

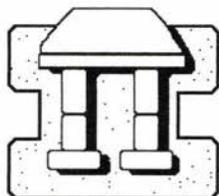


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

Caracterización química preliminar y DL_{50}
de fracciones de alcaloides obtenidos de
semillas de *Erythrina herbacea* L.

T R A B A J O D E
DESEMPEÑO ESCOLAR
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O
P R E S E N T A
INNA PAOLA PLAZA RESÉNDIZ



IZTACALA

DIRIGIDO POR:
M. en C. MARÍA EUGENIA GARÍN AGUILAR

LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA, EDO. DE MÉX. 2003



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.

“La ciencia no busca certezas absolutas,
sino que acepta grados de probabilidad
en la interpretación correcta de un fenómeno.”

José Sarukhán

El presente trabajo corresponde a la opción de **Titulación por Desempeño Escolar**, propuesta por el Consejo Académico Auxiliar de la Carrera de Biología, y que fue aprobada en la sesión del H. Consejo Técnico de la Carrera de Biología de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México, en sesión correspondiente al mes de mayo del 2001.

Esta opción de titulación trata de promover entre los alumnos una motivación más en cuanto a su dedicación y óptimo desempeño en el transcurso de sus estudios de licenciatura, de acuerdo con lo establecido en el marco de la Legislación Universitaria.

El promedio que se pide para otorgar esta distinción es de 9 (nueve) o más, considerando que en el historial académico se podrá tener no más de tres extraordinarios presentados.

Consiste en la elaboración del informe, ampliado y corregido, que el alumno desarrolló en séptimo y octavo semestres de la Carrera durante los módulos del Laboratorio de Investigación Científica y Tecnológica (LICyT) I y II respectivamente, y se presenta como prueba escrita y oral en el examen profesional.

En virtud de lo anterior la estructura y calidad del presente trabajo escrito cuenta con todos los elementos metodológicos y el rigor académico establecidos.

Dedico este trabajo con el placer del agradecimiento a...

... mis padres Susana y Ricardo, por
todo su apoyo, confianza y sobre todo,
por darme
la libertad de ser yo misma.

... Mayi quien me guió por el mejor
camino y me heredó su amor
por la naturaleza.

... mi hermana Ingrid, con quien he
compartido mi tiempo y espacio.

... Armando por ser mi mejor amigo y
por estar siempre a mi lado.

¡Gracias!

Agradecimientos

Por su calidad, pertinencia educativa, historia y porvenir, agradezco infinitamente a la Universidad Nacional Autónoma de México, la oportunidad que me brindó de crecer y formarme a la luz de los mejores y más destacados investigadores, docentes y divulgadores del conocimiento del país.

Muy en especial, quiero hacer patente mi reconocimiento por su esfuerzo y dedicación a todos y cada uno de mis profesores, de la Facultad de Estudios Superiores IZTACALA, quienes con su tiempo y entusiasmo permanente, infundieron en mí el amor por la ciencia.

Es así, que en afán de reconocerlos, y sin el deseo de omitir a nadie, especialmente agradezco a:

Mara y Gustavo, por su amistad, su ejemplo de vida y sobre todo, por la confianza y paciencia que siempre me han tenido.

A los revisores de este trabajo, Dr. José Guillermo Ávila Acevedo, M. en C. David Segura Cobos y Biol. Edith López Villafranco, por sus atinadas y objetivas observaciones, que más que corregir, enriquecieron este trabajo.

A Felipe, por tu amistad, por apoyarme y confiar siempre en mí.

A Roberto Rico, por contagiarme su pasión por la biología.

A Ramón V. Moreno, por sus atinados consejos y por todo el apoyo que desde la Jefatura de la Carrera me brindó.

A Marcela P. Ibarra, por su amor a los animales y su ejemplo de disciplina.

A mis maestros de secundaria, porque gracias a ellos decidí mi vocación.

Y a todos aquellos que de alguna manera, compartieron conmigo y son parte ya, de una de las mejores etapas de mi vida.

A todos, mil gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDO

IZT.

ÍNDICE DE CONTENIDO	VI
ÍNDICE DE CUADROS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	X
RESUMEN	XI
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	4
EL GÉNERO <i>Erythrina</i>	4
Distribución	4
Ubicación Taxonómica	5
Descripción Botánica	5
Usos	6
Sombra y ornato	6
Artesanías y otros usos	7
Medicinal	7
LA ESPECIE <i>Erythrina herbacea</i>	9
Distribución	9
Ubicación taxonómica	10
Sinonimia	10
Nombre común	11
Descripción botánica	11
Usos	13
Cultivo	13
Importancia ecológica	14
Toxicidad	15
LOS ALCALOIDES	15
Distribución y Función de los	
Alcaloides en la Planta	17
Alcaloides del Género <i>Erythrina</i>	18
Farmacología de los Alcaloides	
del Género <i>Erythrina</i>	21
DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO	24
La Huasteca	24
San Pedro de las Anonas	25

JUSTIFICACIÓN	28
OBJETIVOS	30
OBJETIVO GENERAL	30
OBJETIVOS PARTICULARES	30
MATERIAL Y MÉTODO	31
1. TRABAJO DE CAMPO Y DE GABINETE	31
a) Colecta de la planta y semillas	31
b) Registro de uso	33
c) Determinación taxonómica	33
2. TRABAJO EXPERIMENTAL	33
a) Extracción de fracciones alcaloideas	33
Fracción hexánica	34
Fracción metanólica	34
Fracción alcaloides hidrolizados	34
b) Caracterización fisicoquímica	34
Cromatografía en capa fina (ccf)	34
Análisis infrarrojo (IR)	35
Análisis diferencial calorimétrico (ADC)	35
c) Evaluación de la Toxicidad	35
Dosis letal media (DL ₅₀)	35
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
TRABAJO DE CAMPO Y DE GABINETE	37
Colecta de ejemplares y registro de uso	37
Determinación taxonómica	38
TRABAJO EXPERIMENTAL	38
Extracción de fracciones alcaloideas	38
Caracterización fisicoquímica	41
Cromatografía en capa fina (ccf)	41
Espectroscopia de infrarrojo (IR)	42
Análisis diferencial calorimétrico (ADC)	45
Evaluación de la Toxicidad	51
Dosis letal media (DL ₅₀)	51
CONCLUSIONES	58
RECOMENDACIONES	60
LITERATURA CITADA	62

ANEXO 1	72
TÉCNICAS DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO	72
Cromatografía en capa fina (ccf)	72
Análisis infrarrojo (IR)	74
Análisis diferencial calorimétrico (ADC)	76
ANEXO 2	79
EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD	79
Dosis letal media (DL ₅₀)	79

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Contenido en porcentaje de la fracción de alcaloides libres e hidrolizados en semillas del género <i>Erythrina</i> .	40
Cuadro 2. Valores de R_f de las manchas que dieron reacción positiva para alcaloides en cada una de las fracciones.	41
Cuadro 3. Valores de IR V_{max}^{KBr} cm^{-1} para las diferentes fracciones alcaloideas.	43
Cuadro 4. Valores de los picos endotérmicos y exotérmicos que se registraron en el análisis diferencial calorimétrico para β -eritroidina y para las fracciones alcaloideas.	45
Cuadro 5. Valores de DL_{50} para las tres fracciones alcaloideas.	51
Cuadro 6. Reportes de DL_{50} de algunos alcaloides libres y fracciones alcaloideas de <i>Erythrina</i> .	55
Cuadro 7. Intervalos de IR $\tilde{\nu}$ cm^{-1} de algunas moléculas orgánicas.	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución mundial del género <i>Erythrina</i> .	4
Figura 2. Distribución de <i>Erythrina herbacea</i> L.	9
Figura 3. <i>Erythrina herbacea</i> L var. rosa.	10
Figura 4. Inflorescencia de <i>Erythrina herbacea</i> L. var. rosa.	11
Figura 5. Detalle de una flor de <i>Erythrina herbacea</i> L. var. rosa.	12
Figura 6. Semillas y vaina de <i>Erythrina herbacea</i> L. var. rosa.	12
Figura 7. Hojas de <i>Erythrina herbacea</i> L.	12
Figura 8. Cultivo de <i>Erythrina herbacea</i> L.	13
Figura 9. <i>Erythrina herbacea</i> L.	14
Figura 10. Estructura general de los alcaloides de <i>Erythrina</i> .	20
Figura 11. Mapa de la zona de colecta.	26
Figura 12. Diagrama de flujo de la investigación.	32
Figura 13. Espectro Infrarrojo de: β -eritroidina, fracción metanólica y alcaloides hidrolizados.	44
Figura 14. Análisis térmico de β -eritroidina.	47
Figura 15. Análisis térmico de la fracción metanólica.	48
Figura 16. Análisis térmico de la fracción hexánica.	49
Figura 17. Análisis térmico de la fracción de alcaloides hidrolizados.	50
Figura 18. Curva dosis-respuesta de DL_{50} de la fracción metanólica.	52
Figura 19. Curva dosis-respuesta de DL_{50} de la fracción hexánica.	53
Figura 20. Curva dosis-respuesta de DL_{50} de la fracción de alcaloides hidrolizados.	54

RESUMEN

En el poblado de San Pedro de las Anonas, Municipio de Aquismón, S.L.P., la comunidad Huasteca Tének, da el nombre de "Pemoche silvestre" a la *Erythrina herbacea*, una planta poco estudiada, pero que en ese lugar es empleada como "tranquilizante de los nervios". Con la intención de iniciar la caracterización química preliminar de las fracciones alcaloideas extraídas de las semillas de esta planta y la evaluación de su toxicidad, se realizaron visitas al poblado durante cuatro días de cada mes (de enero de 1998 a diciembre de ese mismo año), para coleccionar los ejemplares botánicos y semillas, así como para obtener información sobre sus usos. Se procedió a la determinación taxonómica, misma que se complementó con la revisión bibliográfica existente sobre la especie. Los alcaloides crudos obtenidos de las semillas se analizaron por cromatografía en capa fina (ccf), análisis infrarrojo (IR) y diferencial calorimétrico (ADC) y se evaluó la toxicidad mediante el cálculo de la dosis letal media (DL_{50}). El contenido de alcaloides para cada una de las fracciones fue el siguiente: 0.0411%, 0.1471% y 0.245% para la fracción hexánica, metanólica y de alcaloides hidrolizados respectivamente. En la ccf la fracción hexánica presentó valores de $R_f = 0.69, 0.288$ y 0.316 ; la metanólica $R_f = 0.032, 0.057$ y 0.299 ; y la de alcaloides hidrolizados $R_f = 0.05$ y 0.294 ; estos datos sugieren la presencia del alcaloide β -eritroidina $R_f = 0.303$ en la fracción metanólica. El ADC indica la posible presencia del alcaloide β -eritroidina únicamente en la fracción metanólica. Los picos obtenidos en el espectro de infrarrojo (IR) por su parte, sugieren la presencia de los grupos funcionales de β -eritroidina en la fracción metanólica y en la fracción de alcaloides hidrolizados. La DL_{50} de las fracciones administradas vía intraperitoneal en ratones fue de 418.2 mg/kg para la fracción hexánica, de 78.45 mg/kg para la fracción metanólica y de 34.21 mg/kg para la fracción de alcaloides hidrolizados. La información de estos tres análisis aporta datos preliminares sobre la presencia de β -eritroidina en las semillas de *Erythrina herbacea*. Los estudios fisicoquímico y farmacológico realizados, así como la información proporcionada por curanderos y parteras sobre el uso de esta planta son importantes, pero debe continuarse con el aislamiento, purificación y caracterización de los alcaloides presentes en las semillas de esta especie así como con su evaluación farmacológica, lo que permitirá confirmar o descartar los múltiples usos que la medicina tradicional mexicana así como cherokee le atribuyen a esta especie, ya que éstos difieren ampliamente entre sí lo cual hace suponer que la información podría complementarse, dadas las formas de transmisión del conocimiento y el estado actual de dichas culturas.

INTRODUCCIÓN

La flora de México Incluye un gran número de especies procedentes tanto del Hemisferio Norte como del Hemisferio Sur (Rzedowski, 1992). Este hecho, así como la variedad de ambientes presentes en nuestro país, proporciona una gran diversidad de hábitats, colocándolo como el único "país tropical" con una reconocida megadiversidad (Toledo, 1988), en la cual se han estimado 30,000 especies de plantas, estando así entre los primeros lugares en cuanto a riqueza se refiere.

Los recursos vegetales se han utilizado en forma intensiva por el hombre para solventar sus necesidades de alimento, vestido, vivienda, salud, entre otros. Desde épocas ancestrales las plantas han jugado un papel importante como remedios o tratamientos contra enfermedades. En 1988, Estrada, Hernández, Rojas, Mark, y Casina, publicaron una revisión del Códice Florentino, obra escrita entre los años 1548 y 1585 por Fray Bernardino de Sahagún, quien obtuvo, de indígenas de la cultura Azteca, la información etnobotánica de 724 plantas, de las cuales a 266 se les refiere con uso medicinal.

Desde entonces y hasta la actualidad, han sido varios los estudios encaminados a conocer las propiedades que la medicina tradicional mexicana atribuye a las plantas. En este sentido, tan solo el programa IMSS-COPLAMAR (hoy IMSS Oportunidad) dio a conocer un total aproximado de 2000 plantas curativas diferentes, de las que, seguramente una gran parte fueron empleadas por los antiguos indígenas, ya que muchas de ellas son originarias de México y existen desde tiempos inmemoriales (Gali, 1985).

Es por esto que en la medicina tradicional, las plantas tienen gran demanda, ya que se consideran de mucha importancia por su eficacia y sencillez de preparación, así como por su bajo costo y fácil adquisición por la gente de escasos recursos económicos (Bautista y González, 1980).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la medicina tradicional como “la suma de todos los conocimientos y prácticas, explicables o no, usados en el diagnóstico, prevención y eliminación del desequilibrio físico, mental o social con base en la observación y experiencia práctica, transmitidos de generación en generación oralmente o por escrito” (Lozoya, 1989).

El estudio de la medicina tradicional es importante porque permite recuperar el acervo cultural en el campo de la botánica y la salud, utilizado por las comunidades indígenas para su bienestar desde tiempos remotos (Bautista y González, 1980).

Los recursos propios del país pueden de esta manera ser soluciones al agudo problema de la salud en México. Sin embargo, la cultura médica popular conlleva necesariamente a su investigación científica para poder crear la base de un conocimiento que permita, no solo rescatar la cultura, sino sobre todo perfeccionarla y adecuarla hacia el futuro (Lozoya, 1989).

Nuestro país es poseedor de una amplia diversidad cultural representada actualmente, de acuerdo con datos del Instituto Nacional Indigenista (I.N.I., 1996), por 62 etnias, cada una con su conocimiento médico tradicional, recursos y prácticas terapéuticas, muchos de ellos aun no aceptados por el conocimiento médico alópata. Una de esas etnias es la Huasteca “teenek” o “tének” (que significa aquí hombre, hombre de aquí), de la localidad de San

Pedro de las Anonas, Municipio de Aquismón, San Luis Potosí, que de acuerdo con Ávila, Suárez y Díaz (1994), utilizan como parte de su dieta las flores cocinadas de *Erythrina herbacea*, planta que ellos llaman "Pemoche silvestre". Además, de acuerdo con los reportes de las visitas realizadas por Garín y Valencia en 1993 (comunicación personal), la infusión de hojas y flores de *Erythrina herbacea* o de *Erythrina americana* ("Pemoche cultivado") es utilizada como tranquilizante para el tratamiento de la "locura".

La necesidad de rescatar la medicina tradicional que se practica entre los habitantes de los grupos étnicos del país, es considerada por Lozoya (1989) como "una tarea de la intelectualidad y el Gobierno, que deberían buscar la forma de reivindicación de nuestras raíces", contrastándola con la práctica médica occidental con una posible complementariedad de ambas culturas médicas. Además es importante que a partir de la información proporcionada por estas comunidades exista la posibilidad de encontrar alternativas farmacológicas, mediante el desarrollo de nuevos medicamentos derivados de plantas, por medio de la extracción, aislamiento, purificación y uso de metabolitos secundarios (como son fenoles, terpenos, esteroides y alcaloides), tomando como base la información proporcionada por estas comunidades.

En virtud de lo anterior, en el presente trabajo se inició la evaluación química y de toxicidad de las fracciones alcaloideas de semillas de *Erythrina herbacea*, una planta poco estudiada, pero que por las características y propiedades que le atribuye la comunidad Tének de San Pedro de las Anonas, se sabe que puede ser de interés farmacológico.

ANTECEDENTES

EL GÉNERO *Erythrina*

Distribución

El género *Erythrina* (del griego *Erythros* que hace referencia al color rojo), pertenece a la subfamilia Papilionidae de la familia de las Leguminosas (Fabaceae) y consta de 113 especies de árboles, arbustos y hierbas, con inflorescencias y semillas rojas o anaranjadas, distribuidas en regiones tropicales y semitropicales del planeta (Musálem, 1992). De ellas, 31 especies corresponden a África, 12 a Asia y Oceanía, y aproximadamente 70 se encuentran en el continente Americano (Neill, 1988) (Figura 1), de estas últimas se han identificado 27 para México, aunque existe la probabilidad de que existan especies sin identificar.

Siendo este género de fácil propagación por el método de estaca, y considerando que tiene una amplia capacidad de aclimatación, se encuentra distribuido en varios estados del país, entre los que destacan Puebla, Morelos, Guerrero, Chiapas, Tabasco, Oaxaca, San Luis Potosí, Veracruz, Estado de México y el Distrito Federal (Musálem, 1992).

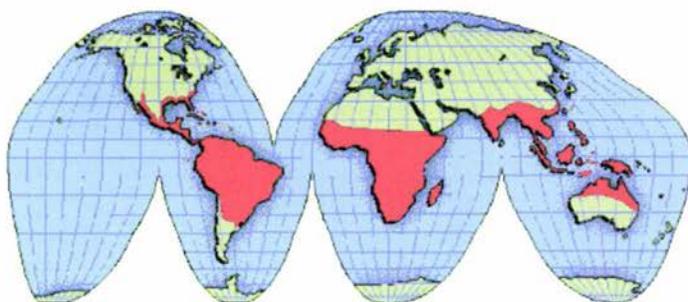


Figura 1. Distribución mundial del género *Erythrina* (modificado de Neill, 1988).

Ubicación Taxonómica

- Reino:** Plantae
División: Embriophita siphonogama
Subdivisión: Angiospermae
Clase: Dicotyledoneae
Orden: Rosales
Familia: Leguminosae
Género: *Erythrina*

Descripción Botánica

Linneo describió por primera vez este género en 1753 y desde entonces han sido varios los investigadores en todo el mundo que lo han caracterizado, sobresaliendo el estudio de Krukoff y Barneby (1974) quienes realizaron una revisión del género y enlistaron 108 especies y 9 híbridos.

A pesar de la gran diversidad morfológica del género *Erythrina*, existen ciertas características botánicas que permiten distinguirlas fácilmente en el campo. Los árboles o arbustos alcanzan alturas que oscilan entre los 4 y 12 metros, su tallo es generalmente recto de corteza irregular, con un color pardo amarillento y ramas espinosas, madera blanda y ligera compuesta de fibras longitudinales oscuras y brillantes. Además de irregular, la corteza es delgada y áspera al tacto. Las hojas son pinadas y trifoliadas de 10 centímetros de largo, casi cordiformes o deltoideas, y en la mayoría de los casos glabras, provistas de estípulas (Sánchez, 2000).

Son árboles caducifolios de follaje frondoso de color verde claro, que en ciertas épocas del año presentan únicamente sus características flores termi-

nales de verticilos pentámeros o tetrámeros con cáliz y corola de color rojo vivo a manera de racimo, en conjuntos terminales cónicos que dan la apariencia de penca. El androceo consta de 10 estambres repartidos en 2 grupos, uno de 9 y otro aislado, en tanto que el gineceo está rodeado en su base por un nectario que consta de un ovario alargado y comprimido, con un estilo simple que termina en un estigma pequeño adaptado a la polinización por aves. Sus frutos son a manera de vainas que, dependiendo de la especie, varían en tamaños que van desde los 6 hasta los 25 centímetros, con estrangulamientos que limitan a los lóculos donde se alojan las semillas, las cuales son de color rojo vivo, escarlata o anaranjado como las flores. Su testa, carente de endosperma es lisa y brillante, de un tamaño usual de 8 x 5-7 milímetros (Standley, 1982).

Usos

Sombra y ornato. En México y el resto de América Latina es común ver árboles de *Erythrina* sp. proporcionando sombra a cultivos perennes de cacao y café, ya que los protegen de las temperaturas extremas, de la radiación solar, del viento y de fuertes lluvias (Sánchez, 1992).

En nuestro país, los árboles de este género se han empleado como planta de sombra y ornato en calles, parques y jardines ya que son elementos estéticos, principalmente por la forma y color de sus flores; incluso Granados y Mendoza (1982) lo recomiendan, junto con otros árboles, como una especie idónea para desarrollos urbanos, ya que presenta elementos botánicos tales como un tronco recto, raíces firmes y sobre todo por el poco cuidado que requiere, además proporciona diferentes apariencias en los cambios estacionales y a través de su tiempo de vida, que engrandecen y complementan los elementos arquitectónicos e introducen naturaleza al bosque urbano.

Asimismo, las especies de *Erythrina* son poco utilizadas como cercos vivos; sin embargo, Maldonado (en Neill, 1993) observó en Tabasco 35 especies que son utilizadas con este fin, sobresaliendo el Municipio de Teapa, donde el 10% de los predios están cercados por este tipo de árboles.

Artesanías y otros usos. Como ya se mencionó, la madera de este género es ligera y blanda, lo que la hace muy maleable. Por ello es utilizada localmente como sustituto de corcho para tapones de botella, elaboración de esculturas y máscaras, en la fabricación de cajas, lápices, juguetes o como piso. También es utilizada en la fabricación de papel, como combustible e incluso como colorante para ropa, pues hervida desprende un tinte amarillo (Russo, 1990), el cual fue encontrado junto con otro material colorante de color rojo por Prieto en 1890 (Martínez, 1996).

Además de utilizarse para hacer esculturas y máscaras, diversas partes de la planta son empleadas en la fabricación de artesanías, destacando las semillas con las cuales se elaboran collares, pulseras, aretes y juguetes, y en algunos casos para elaborar adornos similares a los utilizados por nuestros antepasados prehispánicos e incluso como complemento para amuletos de tradiciones orientales (Aguilar y Zolla, 1982; Lozoya y Lozoya, 1982; Niembro, 1990).

Medicinal. Ciertas especies de *Erythrina* contienen propiedades medicinales, por lo que han sido utilizadas en diversas regiones y etnias del mundo para curar algunos padecimientos.

Ghosal, Dutta y Bhattacharya (1972) reportan usos de *E. variegata* por los indígenas como astringente, antipirético, problemas de hígado y epilepsia, sedante, antiasmático, como gotas oftálmicas (corteza), para problemas

gástricos, como diurético y contra el dolor en coyunturas (hojas). Actualmente, *E. americana* además de utilizarse para fines de ornamento y artesanías, también se ha empleado como antifebril (hojas y corteza), emenagogo (raíces), tratamiento de picaduras de alacrán (jugos de los tallos), diurético (semillas, corteza y hojas), afecciones del tórax (flor), para inmovilizar peces (corteza y tallos) así como comestible (flores) (Nakagawa, 1991).

Entre los que Hastings (1990) reporta para diversas especies del género, se encuentran los siguientes: en Veracruz, las hojas de *E. americana* son aplicadas para úlceras o abscesos y utilizadas de manera interna para curar enfermedades causadas por picaduras de diversos insectos; los frutos son aplicados en inflamaciones de brazos, piernas, cabeza y ojos; además, que en la región Huasteca del noreste de México, la corteza es hervida y tomada 40 días después del nacimiento de los niños como anticonceptivo, así como la infusión de las flores inmaduras contra el insomnio. En el Estado de Guerrero, consideran a la planta como antimalárico. En Guatemala, una cocción de retoños de *E. berteriana* es bebida como narcótico, así como la cocción de las flores es un remedio contra el nerviosismo, hemorragias y disentería. En Durango, las semillas de *E. flabelliformis* son utilizadas como un remedio contra el dolor de muelas; en los mercados de Chihuahua se vende como planta medicinal, y se cree que la semilla es utilizada como anticonceptivo; la infusión de las hojas es usada por los indios Seri de Sonora para curar la diarrea, en tanto que las de *E. standleyana* para detener hemorragias nasales y contra el dolor de muelas (Hastings, 1990).

Se cree que las semillas de varias especies de *Erythrina* fueron empleadas como medicina y alucinógeno, y que la planta es idéntica al tzompanquahuitl

de los aztecas. En Guatemala las semillas de estas plantas son empleadas en la adivinación. Los tarahumaras consideran a las semillas de *Erythrina flabelliformis* una medicina y los utilizan para varios fines (Evans y Hofmann, 2000).

En 1877 Altamirano le atribuyó a las semillas de *E. americana* un efecto semejante al del curare (que es el veneno que usan algunas tribus sudamericanas en sus flechas, y que en dosis grandes mata porque causa una relajación total de todos los músculos, provocando la muerte por insuficiencia respiratoria), lo cual fue confirmado por otros autores. La actividad curarizante se refiere a la prevención de la transferencia de impulsos del nervio al músculo en la conexión mioneural, teniendo como consecuencia la caída de párpados, somnolencia, pérdida del habla, parálisis del músculo del cuello, extremidades y diafragma llevando finalmente a la muerte por insuficiencia respiratoria (Craig, 1981).

LA ESPECIE *Erythrina herbacea*

Distribución

Es una planta de sol directo y suelo arenoso bien drenado. Se distribuye en zonas costeras desde Texas y Louisiana hasta Florida, el norte de Carolina del Norte, y al sur a los estados del norte de México desde Tamaulipas hasta Tabasco (Fig. 2). Naturalmente se encuentra en claros arenosos de bosques, entre la maleza en áreas perturbadas y a la orilla de los caminos. Se torna en



Figura 2. Distribución de *Erythrina herbacea* L. (TreeGuide Inc., 2000).

árbol en su distribución más norteña y arbustiva e incluso herbácea en su distribución más sureña. (ITIS, 2002; NAL, 2000; SMS, 2002; Wunderlin y Hansen, 2000).

Ubicación taxonómica

- Reino:** Plantae
División: Embriophita siphonogama
Subdivisión: Angiospermae
Clase: Dicotyledoneae
Orden: Rosales
Familia: Leguminosae
Género: *Erythrina*
Especie: *E. herbacea*



Figura 3. *Erythrina herbacea* L. var. rosa
Foto: J. R. Manhart 2000[©]
(FloridataTM, 1997).

Sinonimia

Erythrina humilis Salisbury 1796; *Erythrina rubicunda* Jacquin 1809; *Xyphanthus hederifolius* Rafinesque 1817; *Erythrina hederifolia* (Rafinesque) Sprengel 1826; *Coraliodendron herbaceum* (L.) Kuntze 1891; *Erythrina herbacea* L. variedad arborea Chapman 1897; *Erythrina arborea* (Chapman) Small 1903; *Erythrina herbacea* L. forma albiflora Moffler y Crewz 1983 (Tomado de Wunderlin y Hansen, 2000).

Nombre común

Colorín rosa; Teenek: Jutukuu'; Huasteco local: Pémoch o Pemoche silvestre; Náhuatl: Tzompanquáhuitl o zompantle, D.F.: pititos, y en Veracruz: flores de gasparito. En Estados Unidos: Redcardinal; Eastern Coralbean; Coral bean; Cardinal-spear; Cherokee-bean; Red-cardinal; Herbaceous Coral-tree; Coral tree. España: Alabarda de cardenal (Ávila, *et al.*, 1994; Elias, 1980; Facciola, 1990; Faucon, 2000; Herbert, 1997; ITIS, 2002; NAL, 2000; TreeGuide Inc., 2000; USDA, 2002; Wunderlin y Hansen, 2000).

Descripción botánica



Figura 4. Inflorescencia de *Erythrina herbacea* L. var. rosa (Floridata™, 1997).

Arbusto vigoroso semi-perenne, siempre verde, espinoso, que por lo común alcanza hasta 1.5 metros de altura con una extensión de 1.2 metros. Sus ramas espinosas de 75 centímetros en promedio, tienen un periodo de floración generalmente de marzo a mayo. Las flores características al género forman racimos en la parte terminal de delgadas ramas sin hojas que van de 20 a 30 centímetros (Figs. 3 y 4).

Estas flores son en forma de tubo o espada de color rosa intenso, algunas veces escarlata pálido con el cáliz truncado, que contrastan con el follaje verde intenso, lo que las hace atractivas a los colibríes, que son sus polinizadores habituales (Toledo, 1974).

Generalmente presenta un solo periodo de floración en marzo, abril y mayo, aunque sus flores pueden ocasionalmente aparecer al final del verano (Horticopia, 2002; Huxley, 1992; ITIS, 2002; NAL, 2000; SMS, 2002; Wunderlin y Hansen, 2000) (Fig. 5).



Figura 5. Detalle de una flor de *Erythrina herbacea* L. var. rosa
Foto: J. R. Manhart 2000®
(TreeGuide Inc., 2000).

De julio a septiembre se forman vainas alargadas con estrangulamientos muy marcados entre cada semilla, que se abren a lo largo mostrando semillas en forma de frijol de color rojo escarlata (Fig. 6).

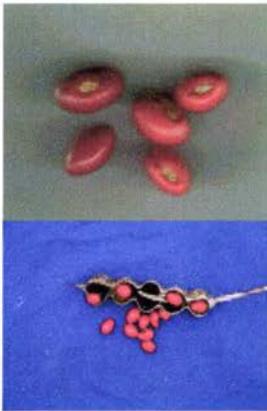


Figura 6. Semillas y vaina de *Erythrina herbacea* L. var. rosa
Foto: Erowd 2000®
(TreeGuide Inc., 2000).

Las hojas alternadas son triangulares pinadas trilobuladas de ovaladas a astadas, generalmente con dos lóbulos laterales redondeados y un lóbulo terminal acuminado de 7 centímetros en promedio, y sus tallos están armados con pequeñas espinas recurvadas y aplanadas (Fig. 7).



Figura 7. Hojas de *Erythrina herbacea* L. var. rosa
(Floridata™, 1997).

Usos

En los Estados Unidos, la medicina tradicional de los indios cherokee, ha reportado su uso como diurético, narcótico, y purgante (Huxley, 1992). Una infusión fría de la raíz ha sido utilizada para el tratamiento del dolor abdominal en mujeres, una decocción de las raíces o las vainas ha sido utilizada para tratar náuseas, constipación y bloqueo de vías urinarias, o la decocción de las hojas como tónico general (Moerman, 1998). Aunque con precauciones debido a su toxicidad, las flores y ocasionalmente las hojas jóvenes, se cocinan hervidas para utilizarse como alimento (Ávila, *et al.*, 1994; Facciola, 1990). Debido al colorido de sus flores y semillas, en Estados Unidos y España, se utiliza como una planta ornamental, llamativa e incluso extravagante en sitios soleados de los jardines de suelo moderadamente fértil.

Cultivo



Figura 8. Cultivo de *Erythrina herbacea* L.
Foto: Krumfolz
(Floridata™, 1997).

Se propaga en climas cálidos a partir de semillas previamente remojadas por doce horas en agua caliente o tratadas con diluciones de ácido, que se siembran a inicios de la primavera preferentemente en invernaderos. Cuando son suficientemente grandes como para manipularlas, las plántulas se pueden colocar en macetas o semilleros, donde se mantienen hasta al menos su primer invierno (Fig. 8). Después de esta etapa se trasplantan a su lugar permanente al final de la primavera o principios del verano. También se puede reproducir en julio y agosto por medio de esquejes o directamente de cortes o estacas maduras, que se mantienen en el invernadero hasta que termine el invierno, después de lo cual pueden trasplantarse a exteriores.

Requiere de suelos bien drenados de textura arenosa-rocosa con periodos de sol y sombra durante el día. Necesita de relativamente poco fertilizante y cuidados mínimos una vez establecida (USDA-ARS, 2002). En Estados Unidos, existen varias empresas de horticultura que a solicitud de parte y mediante un permiso de la USDA, venden las semillas vía Internet en paquetes que en promedio cuestan 4 dólares por libra (45.4 g) y que pueden ser enviadas a cualquier parte del mundo. Las plántulas (que también pueden ser solicitadas a un precio variable) se siembran con una distancia de entre 75 y 150 centímetros en una posición que les permita la mayor incidencia de luz solar durante el día. Se recomienda proteger la planta por un muro en la cara este, sur o suroeste. A partir de semillas, las plantas toman de 3 a 4 años para alcanzar la primera floración. En México, únicamente se conoce como una planta silvestre (Fig. 9) ya que no se comercializa (Horticopia, 2002; Huxley, 1992; ITIS, 2002; NAL, 2000; SMS, 2002; Wunderlin y Hansen, 2000).

Importancia ecológica

Erythrina herbacea, al igual que todas las especies del género, establece relación simbiótica con bacterias del suelo, formando nódulos en las raíces que fijan nitrógeno atmosférico.

Parte de este nitrógeno es utilizado para el crecimiento de la planta, pero también puede ser usado por plantas aledañas (Wunderlin y Hansen, 2000).



Figura 9. *Erythrina herbacea* L.

Como en todo el continente, las flores del género son polinizadas por especies de colibríes, particularmente se sabe que las flores rosas de *E. herbacea* son polinizadas por: *Archilochus colubris*, *Colibrí coruscans*, *Boissoneaua matthewsii*, *Chalybura buffonii*, *Florisuga mellivora*, *Phaethornis pretrei* y *Chrysuronia oenome* (Toledo, 1974).

Toxicidad

Se dice que todas las partes de la planta son venenosas, principalmente las semillas. De hecho, la Administración de Drogas de los Estados Unidos (USDA, 2002) la tiene catalogada como una sustancia que va de fuerte a muy fuerte, ya que su ingestión causa síntomas como diarrea y vómito, aunque las hojas jóvenes y las flores pueden ser ingeridas de manera segura cuando son cocinadas. El principio tóxico son alcaloides y glicósidos cianogénicos (Russell, Hardin, Grand y Fraser, 1997).

LOS ALCALOIDES

Los alcaloides son un grupo importante de metabolitos, que desde el punto de vista químico, bioquímico o fisiológico son muy variados, lo que ha complicado dar una definición precisa del término. En 1818, el farmacéutico W. Meisner acuñó el término a partir del concepto de "álcali" (del árabe "al kaly" = sosa; alcaloide = que tiene la apariencia de una base), es decir, que son aminas que a menudo reaccionan con ácidos formando sales solubles en agua (Solomons, 1992).

Anteriormente, se creía que estos compuestos nitrogenados eran únicamente de origen vegetal, pero estudios recientes han permitido encontrarlos en otros grupos de organismos como los anfibios, mamíferos, artrópodos, hongos, dinoflagelados y algas (Tyler, Brady y Robbers, 1988).

Los átomos de nitrógeno de la mayoría de los alcaloides se encuentran en anillos heterocíclicos como un pirrol, piridina, pirrolidina, quinolina o isoquinolina, pero ocasionalmente se encuentra del lado de una cadena alifática. En algunos casos los alcaloides pueden presentarse como aminas derivadas teóricamente de amonio, la mayoría como aminas terciarias, ocasionalmente como aminas secundarias y, con menor frecuencia como compuestos cuaternarios (Maldoni, 1991).

Actualmente se han dado varias definiciones que no satisfacen el sentido general del término (Bruneton, 1991); de ellas, quizás la más funcional y que actualmente es la de mayor aceptación, sea la definición propuesta por Pelletier en 1983: "Son compuestos orgánicos cíclicos nitrogenados en estado de oxidación (es decir, que aceptan protones al combinarse) y de distribución limitada en los seres vivos".

La mayoría de estos compuestos son sustancias cristalinas bien definidas, que por unión con ácidos forman sales, ya que sus átomos de nitrógeno aceptan protones. En las plantas pueden existir libres, en estado de sales o como *N*-óxidos. El conocimiento de la solubilidad de los alcaloides y de sus sales posee considerable importancia farmacéutica, no solo porque con frecuencia se administran productos derivados de alcaloides en solución, sino porque las diferencias de solubilidad entre los alcaloides y sus sales dan lugar a métodos para su aislamiento a partir de las plantas y para su separación de las sustancias no derivadas de alcaloides, también presentes. Como bases libres, son muy poco solubles en agua, pero solubles en disolventes orgánicos como éter y cloroformo (Evans, 1991). Estas características hacen posible su separación de una mezcla a partir del uso de un ácido y un disolvente orgánico (Soto-Hernández y Jackson, 1994).

Distribución y Función de los Alcaloides en la Planta

A menudo, los alcaloides se distribuyen a lo largo de toda la planta, y se han encontrado en extractos de cortezas, raíces, hojas, frutos, y semillas. En el género *Erythrina* sin embargo, son en estas últimas estructuras en donde más se acumula su contenido, mismo que puede variar entre las especies y entre los individuos de una misma población, de acuerdo con las características locales y ambientales, e inclusive por el tipo de suelo. Se pueden encontrar en su forma libre o conjugados como glucósidos fenólicos; los primeros pueden ser obtenidos directamente de la extracción, mientras que los conjugados necesitan ser hidrolizados en un medio ácido para aislarlos (Scalabrin, 1984).

Aun no se han definido totalmente las funciones que para la propia planta desempeñan los alcaloides, sin embargo, existen suficientes argumentos para creer que pueden actuar como agentes tóxicos que protegen a la planta de sus depredadores e incluso que son productos finales de reacciones de desintoxicación, que producen un bloqueo metabólico de compuestos que en otras circunstancias podrían ser nocivos para el vegetal; pueden actuar como factores reguladores de crecimiento o sustancias de reserva, que proveen de nitrógeno y otros elementos necesarios (Tyler, *et al.*, 1988; Evans, 1991; Taiz y Zeiger, 1991).

Las investigaciones más recientes han demostrado, no sólo que los alcaloides participan en el metabolismo de la planta a largo plazo, sino también, que la variación diaria en el contenido alcaloídico (cuantitativo y cualitativo) es muy común en varias especies, ya que cada vez más se ha comprobado que la presencia o ausencia de estos compuestos químicos no afecta a las plantas, lo que implica que, si bien la presencia de alcaloides no es vital para ellas, éstos

deben participar a largo plazo en las diferentes rutas metabólicas y no solamente como productos finales o de desecho (Tyler, *et al.*, 1988; Evans, 1991; Taiz y Zeiger, 1991).

Alcaloides del Género *Erythrina*

En 1877, el Dr. Francisco Río de la Loza comprobó, al experimentar en perros, que las semillas de *Erythrina coralloides* son venenosas, y al analizarlas encontró la presencia de grasa sólida y líquida, resinas, albúmina vegetal, goma, azúcar, ácido orgánico, fécula, materias inorgánicas y 1.61% de alcaloides, logrando aislar uno de ellos al que llamó eritrocoraloidina (Martínez, 1996).

A su vez, en 1888 el Dr. Fernando Altamirano, extrajo un alcaloide distinto al que llamó coralloidina, que tiene la propiedad de paralizar los nervios motores cuando se administra por vía intravenosa, y que reduce su actividad por vía oral, notando que producía un efecto semejante al del curare (Martínez, 1996; Lozoya y Lozoya, 1982), proponiéndolo como un sustituto de éste, e incluso lo indica como un tratamiento para las convulsiones (Lehman, 1937).

Simultáneamente, el profesor José Ma. Prieto en 1890, analizando la corteza de *Erythrina* sp., encontró dos materias colorantes, una roja y otra amarilla, una resina neutra, un alcaloide con propiedades narcóticas y algunas sales (Lozoya y Lozoya, 1982).

Debido al descubrimiento del efecto "curarizante" en las semillas del género *Erythrina*, se han hecho diversos estudios de carácter químico y farmacológico tanto en México como en otros países, aislándose un número importante de alcaloides con propiedades paralizantes (Lehman, 1936; Folkers y Major, 1937).

Posteriormente, Folkers y Major en 1937 aislaron un principio activo a partir de un extracto de *E. americana* al que llamaron eritroidina con acción paralizante, determinando que en realidad se trataba de dos alcaloides isómeros a los cuales llamaron α y β -eritroidina (Craig, 1981).

Más tarde Folkers y Koniuszy (1940_a) aislaron y caracterizaron eritralina y eritratina (de *E. glauca*), y en el mismo año (1940_b) erisopina (de *E. sandwicensis* y *E. glauca*); erisodina (de *E. sandwicensis*, *E. glauca*, *E. poeppigiana* y *E. americana*); erisocina (de *E. americana* y *E. poeppigiana*) y erisovina (de *E. sandwicensis*, *E. poeppigiana* y *E. berteroaana*). Para 1961 Willaman y Bernice (en Sánchez, 2000) indicaron que se habían investigado, hasta entonces, 59 especies diferentes de *Erythrina* y que de ellas se habían aislado 13 alcaloides, los cuales, a excepción de la hipaforina, tienen semejanzas estructurales y farmacológicas (Leyva, 1988).

Sin embargo, de acuerdo con Craig (1981), el estudio sistemático de al menos 51 especies de *Erythrina* ha demostrado que todas contienen alcaloides con actividad paralizante, variando ampliamente en su potencia, y que farmacológicamente han sido examinados los alcaloides y algunos de sus derivados de alrededor de 28 especies, de los cuales los más efectivos han demostrado ser la β -eritroidina y la dihidro- β -eritroidina.

Ghosal, Majumdar y Chakraborti (1971) reportan que los alcaloides presentes en *E. lithosperma* son N-norprotosinomenina, protosinomenina, erisodienona, β -eritroidina, erisopina, eritralina, eritramina, erisodina, erisotrina, eritratina, N,N-dimetiltriptofano e hipaforina; de los cuales los primeros tres no habían sido reportados. El 1972 Ghosal, *et al.* aislaron y carac-

terizaron por medio de espectro químico, ocho alcaloides de *E. variegata* entre los que se encuentran erisotrina, erisodina, erisovina, eritralina, erisopina, erisodienona, erisonina, hipaforina, hipaforina metil éster, N,N-dimetiltriptofano metil éster y colina.

Hargreaves, *et al.* (1974), publicaron una lista de 34 alcaloides conocidos de 22 especies americanas de *Erythrina*, 6 de las cuales ya habían sido estudiadas por otros autores. En el mismo año, Games, Jackson, Kahn y Millington, realizaron un estudio similar con 18 especies africanas, asiáticas, polinesias y australianas del género *Erythrina*, encontrando más de 50 alcaloides que han sido clasificados basándose en el trabajo de Hargreaves, *et al.* (1974) en tres tipos según su estructura: diénicos, que contienen un sistema dieno conjugado en los anillos A y B; alquénicos, que presentan una insaturación 1-6 en el anillo A; y lactónicos, que poseen una lactona cíclica en lugar del anillo aromático D. Estos últimos incluyen α - y β -eritroidina (Figura 10).

Chawla, Redha y Jackson (1985) aislaron alcaloides de semillas de cuatro especies de *Erythrina*: *E. brusei*, *E. cochleata*, *E. tholloniana* y *E. caribaea*, encontrando en esta última un nuevo alcaloide, la eritrocarina, como un aná-

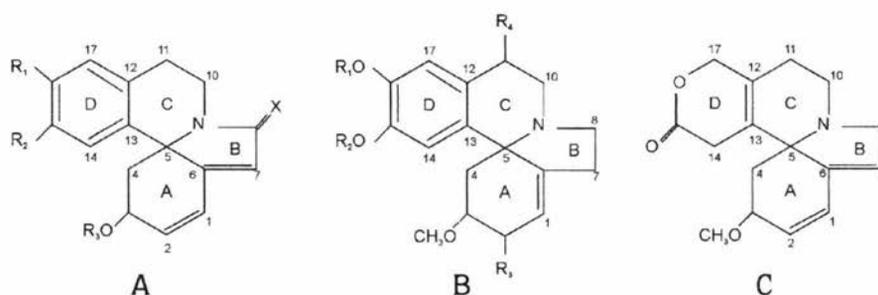


Figura 10. Estructura general de los alcaloides de *Erythrina*, según Hargreaves, *et al.* (1974). A) Alcaloide diénico, B) Alcaloide alquénico y C) Alcaloide lactónico (correspondiente a β -eritroidina).

logo metilendioxido de los alcaloides dienicoserisolina y erisonina. Soto-Hernández y Jackson (1994) aislaron de *E. berteroana* un nuevo alcaloide, eritartina N-óxido, caracterizado como un N-óxido de eritartina.

Farmacología de los Alcaloides del Género *Erythrina*

Como consecuencia de su origen botánico y bioquímico, los alcaloides muestran una gran variedad en su estructura química, por esta razón, cuando se administran a animales, los efectos fisiológicos que producen y su acción farmacológica varía de un alcaloide a otro, lo que ha determinado que la gran mayoría de estas sustancias desempeñen un papel destacado en las industrias química y farmacéutica (Evans, 1991).

Algunos de ellos estimulan el sistema nervioso central, otros causan parálisis; otros más elevan la presión sanguínea, otros la disminuyen. Ciertos alcaloides actúan como potenciadores, analgésicos, antiamebianos, anticolinérgicos, antidepresivos, antimaláricos, antitumorales, estimulantes nerviosos, anestésicos locales, narcóticos, analgésicos, tranquilizantes o relajantes musculares. La mayoría de los alcaloides de *Erythrina* tienen efecto curarizante, aunque varían en potencia y duración del efecto (Unna y Greslin, 1944).

Los alcaloides con efecto curarizante han sido utilizados en neurobiología para disminuir la contracción de músculos, en varios problemas de cerebro y espina dorsal (Burman, 1940 en Pick y Richards, 1946) y, particularmente en la práctica quirúrgica moderna, cada vez es más común su uso para incrementar la relajación muscular durante la inhalación de un anestésico ligero, para lograr la insensibilidad al dolor y mantener al paciente en un estado de inconciencia que evite los peligros de la anestesia profunda duran-

te las narcosis inducidas por barbitúricos (Pick y Richards, 1946; Solomons, 1992; Hill y Kolb, 1999).

Los alcaloides han sido de interés para los químicos durante casi dos siglos, y en este periodo se han hallado miles de estas sustancias. Mediante la aplicación de métodos fisicoquímicos se han determinado las estructuras de la mayoría de ellas y en muchos casos se han confirmado por síntesis (Solomons, 1992). La dificultad de obtener curare, en cantidades suficientes, indica la conveniencia de obtener fácilmente sustitutos de éste que sean de potencia semejante, baratos y que no produzcan complicaciones indeseables (Lehman, 1937).

Entre los efectos farmacológicos de este género destacan la acción tóxica descrita por Hernández, Altamirano y Domínguez (Ramírez y Rivero, 1935), la acción curarizante, paralizante y relajante muscular entre otros, citados por diversos autores (Lehman, 1937; Hargreaves *et al.*, 1974; Ghosal, *et al.*, 1972; Unna y Greslin, 1944; Unna, Kniazuk, y Greslin, 1944).

Resulta interesante que diversos estudios hayan encontrado una pronunciada actividad curarizante en alcaloides de tipo eritriano, que no son tan potentes pero que atraviesan la barrera hematoencefálica y penetran fácilmente en la médula espinal, resultando eficaces por vía oral, ya que ejercen una acción depresora sobre el encéfalo y la médula espinal bloqueando la respuesta colinérgica (Bowman y Rand, 1984), y que a la vez son menos tóxicos en dosis terapéuticas, ya que presentan el mismo efecto del curare al impedir el paso de impulsos nerviosos, provocando una parálisis de los músculos al haber un bloqueo de la transmisión mioneural de los impulsos al músculo esquelético (Burger, 1960).

Como el curare, las eritroidinas tienen acción sinérgica con ciertos anestésicos e hipnóticos, incluso se menciona que el dihidroderivado de la β -eritroidina tiene mayor potencia en los ensayos clínicos, y que tanto las eritroidinas como la tubocurarina tienen un efecto antagonista de la acción nicotínica de la acetilcolina a nivel de la unión sináptica ganglionar, ya que de hecho produce un tipo de bloqueo neuromuscular no despolarizante (Sánchez, 2000).

Sin embargo, a pesar de que llegaron a ser aplicados clínicamente, estos alcaloides fueron sustituidos por otras sustancias de origen sintético (Craig, 1981), dado que las eritroidinas se han empleado sólo ocasionalmente en medicina para los mismos efectos y fines del curare, especialmente con el fin de reducir los espasmos de los músculos esqueléticos y para evitar fracturas durante los tratamientos con electrochoque (Sánchez, 2000), varios autores han determinado la dosis letal media (DL_{50}) de algunos alcaloides del género *Erythrina*.

Lehman (1936) fue quien por vez primera determinó la DL_{50} de un extracto alcohólico de semillas de *Erythrina americana* en ranas, ratas, conejos, palomas, perros y gatos. Berger y Schwartz (1948) y Megirian, Leary y Slater (1955) determinaron la DL_{50} y la toxicidad crónica de β -eritroidina y sus derivados por vía intraperitoneal en ratones. Unna y Greslin (1944) hicieron lo mismo pero incluyeron, además de β -eritroidina, algunos alcaloides libres y combinados (eritramina, eritralina, erisopina, erisopidina y erisotiopinato) no solo en ratones, sino también en ratas, conejos y gatos, administrando las drogas por vía oral y subcutánea.

DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

La Huasteca

Históricamente, se sabe que la cultura Huasteca ocupó una extensa región que cubría las tierras septentrionales de Veracruz y las de la Costa del Golfo, a las tierras de clima cálido de San Luis Potosí y Tamaulipas, más allá de la Sierra Madre Oriental, sin embargo, actualmente no es fácil establecer los límites que alcanza esta cultura (Solís, 2000), aunque se reconoce como una zona amplia que comprende algunas regiones del noreste de Querétaro, el sur de Tamaulipas, el este de San Luis Potosí, el noreste de Hidalgo y una pequeña parte del norte de Puebla, y una del norte de Veracruz (Navarro, 2000), en la que actualmente podemos encontrar al grupo étnico mestizo conocido como los "huastecos", "teenek" o "tének", que como tal ha disminuido en importancia.

Hoy los tének ocupan una pequeña franja del que fuera su territorio histórico al que denominan Tének tsabal, "la tierra de los tének" o "donde habitan los tének", que se extiende por el norte en ocho municipios de Veracruz y diez al oriente de San Luis Potosí. En algunos casos conviven con ciertos núcleos de habitantes nahuas, gente blanca y algunos mulatos en la costa. Entre los huastecos, el porcentaje que habla el idioma nativo (huasteco-teenek, totonaco, náhuatl, otomí o tepehua) es muy reducido y se circunscribe a varios pueblos de Veracruz y San Luis Potosí, siendo éste último el que cuenta con la mayoría de los tének, los cuales se distribuyen de forma discontinua en pueblos, congregaciones, rancherías, ejidos, y poblados aislados principalmente del municipio de Aquismón, San Luis Potosí, seguido en importancia por otros municipios de la Sierra, tales como: Tancanhuitz, Ciudad Santos, San Antonio,

Huehuetlán, Tampamolón, Tancuayalab, Tanjalás, Tamuín y Ciudad Valles (Navarro, 2000).

San Pedro de las Anonas

La localidad de San Pedro de las Anonas, Municipio de Aquismón, San Luis Potosí, se ubica entre las provincias fisiográficas Mesa Central y Sierra Madre Oriental, cuenta con 1367 habitantes, donde la mayoría de los adultos son bilingües y en algunos casos trilingües ya que hablan tének, nahua y el castellano (INEGI, 1990). Esta comunidad Huasteca está ubicada a 21°45'48» de latitud Norte y 99°03'29» de longitud Oeste, 13.5 kilómetros al poniente del cruce del poblado de Tantóbal, y éste se encuentra en el sentido que va de sur a norte de la carretera México-Laredo, aproximadamente 30 kilómetros antes de llegar a Ciudad Valles (Fig. 11).

El poblado y sus tierras se encuentran en la vertiente Este de la Sierra Madre Oriental, en el macizo montañoso conocido como Sierra las Anonas con una altitud máxima de 550 metros sobre el nivel del mar. La dotación de tierras del ejido se distribuye entre las estribaciones de la Sierra y la llanura que marca los inicios de la planicie costera del Golfo (Ávila, *et al.*, 1994) y está constituido por una red hidrográfica bien establecida por la Sierra y lomeríos de la localidad que forman una gran cantidad de arroyos estacionales que alimentan principalmente a los ríos grandes entre los que destacan: el Pánuco, el Moctezuma, el Pujal, el Coy y el Tambaón. La zona es especialmente lluviosa, con una precipitación anual de 800 a 4000 milímetros, de naturaleza estacional en verano y una marcada sequía en los meses anteriores a esta estación, influida por un clima cálido-húmedo cuya temperatura media anual es de 23.5° C (Secretaría de Programación y Presupuesto, 1983). Por esta

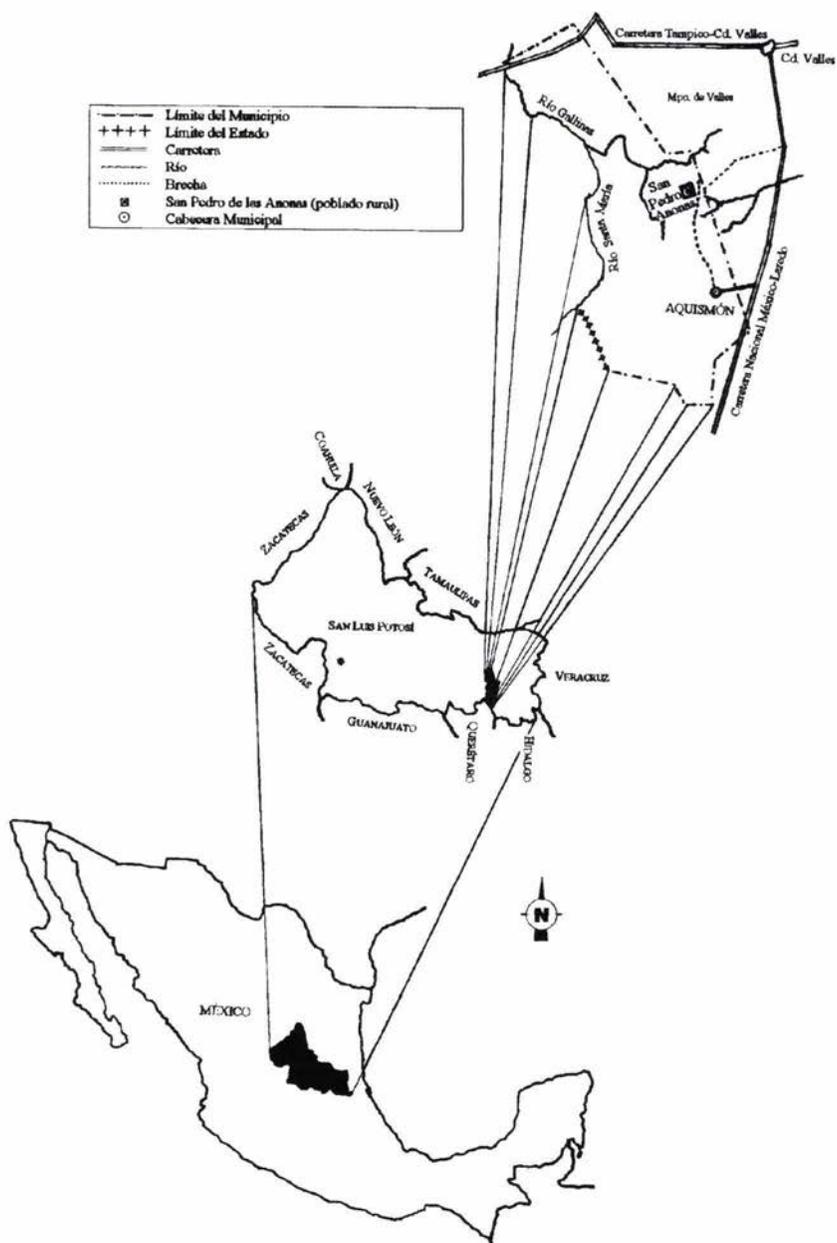


Figura 11. Mapa de la zona de colecta (Modificado de Ávila, *et al.*, 1994).

razón, la vida de la comunidad se organiza en función de estas dos estaciones, que ellos conocen como el temporal, que va de abril a octubre, y el tonalmil (o época de sequía), que va de noviembre a marzo (Navarro, 2000).

La zona actualmente se presenta como un mosaico de vegetación que se caracteriza por la presencia de zonas de selva mezcladas con cultivos de maíz (*Zea mays*), frijol (*Phaseolus* sp.), calabaza (*Cucurbita* sp.), yuca (*Manihot esculenta*), camote (*Ipomea batatas*), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), y algunos frutales, como el plátano (*Musa paradisiaca*), la naranja (*Citrus* sp.) y el mango (*Mangifera indica*), además de zonas con pastizales y áreas en proceso de regeneración. Se conoce técnicamente como bosque tropical subcaducifolio (Rzedowsky, 1978), con elementos arbóreos que llegan a alcanzar más de 40 metros de altura. Por arriba de los 30-40 metros llegan las copas de árboles emergentes, como los higuerones del género *Ficus* (Moraceae). En el estrato inferior de la selva (0-10 metros de altura) se encuentran dispersos ejemplares característicos de este tipo de ecosistema como: el ojo (*Brosimum alicastrum*), el frijolillo (*Pithecellobium arboreum*), y el mamey (*Colocarpum sapota*) mezclándose con el chicozapote (*Acras sapota*), el cedro rojo (*Cedrela mexicana*), el palo de rosa (*Aniba panurensis*), el colorín (*Erythrina americana*), el chaca (*Bursera simaruba*), el orejón (*Enterolobium cyclocarpum*), el jobo (*Spondias mombin*) y el hijol (*Piscidia mollis*). En zonas perturbadas de modo natural por caídas de árboles o que han sido abandonadas por los campesinos después de desmontar, son abundantes las especies pioneras como *Cecropia obtusifolia* y *Heliocarpus donnell-smithii* (Ávila, et al., 1994).

JUSTIFICACIÓN

Estudios con este género, realizados en el laboratorio L-514 de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, han evidenciado que la administración de infusiones acuosas de inflorescencias, o bien de fracciones de alcaloides solubles en hexano y fracción de alcaloides liberados por hidrólisis, obtenidas a partir de semillas de *Erythrina americana* disminuyen la conducta agresiva de ratas (Garín-Aguilar, Ramírez y Valencia, 1997).

Posteriormente, además de corroborar la notable disminución de la conducta agresiva de ratas con la administración de la fracción de alcaloides crudos solubles en hexano y la fracción hidrolizada de alcaloides de *E. americana*, se evaluó la disminución de la conducta agresiva con la fracción de alcaloides crudos solubles en metanol así como el efecto tóxico de cada una de las tres fracciones (Garín-Aguilar, Ramírez, Soto-Hernández, Valencia y Martínez, 2000).

El hecho de que *E. herbacea*, conocida como "Pemoche silvestre" pertenezca al género, permite considerar que esta especie puede constituirse en una fuente potencial de alcaloides con propiedades farmacológicas importantes, similares a las que se han encontrado en *E. americana*, así como el hecho de que varias especies de este género han sido caracterizadas por sus efectos medicinales por otros autores.

A pesar de que, Sesse y Muciño (1795) (en Lozoya y Lozoya, 1982) en su "Flora Mexicana" no reportan para *E. herbacea* uso medicinal, Contreras y Zolla (1982) (en Hastings, 1990), reportan que se conoce que tiene efecto tóxico, y Standley

en 1922 (en Hastings, 1990) reporta que en San Luis Potosí las semillas de esta especie son utilizadas para envenenar ratas y perros.

Por otro lado, debido a que nuestro país cuenta con enormes posibilidades en el campo farmacobotánico, el cual ha sido poco estudiado, resulta necesario que se realicen, con la amplitud debida, trabajos de investigación farmacológica, utilizando los principios activos de las plantas medicinales para obtener resultados del más alto interés teórico práctico (Villacis, 1978).

Tomando en cuenta lo anterior, y la escasa literatura sobre la especie que se distribuye en la localidad de San Pedro de las Anonas, Municipio de Aquismón, San Luis Potosí, en el presente trabajo se inicia la caracterización fisicoquímica de las fracciones alcaloideas del "Pemoche silvestre", planteándose los siguientes:

IZT.



OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- ♦ Caracterizar parcialmente la fracción de alcaloides crudos solubles en hexano, etanol y de alcaloides hidrolizados de las semillas de *Erythrina herbacea* y evaluar su toxicidad.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ♦ Colectar ejemplares de *Erythrina herbacea*, planta conocida como "Pemoche silvestre" en la localidad de San Pedro de las Anonas, San Luis Potosí y determinarla taxonómicamente para corroborar que se trata de esta especie.
- ♦ Registrar el uso que los habitantes de la localidad dan a esta especie.
- ♦ Extraer las fracciones hexánica, metanólica y de alcaloides hidrolizados a partir de semillas de *E. herbacea*.
- ♦ Mediante cromatografía en capa fina (ccf), análisis de infrarrojo (IR) y análisis diferencial calorimétrico (ADC), caracterizar preliminarmente la química de cada una de las fracciones de alcaloides obtenidas.
- ♦ Determinar la Dosis Letal Media (DL_{50}) de cada una de las fracciones alcaloideas.

MATERIAL Y MÉTODO

Para cumplir con los objetivos planteados, el estudio se dividió en 2 etapas:

1. Trabajo de campo y de gabinete.

- a) Colecta de la planta y semillas.
- b) Registro de uso.
- c) Determinación taxonómica.

2. Trabajo experimental.

- a) Extracción de fracciones alcaloides.
- b) Caracterización fisicoquímica.
- c) Evaluación de toxicidad.

Las cuales se describen a continuación, y se sintetizan en la figura 12.

1. TRABAJO DE CAMPO Y DE GABINETE

a) Colecta de la planta y semillas.

Las semillas, así como la planta completa, fueron colectadas en el poblado de San Pedro de las Anonas, Municipio de Aquismón, San Luis Potosí, donde se realizaron visitas de cuatro días cada mes, de enero de 1998 a diciembre de ese mismo año. Estas visitas se llevaron a cabo para obtener la información complementaria a la obtenida en visitas anteriores realizadas por el grupo de Garfín y Valencia en el año de 1993 (comunicación personal), referente al uso y manejo de las plantas medicinales que utilizan los pobladores de esta comunidad.

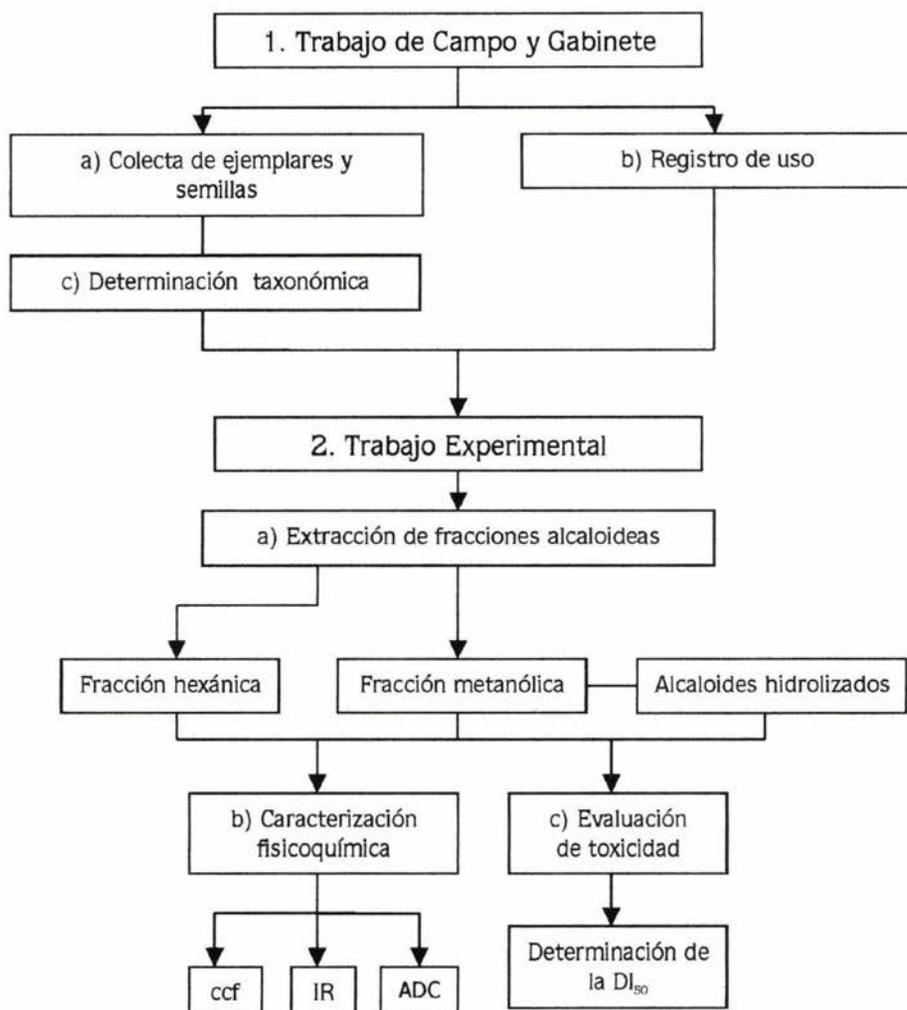


Figura 12. Diagrama de flujo de la investigación.

b) Registro de uso.

Para registrar el uso que en la comunidad se le ha dado a esta planta, se procedió nuevamente a establecer los contactos que se tenían de antaño con las Señoras parteras Jacinta Hernández, Alberta Mauricio y Patricia Matías; esta última, hija de un curandero reconocido por la comunidad, Don Pedro Matías. Fueron ellas quienes nos facilitaron la información sobre plantas medicinales de la localidad y quienes a su vez nos llevaron a los lugares en donde se encuentra entre otras, el "pemoche silvestre" y que además nos entregaron semillas previamente colectadas.

c) Determinación taxonómica.

Para corroborar la especie, las plantas colectadas se extendieron en hojas de papel periódico que fueron colocadas entre láminas de cartón corrugado y en una prensa botánica para ser secadas. Una vez secas se procedió al montaje de los ejemplares en cartulina, para posteriormente ser cotejados con aquellos colectados el 17 de abril de 1994 por Areli González Santillán e Ignacio G. Barajas León del grupo de Garín y Valencia, determinados en 1995 por el experto en leguminosas Dr. Mario Sousa Sánchez del Instituto de Biología, y que fueron depositados ese mismo año en el Herbario Nacional "MEXU" del mismo Instituto (registros 599010, 654912 y 654920).

2. TRABAJO EXPERIMENTAL

a) Extracción de fracciones alcaloides.

Las semillas fueron procesadas para la obtención de las fracciones alcaloides en el laboratorio L-514 de la Facultad de Estudios Superiores (FES) Iztacala de la UNAM, de acuerdo con la técnica descrita por Games, *et al.* (1974) que se describe brevemente a continuación:

Fracción hexánica. Para la obtención de esta fracción, se pulverizaron 1000 gramos de semillas en un molino. Las semillas molidas se extrajeron con hexano durante 48 horas en un equipo Soxhlet. El extracto se concentró a presión reducida en un rotavapor marca BUCHI modelo 461 y se acidificó con ácido sulfúrico al 2%. La fase acuosa se llevó a un pH de 8 y los "alcaloides libres" se extrajeron con diclorometano.

Fracción metanólica. La semilla desengrasada se extrajo durante 48 horas, nuevamente en equipo Soxhlet, ahora con metanol. El extracto también se concentró a presión reducida y se acidificó con ácido sulfúrico al 2%. Posteriormente se extrajo con diclorometano, obteniéndose dos fases: acuosa y orgánica. La fase acuosa se ajustó a un pH de 8 y se procedió a una nueva extracción con diclorometano; esta vez, la fase orgánica se concentró para obtener los "alcaloides libres" presentes en la fracción metanólica.

Fracción de alcaloides hidrolizados. La fase acuosa residual, obtenida en la etapa anterior, se ajustó a un pH de 2 y se mantuvo en reflujo por 3 horas y posteriormente se ajustó a un pH de 8. Finalmente se extrajo la fracción de "alcaloides liberados" con diclorometano.

b) Caracterización fisicoquímica

Para realizar la caracterización parcial de las fracciones obtenidas, se realizaron los siguientes análisis:

Cromatografía en capa fina (ccf). Para la resolución de los componentes de cada fracción se realizó la cromatografía en capa fina, empleando cromatofolios de sílica gel de 20x20 centímetros con indicador de fluoresceína. Se empleó como eluyente una mezcla de cloroformo:etanol (4:1). Las placas se revela-

ron con reactivo de Dragendorff. El comportamiento migratorio de las sustancias (R_f) se describió en función de la relación entre el frente de la mancha y el frente del disolvente. Se corrió como estándar el alcaloide β -eritroidina, contra el cual se compararon los valores de R_f de las fracciones trabajadas.

Análisis infrarrojo (IR). Para esta prueba, las fracciones alcaloideas se cristalizaron formando pastillas utilizando bromuro de potasio, para su posterior análisis en un espectrofotómetro de infrarrojo STIR Perkin Elmer 1600, con valores de frecuencias máximas de 200 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} .

Análisis diferencial calorimétrico (ADC). Esta prueba se realizó en un calorímetro diferencial Shimadzu DSC-50, utilizando celdas de aluminio y una atmósfera de nitrógeno.

El análisis diferencial calorimétrico, así como el infrarrojo, se realizaron en el Laboratorio de Química de la Unidad Profesional de Ingeniería y Biotecnología (UPIBI) del Instituto Politécnico Nacional.

c) Evaluación de la toxicidad

Dosis letal media (DL_{50}). Se utilizaron ratones de la cepa CD-1 con peso de 30-45 gramos, que se mantuvieron en el bioterio de la FES Iztacala, UNAM bajo condiciones controladas de luz y temperatura, con libre acceso a agua y alimento. Los animales se distribuyeron de manera aleatoria en grupos independientes ($n=10$) para recibir por vía intraperitoneal (ip) cada una de las dosis a probar.

Las dosis a aplicar de cada fracción, se calcularon con base en el trabajo publicado por Garín-Aguilar, *et al.* (2000) y fueron las siguientes: fracción

hexánica: 180, 360, 400, 460 y 500 mg/kg de peso; fracción metanólica: 85, 82.5, 77.5, 75 y 50 mg/kg de peso; fracción de alcaloides hidrolizados: 30, 32, 34, 36 y 38 mg/kg de peso. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de Probit para obtener la curva dosis-respuesta y determinar la DL_{50} .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

TRABAJO DE CAMPO Y DE GABINETE

Colecta de ejemplares y registro de uso

En el transcurso de la investigación en la localidad se encontró que las inflorescencias de la especie *Erythrina americana* conocida como “Pemoche cultivado”, son consumidas como alimento que complementa la dieta básica del grupo Tének asentado en San Pedro de las Anonas, mientras que la infusión de las inflorescencias de *Erythrina herbacea* conocida como “Pemoche silvestre” que crece en la sierra, se emplea como tranquilizante para el tratamiento de la “locura” (la persona se encuentra trastornada, grita, corre hacia la sierra, golpea y se pone violenta). Además, es costumbre quemar a *Erythrina herbacea* cuando llega a crecer cerca de los sembradíos de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*).

Asimismo, nos comunicaron no saber de alguien que en su comunidad utilice las flores de esta planta para su alimentación, lo que contradice el trabajo de Ávila, *et al.* (1994) que la reporta con este uso.

La información existente acerca de la especie permitió conocer que históricamente en los Estados Unidos (particularmente en el Estado de Florida), *Erythrina herbacea* es considerada como una planta representativa de su cultura, de amplia importancia económica en términos de horticultura (Floridata, 1997). Sin embargo, en México, no se le ha considerado con fines de explotación comercial, a pesar de ser de amplia distribución y fácil propagación.

Determinación taxonómica

Al cotejar los ejemplares colectados durante las visitas en el año de 1998, con aquellos colectados el 17 de abril de 1994 por Areli González Santillán e Ignacio G. Barajas León del grupo de Garín y Valencia, determinados en 1995 por el experto en leguminosas, Dr. Mario Sousa Sánchez del Instituto de Biología y que fueron depositados ese mismo año en el Herbario Nacional "MEXU" del mismo Instituto (registros 599010, 654912 y 654920), se pudo establecer que la planta, conocida por la comunidad Tének como "Pemoche silvestre", es *Erythrina herbacea* L.

TRABAJO EXPERIMENTAL

Extracción de las fracciones alcaloides

El contenido en porcentaje de los extractos de alcaloides obtenidos con respecto al peso seco de las semillas, procesados mediante la técnica descrita por Games, *et al.* (1974) fueron: fracción hexánica: 0.0411%, fracción metanólica: 0.1471% y fracción de alcaloides hidrolizados: 0.245%. En el cuadro 1 se presentan los rendimientos obtenidos por otros autores en algunas especies del género, así como los obtenidos en el presente trabajo.

La fracción de alcaloides hidrolizados para *Erythrina herbacea*, presentó un porcentaje de 0.245% del peso total de la semilla, inferior al obtenido por Folkers y Koniuszy (1940) de 1.41% para esta especie, siendo sin embargo ésta la de mayor rendimiento, el cual se encuentra en los límites inferiores reportados en la literatura para otras especies, que van desde 0.21% para *E. tholloniana* (Chawla, *et al.*, 1985) hasta 2.65 % para *E. abyssinica* (Folkers y Koniuszy, 1940), lo que indica una amplia variación del contenido de alcaloides hidrolizados en las diferentes especies de *Erythrina*.

Sumando los porcentajes de las fracciones metanólica y hexánica, se obtiene el total de alcaloides libres, siendo en este trabajo de 0.1882%. Este valor es cercano al reportado para *E. brucei* de 0.19% (Chawla, *et al.*, 1985), *E. leptorhiza* de 0.18% y *E. melanacantha* de 0.19% (Soto-Hernández y Jackson, 1994). Sin embargo, de igual manera, estos porcentajes son muy variables, desde 0.67 % de *E. tholloniana* (Chawla, *et al.*, 1985) hasta 0.11% para *E. americana* (Folkers y Koniuszy, 1940) y *E. variegata* (Soto-Hernández y Jackson, 1994).

Las variaciones observadas en los porcentajes pueden deberse a la especie y variedad que se trabajó (Hargreaves, *et al.*, 1974; Krukoff y Barneby, 1974), así como al grado de madurez de la planta, ya que al ser metabolitos secundarios, los alcaloides se concentran en diferente cantidad conforme ésta va madurando (Hargreaves, *et al.*, 1974; Taiz y Zeiger, 1991); tiempo y lugar de colecta, debido a las diferentes condiciones ambientales en que se desarrolla la planta (Taiz y Zeiger, 1991; Barz y Köster, 1981), así como al método de extracción empleado (Folkers y Koniuszy, 1940).

En virtud de lo anterior, se considera que el método de extracción fue adecuado, dado que los datos obtenidos están dentro de los valores obtenidos por otros autores, mismos que se resumen en el cuadro 1.

<i>Especie</i>	<i>% de fracción alcaloidea</i>	<i>Reportado por:</i>
<i>E. abyssinica</i>	2.65 hidrolizados	Folkers y Koniuszy, 1940 _c
<i>E. americana</i>	0.31 hidrolizados 0.11 libras*	Folkers y Koniuszy, 1940 _c
	0.13 hidrolizados 0.40 libras	Sotelo, Soto-Hernández, Lucas y Giral, 1993
<i>E. brucei</i>	0.78 hidrolizados 0.19 libras	Chawla, <i>et al.</i> , 1985
<i>E. leptorhiza</i>	0.35 hidrolizados 0.18 libras	Soto-Hernández y Jackson, 1994
<i>E. melanacantha</i>	0.24 hidrolizados 0.19 libras	Soto-Hernández y Jackson, 1994
<i>E. tholloniana</i>	0.21 hidrolizados 0.67 libras	Chawla, <i>et al.</i> , 1985
<i>E. variegata</i>	0.33 hidrolizados 0.11 libras	Soto-Hernández y Jackson, 1994
<i>E. americana</i>	0.224 hidrolizados 0.068 frac. hexánica 0.279 frac. metanólica	Garín-Aguilar, <i>et al.</i> , 2000
<i>E. herbacea</i>	1.41 hidrolizados	Folkers y Koniuszy, 1940 _c
<i>E. herbacea</i>	0.245 hidrolizados 0.0411 frac. hexánica 0.1471 frac. metanólica	Presente trabajo

Cuadro 1. Contenido en porcentaje de la fracción de alcaloides libres e hidrolizados en semillas del género *Erythrina*. * No considera la fracción hexánica. (Modificado de Garín-Aguilar, *et al.*, 2000).

Caracterización fisicoquímica

Cromatografía en capa fina (ccf). En el cuadro 2 se presentan los valores de R_f de las manchas obtenidas al correr la cromatografía en capa fina de los tres extractos y del alcaloide puro β -eritroidina. Se observa que la fracción hexánica y la metanólica presentaron tres manchas que indican la presencia de alcaloides al dar reacción positiva con el reactivo de Dragendorff, mientras que en la fracción de alcaloides hidrolizados, solo dos manchas dieron reacción positiva para alcaloides.

Fracción hexánica	Fracción metabólica	Alcaloides hidrolizados	β -eritroidina
0.069	0.032	0.050	0.303
0.288	0.057	0.294	
0.316	0.299		

Cuadro 2. Valores de R_f de las manchas que dieron reacción positiva para alcaloides en cada una de las fracciones.

En la cromatografía en capa fina, el alcaloide β -eritroidina presentó un valor de $R_f = 0.303$. La fracción hexánica presentó tres manchas con valores de 0.069, 0.288 y 0.316, siendo este último el más cercano al presentado por β -eritroidina, lo cual sería una posible indicación de la presencia de este alcaloide junto con otros dos aún no identificados en la fracción. Sin embargo, la fracción metanólica presenta tres manchas correspondientes a alcaloides con valores de 0.032, 0.057 y 0.299, siendo esta última aún más cercana al valor de R_f para β -eritroidina, lo cual permite suponer una mayor probabili-

dad de su presencia que en la fracción anterior. La fracción de alcaloides hidrolizados solo presentó dos manchas positivas con el reactivo de Dragendorff que señala la presencia de alcaloides con R_f s de 0.05 y 0.294 (Cuadro 2). Cabe señalar que se debe continuar con el discernimiento de la presencia de β -eritroidina principalmente en las fracciones donde se sospecha su presencia.

Espectroscopía de infrarrojo (IR). Masouda en 1991, reportó para β -eritroidina los siguientes valores de IR V_{max}^{KBr} cm^{-1} : 2810, 1720, 1090, 810 y 645; y Chawla, Jackson y Ldgate en 1982, da el valor para este alcaloide de 1720 correspondiente a un grupo carbonilo lactónico. Algunos de los valores de IR V_{max}^{KBr} cm^{-1} obtenidos en este estudio, en el espectro de β -eritroidina, fueron de 2826, 1737.4, 1087.4, 810.8 y 653.3 (cuadro 3), datos muy similares a los reportados por Masouda (1991).

En las fracciones metanólica e hidrolizada también se encontraron valores semejantes a las frecuencias de β -eritroidina, siendo estos para la fracción metanólica de 2925.7, 1733.5, 1106, 803.6 y 657.7, y para la fracción de alcaloides hidrolizados de 2926.6, 1726.3, 1100.3, 802.6 y 663.9 (cuadro 3). Sin embargo se presentan también varios picos diferentes en las fracciones que pueden representar la presencia de otros grupos funcionales (Fig. 13).

β -eritroidina (Masouda, 1991)	β -eritroidina (estándar)	Fracción metabólica	Alcaloides hidrolizados
2810	2826.0	2925.7	2926.6
1720	1737.4	1733.5	1726.3
1090	1087.4	1106.0	1100.3
810	810.8	803.6	802.6
645	653.3	657.7	663.9

Cuadro 3. Valores de IR $V_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$ para las diferentes fracciones alcaloideas. Se presentan los valores obtenidos para β -eritroidina, así como los reportados por Masouda (1991).

Las similitudes de algunos valores de IR reportados en la literatura con los del presente trabajo, también permiten suponer que el alcaloide β -eritroidina se encuentra en las fracciones metanólica y de alcaloides hidrolizados.

Por otro lado, Nakanishi y Solomon (1977) reportan valores de 2800~2700 cm^{-1} para el grupo *trans*-Quinolizidina el cual presenta un átomo de nitrógeno entre dos anillos de seis carbonos (tres carbonos unidos a un nitrógeno en el enlace C-N), estructura muy similar a la que se presenta en la estructura de los alcaloides de tipo eritranano. El valor más cercano obtenido en este estudio es de 2826 para el estándar β -eritroidina, superior al reportado por la bibliografía.

La diferencia puede deberse a la posición del nitrógeno en los alcaloides de *Erythrina*, ya que éste se encuentra entre un anillo de seis carbonos y otro de cinco carbonos. Asimismo, para la fracción metanólica se obtuvo un valor de 2925.7 y para la fracción de alcaloides hidrolizados de 2926.6, lo que se explica por tratarse de mezclas, por lo cual los datos pudieran ser menos precisos.

Es necesario realizar el análisis correspondiente de la fracción hexánica, ya que no se llevó a cabo, así como correr la cromatografía en capa fina con otros alcaloides estándares presentes en el género *Erythrina*.

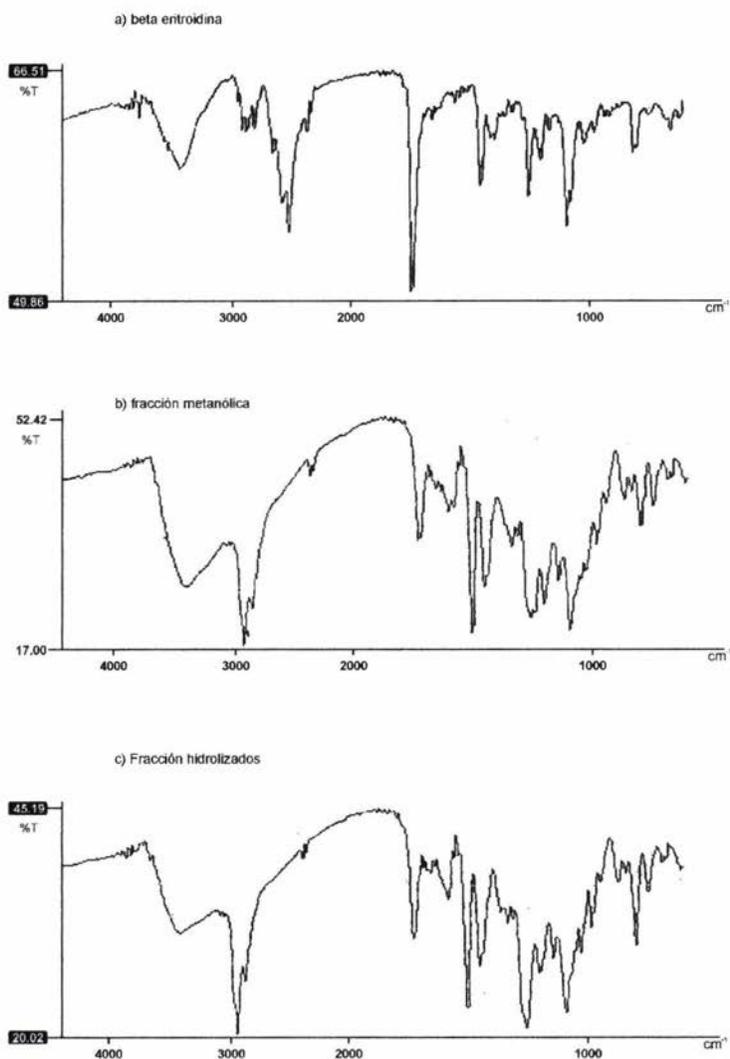


Figura 13. Espectro Infrarrojo de: a) β -eritroidina, b) fracción metanólica y c) alcaloides hidrolizados.

Análisis diferencial calorimétrico (ADC). El análisis diferencial calorimétrico para el alcaloide β -eritroidina presentó un pico endotérmico a los 218.70° C (Fig. 14). La fracción metanólica de alcaloides presentó tres picos endotérmicos a los 42.12, 176.62 y 218.31° C y un pico exotérmico de 95.43° C (Fig. 15). La fracción hexánica presentó sólo dos picos endotérmicos de 140.77 y 217.19° C (Fig. 16), mientras que la fracción de alcaloides hidrolizados (Fig. 17) presentó cinco picos de fusión exotérmicos a los 85.56, 96.57, 104.33, 107.57 y 116.31° C y sólo un pico de fusión endotérmico a los 228.15° C (Cuadro 4).

Muestra	Pico endotérmico °C	Pico exotérmico °C
β -eritroidina (Fusión 211.84° C)	218.70	—
Fracción metanólica	042.12 176.62 218.31	095.43
Fracción hexánica	140.77 217.19	—
Alcaloides hidrolizados	228.15	085.560 096.570 104.330 107.570 116.310

Cuadro 4. Valores de los picos endotérmicos y exotérmicos que se registraron en el análisis diferencial calorimétrico para β -eritroidina y para las fracciones alcaloideas.

En el cuadro 4 se observa que uno de los picos endotérmicos de la fracción de alcaloides solubles en metanol se presenta a 218.31° C el cual es similar al pico de fusión endotérmico presentado en el registro de β -eritroidina a 218.7° C.

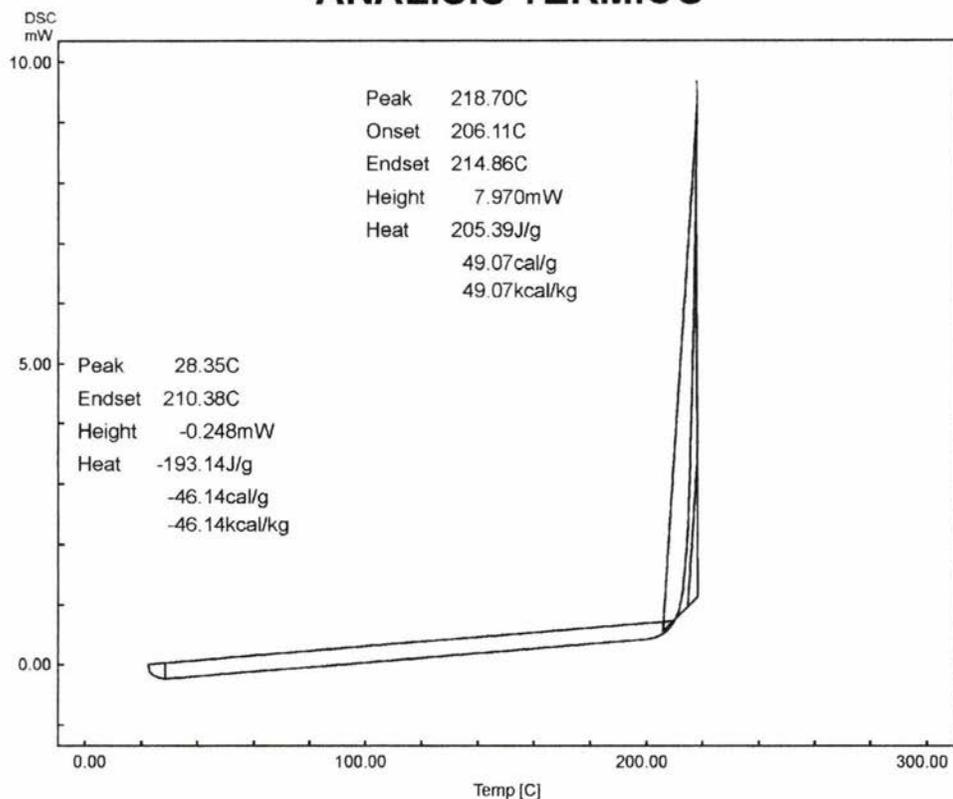
lo cual sugiere la presencia de este alcaloide en la fracción metanólica, además del registro de otros tres picos, dos de ellos endotérmicos y uno exotérmico, que a su vez permiten suponer la presencia de otras sustancias de naturaleza alcaloidea.

La fracción hexánica, presentó dos picos, uno a 140.77°C que se aleja de la temperatura de fusión registrada para β -eritroidina, y otro a 217.9°C cercana a ésta.

En la fracción de alcaloides hidrolizados se presenta un sólo pico endotérmico de 228.15°C , valor que no es cercano al de 218.7°C de la β -eritroidina, por lo que en esta fracción se puede descartar la presencia de este alcaloide, adicionalmente, los valores de R_f obtenidos en la ccf no son cercanos al R_f del alcaloide tipo.

Los picos exotérmicos presentes también podrían indicar la presencia de otras sustancias en esta fracción, debido a que en la cromatografía sólo se presentan dos manchas correspondientes a alcaloides (Cuadro 2).

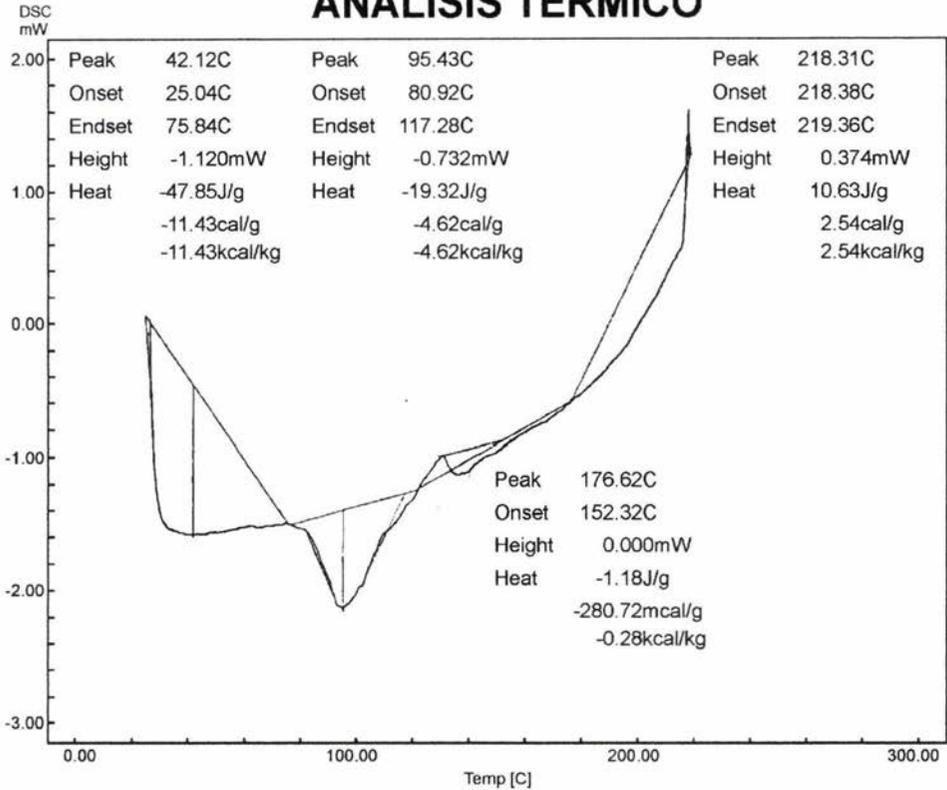
ANALISIS TERMICO



File Name:	G1.D00	Temp Program		
Detector Type:	Shimadzu DSC-50	Rate	Hold Temp	Hold Time
Sample Name:	ERITROIDINA	[C/min]	[C]	[min]
Weight:	3.040[mg]	5.0	220.0	5.0
Cell:	Aluminum			
Atmosphere:	Nitrogen			SHIMADZU CORPORATION
Rate Flow:	20.00[ml/min]			LAB. DE INSTRUMENTACION
Operator:	L.F. ESQUIVEL			U.P.I.B.I.
Comment:	ALCALOID VS. VACIO			I.P.N.

Figura 14. Análisis térmico de β -eritroidina.

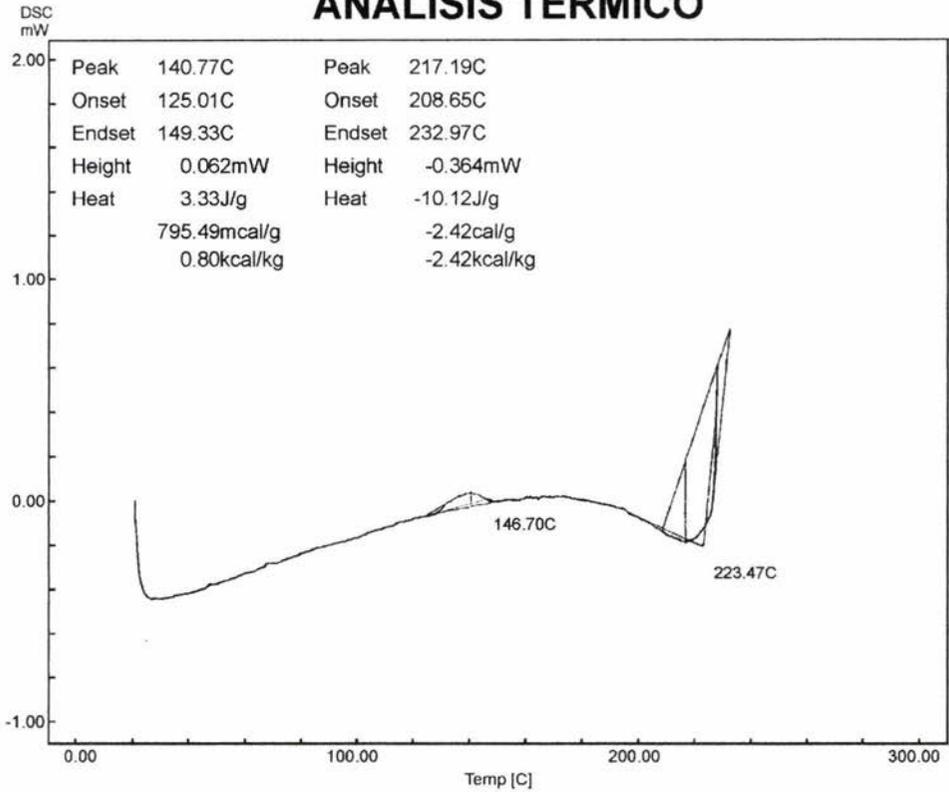
ANALISIS TERMICO



File Name:	G2.D00	Temp Program		
Detector Type:	Shimadzu DSC-50	Rate	Hold Temp	Hold Time
Sample Name:	FRACCION METANOLICA	[C/min]	[C]	[min]
Weight:	9.525[mg]	5.0	220.0	5.0
Cell:	Aluminum			
Atmosphere:	Nitrogen		SHIMADZU CORPORATION	
Rate Flow:	20.00[ml/min]		LAB. DE INSTRUMENTACION	
Operator:	L.F. ESQUIVEL		U.P.I.B.I.	
Comment:	METANOLICA VS VACIO		I.P.N.	

Figura 15. Análisis térmico de la fracción metanólica.

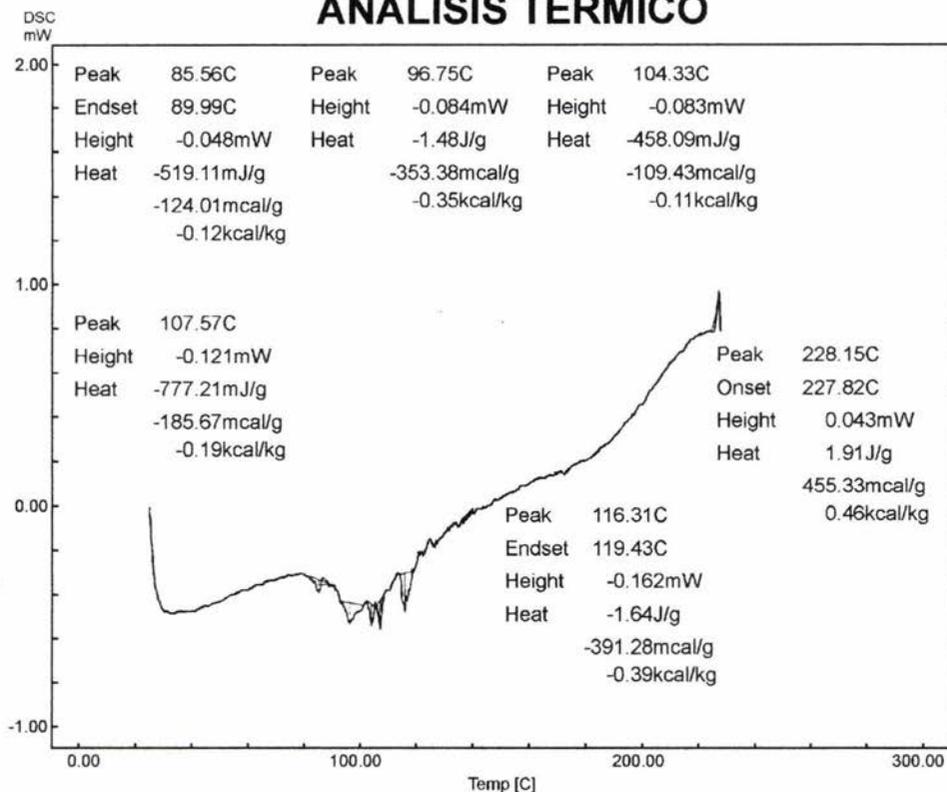
ANÁLISIS TÉRMICO



File Name:	G3.D00	Temp Program		
Detector Type:	Shimadzu DSC	Rate	Hold Temp	Hold Time
Sample Name:	FRACCION HEX.	[C/min]	[C]	[min]
Weight:	2.710[mg]	5.0	230.0	5.0
Cell:	Aluminum			
Atmosphere:	Nitrogen		SHIMADZU CORPORATION	
Rate Flow:	20.00[ml/min]		LAB. DE INSTRUMENTACION	
Operator:	L.F. ESQUIVEL		U.P.I.B.I.	
Comment:	HEXANICA VS VACIO		I.P.N.	

Figura 16. Análisis térmico de la fracción hexánica.

ANALISIS TERMICO



File Name:	G4.D00	Temp Program		
Detector Type:	Shimadzu DSC-50	Rate	Hold Temp	Hold Time
Sample Name:	FRACCION HIDROLIZADOS	[C/min]	[C]	[min]
Weight:	2.748[mg]	5.0	230.0	5.0
Cell:	Aluminum			
Atmosphere:	Nitrogen		SHIMADZU CORPORATION	
Rate Flow:	20.00[ml/min]		LAB. DE INSTRUMENTACION	
Operator:	L.F. ESQUIVEL		U.P.I.B.I.	
Comment:	HIDROLIZADOS VS VACIO		I.P.N.	

Figura 17. Análisis térmico de la fracción de alcaloides hidrolizados.

Evaluación de la toxicidad

Dosis letal media (DL₅₀). Para cada una de las dosis administradas, se determinó el número de animales que murieron después de la administración intraperitoneal de las fracciones. Los valores de DL₅₀ se obtuvieron realizando el análisis de Probit, obteniéndose así cada una de las curvas dosis-respuesta graficando el logaritmo de la dosis vs. el porcentaje de muerte, que a continuación se muestran (Figs. 18, 19 y 20) y cuyos valores se indican en el Cuadro 5.

Fracción metabólica	Fracción hexánica	Alcaloides hidrolizados
78.45 mg/kg	418.22 mg /kg	34.21 mg/kg

Cuadro 5. Valores de DL₅₀ para las tres fracciones alcaloideas.

En la figura 18, se observa la curva obtenida después de aplicar el análisis de Probit con las dosis de la fracción metanólica administrada. Los valores de probabilidad están expresados como logaritmo de la dosis. El valor obtenido para la DL₅₀ de esta fracción correspondió a 78.45 mg/kg. Esta fracción requirió de una dosis 5 veces menor en comparación con la fracción hexánica (Fig. 19), misma que fue de 418.22 mg/kg de peso.

DOSIS (mg/kg)	LOG DOSIS	% DE MUERTE	PROBABILIDAD
68.21572	1.833884467	1	0.01
69.41545	1.841456143	2	0.02
70.17664	1.846192571	3	0.03
70.74925	1.849721840	4	0.04
71.21503	1.852571662	5	0.05
71.61148	1.854982649	6	0.06
71.95909	1.857085663	7	0.07
72.27033	1.858960038	8	0.08
72.55339	1.860657709	9	0.09
72.81395	1.862214591	10	0.10
73.89273	1.868601712	15	0.15
74.75011	1.873611836	20	0.20
75.48567	1.877864514	25	0.25
76.14623	1.881648406	30	0.30
76.75833	1.885125517	35	0.35
77.33915	1.888399395	40	0.40
77.90111	1.891543646	45	0.45
78.45415	1.894615921	50	0.50
79.00720	1.897666671	55	0.55
79.56915	1.900744719	60	0.60
80.14998	1.903903418	65	0.65
80.76208	1.907207496	70	0.70
81.42263	1.910745126	75	0.75
82.15819	1.914650863	80	0.80
83.01557	1.919159554	85	0.85
84.09435	1.924766818	90	0.90
84.35491	1.926110366	91	0.91
84.63798	1.927565290	92	0.92
84.94922	1.929159396	93	0.93
85.29682	1.930932840	94	0.94
85.69327	1.932946716	95	0.95
86.15905	1.935300902	96	0.96
86.73166	1.938177659	97	0.97
87.49285	1.941972564	98	0.98
88.69258	1.947887288	99	0.99

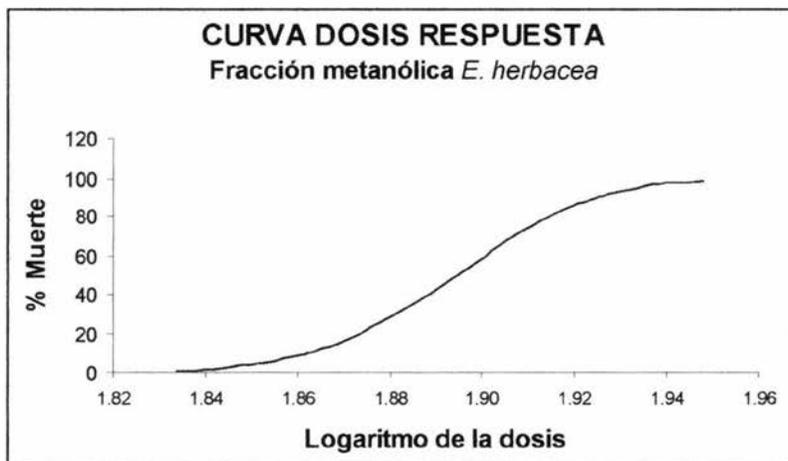


Figura 18. Curva dosis-respuesta de DL₅₀ de la fracción metanólica.

DOSIS (mg/kg)	LOG DOSIS	% DE MUERTE	PROBABILIDAD
276.53352	2.441747782	1	0.01
293.13676	2.467070283	2	0.02
303.67099	2.482403305	3	0.03
311.59547	2.493591135	4	0.04
318.04143	2.502483697	5	0.05
323.52796	2.509911819	6	0.06
328.33857	2.516321902	7	0.07
332.64589	2.521982162	8	0.08
336.56323	2.527066667	9	0.09
340.16915	2.531694925	10	0.10
355.09862	2.550348985	15	0.15
366.96408	2.564623556	20	0.20
377.14359	2.576506731	25	0.25
386.28511	2.586907968	30	0.30
394.75609	2.596328839	35	0.35
402.79422	2.605083230	40	0.40
410.57120	2.613388482	45	0.45
418.22488	2.621409865	50	0.50
425.87856	2.629285777	55	0.55
433.65555	2.637144909	60	0.60
441.69368	2.645121185	65	0.65
450.16466	2.653371398	70	0.70
459.30617	2.662102279	75	0.75
469.48569	2.671622359	80	0.80
481.35115	2.682462014	85	0.85
496.28062	2.695727316	90	0.90
499.88653	2.698871434	91	0.91
503.80388	2.702261508	92	0.92
508.11120	2.705958768	93	0.93
512.92181	2.710051166	94	0.94
518.40833	2.714671971	95	0.95
524.85429	2.720038751	96	0.96
532.77878	2.726546919	97	0.97
543.31300	2.735050097	98	0.98
559.91625	2.748123072	99	0.99

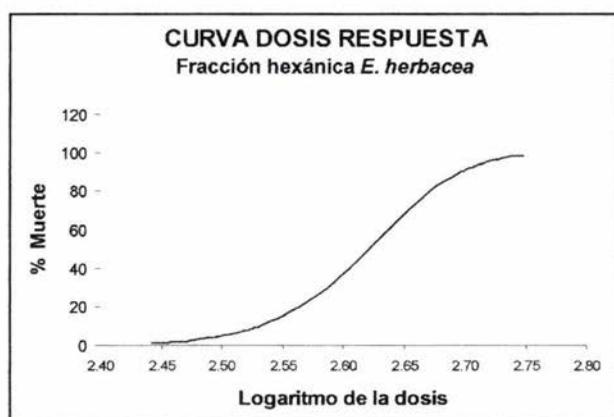


Figura 19. Curva dosis-respuesta de DL_{50} de la fracción hexánica.

DOSIS (mg/kg)	LOG DOSIS	% DE MUERTE	PROBABILIDAD
23.97686	1.379792307	1	0.01
25.17615	1.400989317	2	0.02
25.93707	1.413920914	3	0.03
26.50948	1.423401209	4	0.04
26.97508	1.430962741	5	0.05
27.37139	1.437296853	6	0.06
27.71887	1.442775522	7	0.07
28.03000	1.447623098	8	0.08
28.31296	1.451985275	9	0.09
28.57343	1.455962377	10	0.10
29.65182	1.472051355	15	0.15
30.50890	1.484426549	20	0.20
31.24419	1.494769270	25	0.25
31.90451	1.503852079	30	0.30
32.51639	1.512102324	35	0.35
33.09700	1.519788630	40	0.40
33.65876	1.527098112	45	0.45
34.2116	1.534173386	50	0.50
34.76445	1.541135363	55	0.55
35.32620	1.548096923	60	0.60
35.90682	1.555176945	65	0.65
36.51870	1.562515309	70	0.70
37.17901	1.570297821	75	0.75
37.91431	1.578803157	80	0.80
38.77138	1.588511259	85	0.85
39.84978	1.600425928	90	0.90
40.11024	1.603255261	91	0.91
40.39320	1.606308260	92	0.92
40.70433	1.609640611	93	0.93
41.05189	1.613332416	94	0.94
41.44812	1.617504837	95	0.95
41.91373	1.622356311	96	0.96
42.48614	1.628247276	97	0.97
43.24705	1.635956488	98	0.98
44.44635	1.647836102	99	0.99

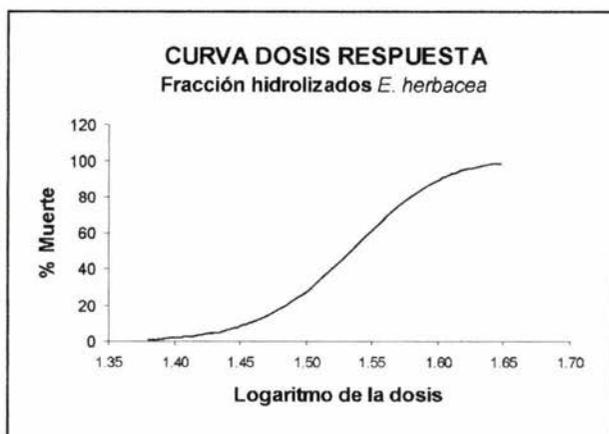


Figura 20. Curva dosis-respuesta de DL₅₀ de la fracción de alcaloides hidrolizados.

Diversos autores han determinado la DL₅₀ de algunos alcaloides del género *Erythrina* (Cuadro 6).

Alcaloide o Fracción	Especie	DL ₅₀ (mg/kg) Vía de administración			Reportado por:
		IP	Oral	SC	
β-eritroidina	No especificado	24			Berger y Schwartz, 1948
β-eritroidina	No especificado	29.5			Megirian, <i>et al.</i> , 1955
yodhidrato de β-eritroidina yodhidrato dihidro-β-eritroidina	<i>E. americana</i>	27 6.55			García-Mateos, Garín-Aguilar, Soto-Hernández y Martínez- Vásquez, 2000
Erisopina	No especificado		18	14.8	Unna y Greslin, 1944
Fracción de alcaloides totales	<i>E. variegata</i>	127.8			Ghosal, <i>et al.</i> , 1972
Hexánica Metanólica Hidrolizados	<i>E. americana</i>	40.37 38.54 39.69			Garín-Aguilar, <i>et al.</i> , 2000
Alcohólica	<i>E. americana</i>	600			Lehman, 1937
Hexánica Metanólica Hidrolizada	<i>E. herbacea</i>	418.22 78.45 34.21			Presente trabajo

Cuadro 6. Reportes de DL₅₀ de algunos alcaloides libres y fracciones alcaloideas de *Erythrina*.

Comparando las dosis obtenidas de las fracciones de alcaloides (cuadro 6) con los resultados de Ghosal, *et al.* (1972), quienes reportan una DL₅₀ por vía intraperitoneal de 127.8 mg/kg con la fracción total de alcaloides crudos de *Erythrina variegata*, este último queda comprendido dentro de los valores medios obtenidos en este estudio.

Por otra parte, Garín-Aguilar, *et al.* (2000), utilizando la misma técnica, extrajeron fracciones alcaloideas a partir de semillas de *E. americana*, y administrándolas por vía intraperitoneal, obtuvieron una DL_{50} de 40.37 mg/kg de peso para la fracción hexánica, de 38.54 mg/kg para la fracción metanólica y de 39.69 mg/kg para la fracción de alcaloides hidrolizados, esta última similar a la obtenida en el presente trabajo para *E. herbacea* (34.21 mg/kg); mientras que Lehman (1937) reporta una DL_{50} de 600 mg/kg para el extracto alcohólico de *E. americana*, muy superior a los obtenidos por Garín-Aguilar, *et al.* (2000) en la misma especie y los obtenidos en este estudio para *E. herbacea*, lo cual pudiera deberse no sólo al método de extracción de las fracciones, sino que la diferencia puede deberse también a la variación en cantidad y tipo de alcaloides contenidos en las diferentes especies, debido a que la estructura de cada alcaloide influye en la actividad farmacológica expresada por cada fracción (Kuschinsky y Lüllmann, 1973; Clark, Brater y Johnson, 1990).

Trabajos posteriores al presente, realizados en el laboratorio con cromatografía de gases y cromatografía de líquidos/espectrómetro de masas, confirmaron la presencia de β -eritroidina en la fracción metanólica y en la fracción de alcaloides hidrolizados, además de erisopina y erisodina en esta última fracción (Garín-Aguilar, Valencia, Sánchez-Herrera, Soto-Hernández y García, 2001).

Los valores de DL_{50} obtenidos para las fracciones hexánica (418.22 mg/kg) y metanólica (78.45 mg/kg) del presente trabajo, resultan ser considerablemente superiores a aquellos reportados por diversos autores para β -eritroidina administrada por vía intraperitoneal, siendo éstos de 24 mg/kg (Berger y

Schwartz, 1948), de 29.5 mg/kg (Megirian, *et al.*, 1955) y de 27 mg/kg (García-Mateos, *et al.*, 2000). De los alcaloides de *Erythrina*, éste ha sido reportado como el más activo fisiológicamente e incluso, ha sido utilizado con cierto éxito, en medicina clínica, en la aplicación de anestesia como sustituto del curare (Craig, 1981).

Que se requiera administrar menos dosis de β -eritroidina para que el 50% de los animales muera, se explica por el hecho de que los alcaloides puros presentan una mayor potencia que los extractos alcaloideos, en los que están presentes varios alcaloides, los cuales pueden presentar un antagonismo o competencia entre sí, requiriéndose así de dosis más altas para provocar la muerte de los sujetos experimentales (Kuschinsky y Lüllmann, 1973; Clark, *et al.*, 1990).

Por otro lado, Unna y Greslin (1944), reportan una DL_{50} del alcaloide erisopina, de 18 y 14.8 mg/kg de peso, por vías oral y subcutánea respectivamente, siendo las dosis más bajas en cuanto a alcaloides puros. Como ya se mencionó, este alcaloide se encuentra en la fracción hidrolizada, lo que pudiera explicar la toxicidad ligeramente mayor de esta fracción alcaloidea de *E. herbacea*. A pesar de ello, no existe un parámetro de comparación entre los datos reportados para los alcaloides libres y los obtenidos para las diferentes fracciones, dado que se trata de sustancias puras que además han sido administradas por diferentes vías.

El análisis integral de los resultados obtenidos en el presente estudio, permitió llegar a las siguientes:

CONCLUSIONES

- ♦ La planta conocida por la comunidad Tének de San Pedro de las Anonas, como "Pemoche silvestre" corresponde a *Erythrina herbacea*.
- ♦ El contenido de alcaloides crudos en las semillas de *Erythrina herbacea* fue de 0.0411% para la fracción hexánica, 0.1471% para la fracción metanólica y 0.245% para la fracción de alcaloides hidrolizados, siendo esta última la que presentó mayor rendimiento.
- ♦ Al corroborarse que la planta "Pemoche silvestre" corresponde a *Erythrina herbacea* y teniendo en cuenta que en trabajos previos con ejemplares nativos del estado de la Florida, Estados Unidos, se pudieron aislar los alcaloides erisodina, erisovina, y erisopina de las semillas (Folkers y Koniusky, 1940_v) y erisotrina (Ahmad, 1979 en Garín-Aguilar, *et al.*, 2001) de las hojas, es de esperarse que las especies del estado mexicano de San Luis Potosí, presenten estos alcaloides.
- ♦ Los valores de R_f de la cromatografía en capa fina sugieren la presencia del alcaloide β -eritroidina en la fracción metanólica así como de otros alcaloides.
- ♦ Los picos obtenidos en el espectro de infrarrojo (IR) por su parte, sugieren la presencia de los grupos funcionales de este alcaloide en las fracciones metanólica y de alcaloides hidrolizados principalmente el enlace C-N de los alcaloides de *Erythrina*.

- ◆ El análisis diferencial calorimétrico (ADC) indica la posible presencia del alcaloide β -eritroidina únicamente en la fracción metanólica.
- ◆ La información de estos tres análisis aporta datos preliminares sobre la presencia de β -eritroidina en las semillas de *Erythrina herbacea* principalmente en la fracción metanólica, y posiblemente, como lo indica el IR, en la fracción de alcaloides hidrolizados.
- ◆ La dosis letal media (DL_{50}) de las fracciones administradas por vía intraperitoneal en ratones fue de 418.22 mg/kg para la fracción hexánica, de 78.45 mg/kg para la fracción metanólica y de 34.21 mg/kg para la fracción de alcaloides hidrolizados.
- ◆ La fracción de alcaloides crudos obtenida de semillas de *Erythrina herbacea* que presentó mayor toxicidad fue la metanólica.

RECOMENDACIONES

Es importante promover el cuidado y conservación de la *Erythrina herbacea*, implementando un programa de uso sustentable de la especie, que beneficie económicamente a las comunidades huastecas, mediante la producción y comercialización de la planta y sus semillas con fines de ornato, tanto a nivel local, nacional como internacional. En este sentido, es importante instruir a los lugareños acerca de los beneficios ecológicos que la planta proporciona a aquellas especies biológicas que la rodean, lo cual es particularmente importante si se considera que, aunque también se encontró que crecen en la sierra y en las orillas de los caminos, comúnmente las plantas de *Erythrina herbacea* que crecen asociadas a sembradíos de caña de azúcar son quemadas.

Desde el punto de vista del análisis químico, se debe continuar con los estudios de discernimiento que permitan confirmar o descartar la presencia de alcaloides de interés farmacológico y médico reportados en la literatura para otras especies del género, principalmente de β -eritroidina, ya que junto con sus derivados, es el que se sabe que tiene más potencia para bloquear los impulsos nerviosos en la transmisión mioneural al músculo esquelético, es decir, que tiene el mayor efecto curarizante (Unna y Greslin, 1944). Asimismo, se debe profundizar en la evaluación de los efectos farmacológicos de las fracciones alcaloideas o alcaloides puros obtenidos de las semillas de *Erythrina herbacea* ya que pueden ser una fuente importante de estas sustancias.

Por otra parte y dado que los datos de temperatura o puntos de fusión de sustancias puras que se reportan en la literatura son de poco valor cuando se desean hacer comparaciones con un perfil técnico, se recomienda realizar

técnicas complementarias como la transición de ATD, la cromatografía de gases y la espectrometría de masas, que permitan aislar y purificar los alcaloides hasta obtener su estructura química. (Willard, Merrit y Dean, 1978). Asimismo, dado que la dilucidación de los termogramas no siempre es fácil, es sumamente importante crear un archivo de los éstos para cada alcaloide identificado, que sirva de referencia para estudios posteriores.

Por último, se debe profundizar en el estudio etnobotánico y farmacológico de la planta para confirmar o descartar los múltiples usos que las medicinas tradicionales tanto mexicana como cherokee le atribuyen, ya que éstos difieren ampliamente, y en sí mismos podrían ser complementarios.

Literatura citada

- Aguilar, C. A. & Zolla, C. (1982). **Plantas tóxicas de México**. Instituto Mexicano del Seguro Social. México. pp. 97-99.
- Ávila, U. M., Suárez, S. M. L. & Díaz, P. F. J. (1994). **Campesinos Tének en una comunidad campesina rural de la Huasteca Potosina complementan su dieta básica con plantas locales**. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 54: 3-15.
- Barz, W. & Köster, J. (1981). **Turnover and degradation of secondary (natural) products**. En: E. Conn, (Ed.), *The biochemistry of plants*. (Vol. 7) Secondary plant products. Academic Press. New York, U.S.A. pp. 35-80.
- Bautista, C. I. & González, P. (1980). **La salud en las comunidades indígenas**. En: E. Estrada (comp.), (1992). *Plantas medicinales de México, introducción a su estudio*. U.A.CH. México. pp. 37-41.
- Berger, F. M. & Schwartz, R. P. (1948). **The toxicity and muscular effect of d-tubocurarine combined with β -erythroidine, myanesin or evipal**. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 93: 362-367.
- Bernard, J. A & Chayen, R. (1970). **Métodos modernos de análisis químico**. Ediciones URMO. Bilbao, España. pp. 154-169.
- Bevan, J. (1982). **Fundamentos de farmacología: introducción a los principios de acción de los fármacos**. 2ª ed. Harla. México. pp. 43-45.
- Bowman, W. C. & Rand, M. J. (1984). **Farmacología: bases bioquímicas y patológicas, aplicaciones clínicas**. 2ª ed. Interamericana. México. pp. 14-19.
- Bruneton, J. (1991). **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia**. Acribia. Zaragoza, España. pp. 355-366.
- Burger, A. (1960). **Química médica**. Tomo I. Aguilar, S. A. Madrid, España.

- Chawla, A. S., Jackson, A. H. & Ldgate, P. (1982). ***Erythrina* alkaloids Part 6. Isolation and characterization of alkaloids of *Erythrina berteroana* seeds and leaves: Formation of oxoerythroidines.** *Journal of the Chemical Society*, 1: 2903-2907.
- Chawla, A. S., Redha, F. M. J. & Jackson, A. H. (1985). **Alkaloids in seeds of four erythrine species.** *Phytochemistry*, 24 (8): 1821-1823.
- Clark, W. G., Brater, D. C. & Johnson, A. R. (1990). *Farmacología clínica*. 12ª ed. Médica Panamericana. México. pp. 43-49.
- Craig, L. E. (1981). **Curare-like effects.** En: R. H. F. Manske & H. L. Holmes, (Ed.), *The alkaloids: Chemistry and physiology*. Academic Press. New York, U.S.A. pp. 265-293.
- Domínguez, S. X. A. (1982). **Cromatografía en papel y en capa delgada.** Serie de química. Monografía No. 16. 2ª ed. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, D. C., U.S.A.
- Elias, T. (1980). **The Complete Trees of North America. Field Guide and Natural History.** Van Nostrand Reinhold Co. U.S.A. 229 pp.
- ESM-IPN Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional (1992). **Manual de prácticas de laboratorio.** Sección de Farmacología. I.P.N. México. pp. 10-34.
- Estrada, L. E. I. J., Hernández, E., Rojas, T., Mark, E. & Casina, M. A. (1988). **Códice florentino: Su información etnobotánica.** En: E. Estrada (comp.), (1992). *Plantas medicinales de México, introducción a su estudio*. U.A.CH. México. pp. 185-198.
- Evans, S. R & Hofmann, A. (2000). **Plantas de los Dioses, orígenes del uso de los alucinógenos.** 2ª ed. Fondo de Cultura Económica. México. pp. 43.
- Evans, W. C. (1991). **Farmacognosia Trease y Evans.** 13ª ed. Interamericana McGraw-Hill. México. pp 590-597.
- Facciola, S. (1990). **Cornucopia -a source book of edible plants.** Kampong Publications. U.S.A. 183 pp.

- Faucon, P. (2000). **Plant scientific names**. [En red]. Disponible en: Desert-Tropicals'.com. http://www.desert-tropicals.com/Plants/Fabaceae/Erythrina_herbacea.html
- Floridata™ (1997). ***Erythrina herbacea*, Cherokee bean family Leguminosae (bean family)**. [En red]. Disponible en: Streetside attractions. <http://www.streetside.com/plants/floridata/ref/e/erythrin.htm>
- Folkers, K. & Koniuszy, F. (1940_a). ***Erythrina* alkaloids. VII. Isolation and characterization of the new alkaloids, erythraline and erythratine**. *Journal of the American Chemical Society*, 62:436-441.
- Folkers, K. & Koniuszy, F. (1940_b). ***Erythrina* alkaloids. VIII. Studies on the constitution of erythramine and erythraline**. *Journal of the American Chemical Society*, 62:1673-1677.
- Folkers, K. & Koniuszy, F. (1940_c). ***Erythrina* alkaloids. IX. Isolation and characterization of erysodine, erysopine, erysocine and erysovine**. *Journal of the American Chemical Society*, 62:1677-1683.
- Folkers, K. & Major, R. T. (1937). **Isolation of erythroidine, an alkaloid of curare action, from *Erythrina americana* Mill.** *Journal of the American Chemical Society*, 59: 1580-1581.
- Gali, H. (1985). **Las Hierbas del Indio**. Gómez Editores. México.
- Games, D. E., Jackson, A. H., Kahn, N. A. & Millington, D. S. (1974). **Alkaloids of some African, Asian, Polynesian and Australian species of *Erythrina***. *Lloydia*, 37, (4): 581-588.
- García-Mateos, R., Garín-Aguilar, M. E., Soto-Hernández, M. & Martínez-Vásquez, M. (2000). **Effect of β -eritroidine from *Erythrina americana* on rats aggressive behaviour**. *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, 10 (1): 34-37.
- Garín-Aguilar, M. E., Ramírez, L. J. E., Soto-Hernández, M., Valencia del T., G. & Martínez, V. M. (2000). **Effects of crude extracts of *Erythrina americana* Mill. on aggressive behavior in rats**. *Journal of Ethnopharmacology*, 69: 189-196.

- Garín-Aguilar, M. E., Ramírez, L. J. E. & Valencia del T. G. (1997). **Evaluación farmacológica de dos fracciones alcaloideas de semillas de *Erythrina americana***. *Productos naturales, Vol. III: perspectivas biotecnológicas*. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México, D.F. ISBN: 970-654-120-9.
- Garín-Aguilar, M. E., Valencia del T. G., Sánchez-Herrera, S. G., Soto-Hernández, M., & García, A. J. (2001). **Alcaloides de *Erythrina herbacea***. *Productos naturales, Vol. IV: perspectivas biotecnológicas*, 10-19. UAM-Iztapalapa, México, D.F. ISBN: 970-654-928-5.
- Ghosal, S., Dutta, S. K. & Bhattacharya, S. K. (1972). ***Erythrina*-chemical and pharmacological evaluation II: Alkaloids of *Erythrina variegata* L.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 61, (8):1274-1277.
- Ghosal, S., Majumdar, S. K. & Chakraborti, A. (1971). ***Erythrina* alkaloids III. Occurrence of (+)-N-norprotosinomenine and other alkaloids in *Erythrina lithosperma* (Leguminosae)**. *Australian Journal of Chemistry*, 24: 2733-2735.
- González, M. S. & Peñalosa, C. I. (2000). **Biomoléculas: Métodos de análisis**. UNAM-FES Iztacala. México. pp. 1-2.
- Granados, S. D. & Mendoza, A. O. (1982). **Los árboles y el ecosistema urbano**. Universidad Autónoma Chapingo. México. pp. 87-92.
- Guillory, J. K., Hwang, S. C. & Lach, J. L. (1969). **Interactions between pharmaceutical compounds by thermal methods**. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, (3): 301-308.
- Hargreaves, R. T., Johnson, R. D., Millington, D. S., Mondal, M. H., Beavers, W., Becker, L., Young, C. & Rinehart Jr., K. L. (1974). **Alkaloids of American species of *Erythrina***. *Lloydia*, 37, (4): 569-580.
- Hastings, R. B. (1990). **Medicinal legumes of Mexico: Fabaceae, Papilionoidae, part one**. *Economic Botany*, 44, (3): 336-348.
- Herbert, T. J. (1997). **About the genus "*Erythrina*"**. [En red]. Disponible en: Department of Biology, University of Miami. <http://fig.cox.miami.edu/Faculty/Tom/erythrina.html>

- Hill, J. W. & Kolb, D. K. (1999). **Química para el nuevo milenio**. 8ª ed. Prentice Hall-Hispanoamericana-Pearson. México. pp. 561, 596.
- Horticipia® Plant Information (2002). ***Erythrina herbacea*** Coral Bean. [En red]. Disponible en: Horticipia®. <http://www.hortipix.com/pc1662.htm>
- Huxley, A. (1992). **The New RHS Dictionary of Gardening**. MacMillan Press. U.S.A. 200 pp.
- INEGI Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (1990). **XI Censo de Población y Vivienda de San Luis Potosí**. México, D. F.
- I.N.I. Instituto Nacional Indigenista (1996). **Atlas de las lenguas indígenas de México**. (DIPC-209/98 texto inédito) pp 14-15.
- ITIS Integrated Taxonomic Information System (2002). ***Erythrina herbacea* L.** [En red]. Disponible en: ITIS. http://www.itis.usda.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=26678
- Krukoff, B. A. & Barneby, R. C. (1974). **Conspectus of species of the genus *Erythrina***. *Lloydia*, 37, (3): 332-459.
- Kuschinsky, G. & Lüllmann, H. (1973). **Manual de farmacología**. Marín. España. pp 298-313.
- Lehman, A. J. (1936). **Curare-actions of *Erythrina americana***. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 33, (4): 501-503.
- Lehman, A. J. (1937). **Actions of *Erythrina americana*, a possible curare substitute**. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 60, (1):69-81.
- Leyva, J. A. (1988). **Breve historia de la química en México: de las plantas medicinales a la tabla periódica**. En ICyT-Información. México.
- Lozoya, L. X. (1989). **La medicina tradicional en la realidad político-social de México**. *Ciencias*, 14:27-33.
- Lozoya, L. X. & Lozoya, M. (1982). **Flora Medicinal de México, primera parte**. Instituto Mexicano del Seguro Social. pp 174-192.

- Maldoni, B. (1991). **Alkaloids: Isolation and purification.** *Journal of Chemical Education*, 68, (8): 700-703.
- Martínez, M. (1996). **Las plantas medicinales de México.** 6ª ed. Ediciones Botas. México. pp. 77-79.
- Masouda, E. (1991). **The tetracyclic *Erythrina* alkaloids.** *Journal of Natural Products*, 54, (2): 329-363.
- Megirian, D., Leary, D. E. & Slater, I. H. (1955). **The action of some derivatives of beta-erythroidine on peripheral neuro-effector systems.** *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 113: 212-227.
- Moerman, D. (1998). **Native American Ethnobotany.** Timber Press. Oregon, U.S.A. 257 pp.
- Morcillo, R. J. (1974). **Espectroscopia infrarroja.** Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico de la Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Buenos Aires, Argentina. 75 pp.
- Musálem, M. A. (1992). ***Erythrina* in Mexico: Occurrence, use and research.** International Conference on *Erythrina* in the New and Old World. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Octubre 19-23. Turrialba, Costa Rica.
- Nakagawa, O. M. (1991). **Determinación de la dosis letal 50% del extracto acuoso de colorín (*Erythrina americana*) por vía oral en ratas sprague-dawley.** Tesis de licenciatura no publicada, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Ciudad Universitaria, México, D. F. 30 pp.
- Nakanishi, K. & Solomon, P. H. (1977). **Infrared absorption spectroscopy.** 2ª ed. Holden Day. San Francisco, California, U.S.A. 287 pp.
- NAL National Agricultural Library (2000). ***Erythrina herbacea* L.** Plate No. 877. [En red]. Disponible en: <http://www.nal.usda.gov/curtis/herbcotr.htm>

- Navarro, C. O. (2000). **La Huasteca Potosina**. [En red]. Disponible en: México Desconocido. <http://www.mexicodesconocido.com.mx/espanol/historia/prehispánica>
- Neill, D. A. (1988). **Experimental studies on species relationships in *Erythrina* (Leguminosae: Papilionoideae)**. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 75, (3): 886-969.
- Neill, D. A. (1993). **The genus *Erythrina*: taxonomy, distribution and ecological differentiation**. En: Westly, S. B. & Powell, M. H. (Eds). Nitrogen Fixing Tree Association. *Erythrina* in the old and new worlds. NFTA. Hawaii, USA.
- Niembro, A. (1990). **Árboles y arbustos útiles de México naturales e inducidos**. Limusa. México. 89 pp.
- Pelletier, W. (1983). **Alkaloids** (Vol. 1), The nature and definition of an alkaloid. John Willey & Sons. pp. 1-31.
- Pick, E. P. & Richards, G. V. (1946). **The synergism of anesthetics and hypnotics with curare and curare-like alkaloids**. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 90, (1):1-13.
- Plummer, D. T. (1981). **Introducción a la bioquímica práctica**. McGraw-Hill. México. pp. 57-83.
- Ramírez, E. & Rivero, M. D. (1935). **Contribución al estudio de la acción farmacodinámica de la *Erythrina americana***. *Anales del Instituto de Biología*, 6:301-305.
- Russell, A. B., Hardin, J. W., Grand, L. & Fraser, A. (1997). **Poisonous Plants of North Carolina**. [En red]. Disponible en: NC State University College of Agriculture & Life Sciences. <http://www.ces.ncsu.edu/depts/hort/consumer/poison/Erythhe.htm>
- Russo, R. O. (1990). **Leguminosae (Papilionoidae): A versatile genus for agroforestry system in the tropics**. *Journal of Sustainable Agriculture*, 1: 89-109.

- Rzedowski, J. (1978). **La vegetación de México**. Limusa. México. 432 pp.
- Rzedowski, J. (1992). **Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México**. *Ciencias*, No. especial 6: 47-56.
- Sánchez, H. S. G. (2000). **Estudio químico-biológico de los alcaloides de *Erythrina americana* Miller y *Erythrina coralloides* A.DC.** Tesis de Maestría en ciencias no publicada, Colegio de Postgraduados, Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Instituto de Recursos Naturales, Especialidad de Botánica, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. 90 pp.
- Sánchez, V. A. (1992). ***Erythrina sp.* en el alto balsas poblano**. División de Ciencias forestales. Universidad Autónoma Chapingo, México. pp
- Scalabrin, D. A. (1984). **Structural studies of *Erythrina* alkaloids**. Tesis de doctorado no publicada (Ph. D.), University of Wales., Cardiff, United Kindom.
- Secretaría de Programación y Presupuesto (1983). **Anuario estadístico del Estado de San Luis Potosí**.
- SMS Smithsonian Marine Station (2002). **Species name: *Erythrina herbacea* common name: (Eastern Coralbean)**. [En red]. Disponible en: Smithsonian Marine Station. http://www.sms.si.edu/IRLSpec/Erythr_herbac.htm
- Solís, F. (2000). **Pasajes de la historia no. 5: ciudades y pueblos de la Huasteca**. [En red]. Disponible en: México Desconocido. <http://www.mexicodesconocido.com.mx/espanol/historia/prehispánica>
- Solomons, T. W. G. (1992). **Química orgánica**. Limusa. México. pp 911-916.
- Sotelo, A., Soto-Hernández, M., Lucas, B., Giral, F. (1993). **Comparative studies of the alkaloidal composition of two mexican *Erythrina* species and nutritive value of the toxified seeds**. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 41:2340-2343.



- Soto-Hernández, M. & Jackson, A. H. (1994). ***Erythrina* alkaloids: Isolation and characterization of alkaloids from seven *Erythrina* species.** *Planta Medica*, 60: 175-177.
- Standley, P. C. (1982). **Tree and shrubs of Mexico.** Straus & Cramer, GmbH. Alemania.
- Taiz, L. & Zeiger, E. (1991). **Plant physiology.** The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc. Redwood City, California, U.S.A. pp 318-345.
- Toledo, V. M. (1974). **Observations on the Relationship Between Hummingbirds and *Erythrina* species.** *Lloydia*, 37, (3): 482-487.
- Toledo, V. M. (1988). **La diversidad biológica de México.** *Ciencia y Desarrollo*, 14, (81): 17-30.
- TreeGuide Inc. (2000). **Southeastern coralbean, *Erythrina herbacea*, L. Fabaceae.** [En red]. Disponible en: TreeGuide. <http://www.treeguide.com/nn/Species.asp?SpeciesID=389&Region=NorthAmerican>
- Tyler, V. E., Brady, L. R. & Robbers, J. E. (1988). **Pharmacognosy.** 9^a ed. Lea & Febiger. Philadelphia, U.S.A. pp. 186-249.
- Unna, K. & Greslin, J. G. (1944). **Pharmacologic action of *Erythrina* alkaloids II. Free, liberated and combined alkaloids.** *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 80, (39): 53-61.
- Unna, K., Kniazuk, M. & Greslin, J. G. (1944). **Pharmacologic action of *Erythrina* alkaloids I. β -erythroidine and substances derived from it.** *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 80, (39): 38-52.
- USDA United States Department of Agriculture (2002). **United States Department of Agriculture.** [En red]. Disponible en: <http://www.usda.gov>

- USDA-ARS National Genetic Resources Program (2002). **Germplasm Resources Information Network (GRIN)**. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. [En red]. Disponible en: USDA-ARS National Genetic Resources Program. <http://www.ars-grin.gov/var/apache/cgi-bin/npgs/html/genus.pl?4442>
- Villacis, L.R. (1978). **Plantas medicinales de México**. Época. México. pp. 5-11.
- Vogel, A. I. (1977). **Elementary practical organic chemistry. Part 2: Qualitative organic analysis**. 2^a ed. Longman Press. London. pp 258-279.
- Vollhard, K. P. C. & Schore, N. E. (1999). **Organic Chemistry: Structure and Function**. 3^a ed. W. H. Freeman and Company. U.S.A. pp 452-458.
- Willard, H. H., Merrit, L. L. & Dean, J. A. (1978). **Métodos instrumentales de análisis**. Compañía Editorial Continental. México. pp. 533-559.
- Wunderlin, R. & Hansen, B. (2000). **Atlas of Florida vascular plants**. [En red]. Disponible en: ISB Institute for Systematic Botany. <http://www.plantatlas.usf.edu/main.asp?plantID=3264>

ANEXO 1

TÉCNICAS DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

Cromatografía en capa fina (ccf)

La cromatografía es una técnica sencilla que se utiliza ordinariamente para separar una serie de solutos mezclados en un solvente común, en sus componentes individuales (González y Peñalosa, 2000). Es un proceso continuo análogo a la destilación fraccionada, pero que resulta más preciso, dado que separan los componentes de una mezcla sobre un soporte estacionario, donde la separación se efectúa por medio de una fase fluida móvil (solvente) que transporta los componentes de la mezcla a velocidades diferentes a lo largo del soporte. Es posible hacer ascender el solvente sobre una banda particular disolviendo o eluyendo la mezcla. El solvente, que realiza dicha elusión se llama eluyente, mientras que la solución del componente eluido se llama eluato (Bernard y Chayen, 1970).

La cromatografía en capa fina (ccf), es una variación que consiste en utilizar una placa soporte de vidrio en forma de capa fina y uniforme como fase estacionaria, que comúnmente utiliza materiales tales como la alúmina, gel de sílice, kieselguhr, celulosa, celulosa aceitada y celulosa combinadora de iones. Dichos materiales se preparan finamente pulverizados para que succionen el solvente a gran velocidad (Plummer, 1981).

La condición porosa de la placa desplaza el solvente desde una línea base hacia arriba por capilaridad, siendo el flujo de esta fase fluida móvil inicialmente rápido, pero volviéndose gradualmente más lento hasta que se detiene

por completo, cuando la fuerza debida a la capilaridad se equilibra con la acción de la gravedad. Cuando esto sucede, se saca la placa y se marca con un lápiz la posición del frente del solvente y se deja secar. Después de esto, los componentes se revelan comúnmente utilizando un reactivo que forme un compuesto coloreado con el grupo funcional investigado, ya sea en forma de pulverización fina con un atomizador, o en forma de un baño de revelado (Plummer, 1981). De esta manera, se visualiza la posición de los compuestos presentes en la mezcla mediante una reacción coloreada. Las moléculas pueden caracterizarse midiendo la distancia de migración del solvente y la distancia de migración de una fracción determinada.

Esta razón se establece entre la distancia que ha migrado un compuesto y la distancia recorrida por el solvente, y se conoce como el valor R_f para esa sustancia, y, si las condiciones se mantienen, el valor es más o menos constante para un compuesto, es decir, si el sistema de solventes y tipo de material empleado como fase estacionaria se mantienen bajo condiciones cuidadosamente controladas de concentración de soluto, temperatura y pH, el valor será reproducible y podrá utilizarse para caracterizar una molécula (González y Peñalosa, 2000).

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por el compuesto}}{\text{Distancia recorrida por el frente del solvente}}$$

El cromatograma ideal es aquel en que los componentes aparecen como manchas bien definidas, claramente separadas, y donde el grado de movi-

miento o R_f está determinado por dos tendencias opuestas, la retención en la fase estacionaria y el movimiento (o solubilidad) en la fase móvil (Bernard y Chayen, 1970).

La ccf es una microtécnica particularmente útil para la separación de una mezcla, ya que no sólo puede realizarse el análisis cualitativo, sino que también permite establecer la posición de los componentes de la mezcla e incluso, el color producido puede servir para la determinación cuantitativa, mediante una prueba complementaria con un densitómetro (Bernard y Chayen, 1970).

La principal ventaja de esta técnica radica en su sencillez y versatilidad, principalmente porque, a diferencia de la cromatografía en columna y sobre papel, amplía la posibilidad de elección de la fase estacionaria, el tiempo de desarrollo de la prueba es más corto, permite una fácil recuperación de los componentes separados, es más sensible (del orden de diez a cien veces más), permite hacer varias columnas comparativas, utilizar variaciones en los espesores y revelar por separado cada uno de los compuestos obtenidos (Bernard y Chayen, 1970; Plummer, 1981).

Análisis infrarrojo (IR)

La espectroscopia infrarroja, es utilizada para la identificación de grupos funcionales, ya que el espectro es característico de cada uno de ellos (Vogel, 1977).

Los átomos que forman una molécula oscilan o vibran alrededor de sus posiciones en equilibrio. Al iluminar un conjunto de moléculas con radiación infrarroja de frecuencia apropiada, ocurre una absorción, por las moléculas, de la energía de radiación. Eso se debe a que estos sistemas (átomos o molé-

culas) se caracterizan por valores continuos de su energía, llamados niveles energéticos, cuya transición o paso de un nivel a otro da lugar a dicha emisión o absorción de radiación que se expresa en unidades de energía, las cuales equivaldrán a la separación entre dos niveles que da lugar a dicha cantidad de radiación.

El registro gráfico del porcentaje de la radiación obtenida (o transmitida) por una muestra de sustancia, en función de la longitud de onda o del número de ondas de la radiación infrarroja incidente es lo que se llama espectro infrarrojo. La frecuencia o el número de ondas de una línea del espectro es, por lo tanto, directamente proporcional a la variación de energía existente entre los dos niveles energéticos en los que tiene lugar la transición (Morcillo, 1974; Nakanishi y Solomon, 1977).

Para caracterizar la radiación infrarroja se utiliza el número de ondas, expresado en cm^{-1} que se considera como una unidad de energía y que es el inverso de la longitud de onda (expresada en cm); por lo tanto, es el número de la radiación contenida en un centímetro.

Este análisis, por lo tanto, se basa en el hecho de que las moléculas orgánicas absorben radiaciones electromagnéticas en la región $4000 - 650 \text{ cm}^{-1}$, 2.5 -15 m, incrementando su energía rotacional y vibracional, produciendo estiramientos y flexiones de grupos atómicos unidos de modo covalente. Cada átomo o grupo de átomos tienen períodos naturales de oscilación y su amplitud puede ser incrementada suplementando energía, resultando en un cambio en el momento dipolar, siendo la energía absorbida rotacional y la intensidad de radiación disminuida al pasar a través del compuesto (Domínguez, 1982).

Algunos intervalos de radiación infrarroja característicos de moléculas orgánicas se presentan en el cuadro 7.

Enlace	Grupo funcional	$\tilde{\nu}$ cm ⁻¹
RO-H	alcoholes	3200-3650
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{RCO-H} \end{array}$	ácidos carboxílicos	2500-3300
R ₂ N-H	aminas	3250-3500
RC≡C-H	alquinos	3260-3330
RC≡CH	alquinos	2100-2260
C=C	alquenos	1620-1680
C-H	alcanos	2840-3000
RC-OR'	alcoholes, éteres	1000-1260

Cuadro 7. Intervalos de IR $\tilde{\nu}$ cm⁻¹ de algunas moléculas orgánicas (Volhardt y Schore, 1999)

Análisis diferencial calorimétrico (ADC)

El análisis diferencial calorimétrico (ADC) o análisis térmico diferencial (ATD) es una técnica térmica en la cual los efectos del calor asociados con cambios físicos o químicos se miden como una función de tiempo o temperatura, mientras una sustancia se va calentando de manera uniforme. Este método ha sido empleado en la industria farmacéutica para la detección y estimación de impurezas, y para establecer la identidad de formas polimórficas y solvatadas (Guillory, Hwang y Lach, 1969).

En este análisis se mide la temperatura de la muestra y de un material de referencia térmicamente inerte en función de la temperatura programada

(que por lo general se aplica a la muestra). La muestra y el material de referencia son colocados en recipientes diferentes y la temperatura de cada recipiente es incrementada o disminuida a una velocidad predeterminada. Cuando la muestra alcanza su punto de fusión, esta permanece a esa temperatura hasta que todo el material ha pasado al estado líquido, debido a que el proceso de fusión es endotérmico.

La endoterma es registrada en forma de pico en el termograma conforme la fusión ocurre. Cualquier transición de la muestra resulta en un desprendimiento o absorción de energía, presentándose una correspondiente desviación en la temperatura de dicha muestra con respecto a la de referencia. Esta temperatura diferencial (DT), graficada en función de la temperatura programada (T) a la que está siendo sometido todo el sistema, indica la temperatura a la que se verifica una transición y si ésta es endotérmica.

En general, cualquier sustancia produce un termograma de ATD en el que el número, posición y forma de las características endotérmicas y exotérmicas, sirven como medio de identificación cualitativa de la sustancia. Cuando se verifica un cambio endotérmico, la temperatura de la muestra se atrasa con respecto a la de referencia debido al calor absorbido por la misma.

En un termograma, el punto de iniciación de un cambio de fase o de una reacción química corresponde al punto en el cual la curva comienza a desviarse de la línea base. Cuando la transición se completa, la fusión térmica restablece rápidamente el equilibrio de la muestra. La temperatura del pico (o mínima) indica el punto en el que la reacción es completa. Cuando la curva no exhibe una inflexión definida, es posible obtener un punto reproducible

trazando una línea tangente a la línea base, y otra tangente a la pendiente inicial de la curva. El termograma ATD permite deducir diversos tipos de comportamiento (Willard, *et al.*, 1978).

ANEXO 2

Evaluación de la Toxicidad

DOSIS LETAL MEDIA (DL_{50})

Un parámetro farmacológico útil para la evaluación de cualquier principio activo es la Dosis Letal Media (DL_{50}), la cual corresponde a aquella dosis donde la mitad de los individuos mueren al ser tratados con un fármaco. La DL_{50} es la medida más común de toxicidad aguda y expresa la dosis que resulta letal para el 50% de los animales ensayados, es decir, en la que la mitad de los sujetos de una población experimental presentan efectos tóxicos agudos que les provocan la muerte.

Se determina cuando se administran diversas dosis de la sustancia experimental a distintos grupos de animales. Solo se administra una dosis a cada animal, y usualmente también se registran los tipos de síntomas tóxicos que desarrollan. Luego se representa el porcentaje de animales muertos en cada grupo en función de la dosis y a partir de esta curva se calcula la dosis que mata al 50% de los animales. Se elige esta relación dosis-mortalidad dado que puede ser determinada con mayor precisión; la curva de la DL_{50} se aproxima a una línea recta, y sólo tiene interés para el farmacólogo experimental, ya que junto con la determinación de la dosis efectiva media (DE_{50}), que es la dosis en la cual una droga actúa al cincuenta por ciento de potencia, sirven para conocer el índice terapéutico que a su vez, permite establecer el margen de seguridad (efectividad en relación con la toxicidad, es decir, hasta qué punto puede ser incrementada una dosis terapéutica sin que produzca efectos adversos) de las sustancias con un uso farmacológico potencial, que son

de interés para el farmacólogo clínico (Clark, *et al.*, 1990; ESM-IPN, 1992). En experimentos con animales, el índice terapéutico se refiere a la relación entre la DL_{50} y la DE_{50} , de la siguiente manera (Clark, *et al.*, 1990):

$$\text{Índice Terapéutico} = \frac{DL_{50}}{DE_{50}}$$

Las evaluaciones de cada una de las dosis se analizan mediante un análisis de Probit (Unidades de Probabilidad) empleando un método de regresión ponderada iterativa (Bevan, 1982). Realizado el análisis estadístico, los valores de las probabilidades obtenidas en logaritmo de la dosis que corresponden a los porcentajes de mortalidad se grafican para obtener una curva dosis-respuesta y la DL_{50} de cada una de las fracciones de alcaloides evaluados.