.- Martínez, M. Catálogo Alfabético de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas que existen en México. Publicado por la Dirección de Estudios Biológicos Dependiente de la Secretaría de Agricultura y Fomento, México. 283 y 563. 1923.

17.- Martínez, M. Catálogo de nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas. Ediciones Botas, México. 214 y 437. 1937.

18.- Martínez, M. Las Plantas Medicinales de México. 4<sup>a</sup> Edición. Ediciones Botas, México. 293-295. 1959.

19.- Raffauf, R.F. A Handbook of Alkaloids and Alkaloid - Containing Plants. Boston, Mass. 1970.

20.- Rother, A., A.E. Schwarting. Las fenilquinolizidinas de las plantas jóvenes de *Heimia salicifolia*. *Lloydia* 38: 477-488. 1975.

21.- Santa María, J.F. Diccionario de Mexicanismos. Editorial Porrúa, México. 975. 1959.

22.- Standley, P.C. Trees and Shrubs of Mexico. Contributions from the United States National Herbarium, Washington 23: 1025-1026. 1924.

23.- Standley, P.C. and W.O. Louis 1961-1963. Flora - of Guatemala. 24: 263. 1961-1963.

24.- Stecher, P.G. The Merck Index. Rahway, N.J. -- U.S.A. 8<sup>a</sup> Edicion. 808. 1968.

25.- Varro, E.T. Jr. Las propiedades Fisiológicas y Químicas causantes de que las plantas formen algún habito. Lloydia 29: 275-278. 1966.

26.- Villada, M.M. Gaceta Médica de México. Apuntes Acerca de Plantas Indígenas Empleadas en la Medicina. Vol. XXV: 336-339. 1890.