



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Aislamiento, identificación y actividad
farmacológica de los componentes vasoactivos
de *Argemone mexicana*.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A:
JUAN LUIS ESCOBAR RAMÍREZ

MÉXICO, D.F.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO.

PRESIDENTE: Q.F.I. Estela Valencia Plata.
VOCAL: Dr. Gil Alfonso Magos Guerrero.
SECRETARIO: M. en C. Ma. Teresa Griselda Fuentes Lara.
SUPLENTE: Q.A. Juan Carlos Rojas Ruiz.
SUPLENTE: Q.F.B. Ma. Elena Flores Ponce.

La presente tesis:

“Aislamiento, identificación y actividad farmacológica de los componentes vasoactivos de Argemone mexicana”.

Se realizó en el Laboratorio de Fitofarmacología N° 4 Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina, UNAM. Bajo la dirección de Dr. Gil Alfonso Magos Guerrero y la asesoría de la M. en C. Ma. Teresa Griselda Fuentes Lara.

***“Bokura wa mezashita Shangri-La yokubou wa osaekirezu ni
kuusou ni mamireta "jiyuu" o motometsudzuketa”
Angela***

TABLA DE CONTENIDO

Abreviaturas	i
Lista de espectros	ii
Lista de figuras	ii
Lista de gráficas	ii
Lista de tablas	iii
Lista de registros	iv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES TEÓRICOS.....	4
2.1. Hipertensión arterial sistémica	4
2.2. Definición y clasificación de la hipertensión arterial sistémica.....	4
2.3. Epidemiología.....	5
2.4. Sintomatología.....	7
2.5. Tratamiento	8
2.5.1. Fármacos útiles en la HAS	10
2.5.1.1. Diuréticos	10
2.5.1.2. Inhibidores del sistema nervioso simpático	11
2.5.1.3. Vasodilatadores arteriales directos	13
2.5.1.4. Bloqueadores de canales de calcio.....	13
2.5.1.5. Inhibidores del sistema renina - angiotensina	14
2.6. Características de <i>Argemone mexicana</i> Linn	17
2.6.1. Taxonomía.....	17
2.6.2. Nombres	17
2.6.3. Aspectos botánicos.....	17
2.6.3.1. Distribución y hábitat	17
2.6.3.2. Morfología	18
2.7. Historia	19
2.8. Usos Etnomédicos.....	20
2.9. Estudios químicos	21
2.10. Estudios farmacológicos.....	23
2.10.1. En el sistema cardiovascular	23
2.10.2. En el área de infectología	24
2.10.3. Otros estudios.....	25
2.11. Efectos adversos y/o tóxicos	25
2.11.1. En humanos	25
2.11.2. En animales	26
2.12. Características de la vasculatura del lecho mesentérico de rata.....	27
2.12.1. Estructura y componentes	27
2.12.2. Resistencia periférica arterial.....	27
2.12.3. Control de la resistencia periférica.....	28

3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
4.	OBJETIVOS	30
	4.1. General.....	30
	4.2. Específicos	30
5.	HIPÓTESIS	31
6.	MATERIAL Y MÉTODOS	32
	6.1. Reactivos.....	32
	6.2. Preparación de soluciones	32
	6.3. Recolección de <i>Argemone mexicana</i>	32
	6.4. Preparación de extracto metanólico	33
	6.5. Preparación del lecho mesentérico en ratas anestesiadas	33
	6.5.1. Disección del lecho mesentérico	33
	6.6. Incremento de la PA del lecho mesentérico por el EMeOH.....	36
	6.7. Disminución de la PA del lecho mesentérico por el EMeOH	36
	6.8. Fraccionamiento por extracción líquido-líquido	37
	6.9. Fraccionamiento del ED por columna cromatográfica.....	37
	6.10. Fraccionamiento del EA por columna cromatográfica.....	38
	6.11. Curvas concentración respuesta de los componentes vasoactivos purificados	38
	6.12. Análisis estadístico	38
7.	RESULTADOS	40
	7.1. Obtención e identificación de <i>A. mexicana</i>	40
	7.2. Rendimiento del extracto metanólico.....	40
	7.3. Incremento de la PA del lecho mesentérico por el EMeOH.....	40
	7.4. Disminución de la PA del lecho mesentérico por el EMeOH	42
	7.4.1. Curva concentración respuesta con NA	42
	7.4.2. Curva concentración respuesta con KCl.....	44
	7.5. Fraccionamiento por extracción líquido-líquido	47
	7.6. Efecto de tres extractos sobre la PA del lecho mesentérico.....	47
	7.6.1. Incremento de la PA del lecho mesentérico.....	47
	7.6.2. Disminución de la PA del lecho mesentérico.....	51
	7.7. Identificación del compuesto contráctil	55
	7.8. Curva concentración respuesta de KNO ₃	55
	7.9. Identificación del compuesto vasorelajante	57
	7.10. Disminución de la PA del lecho mesentérico por berberastina.....	59
	7.10.1. Efecto de berberastina sobre la curva concentración respuesta con NA.....	59
	7.10.2. Efecto de berberastina sobre la curva concentración respuesta con KCl.....	61
8.	DISCUSIÓN.....	64
9.	CONCLUSIONES.....	74
10.	PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES	76

11. ESPECTROS	77
12. ANEXOS	87
A. Descripción detallada de los compuestos informados en la literatura para <i>A. mexicana</i>	87
B. Métodos para la determinación de alcaloides, flavonoides y glucósidos cardiotónicos	99
1. Determinación de alcaloides	99
2. Determinación de flavonoides	99
a) Reacción con vapores de amoníaco	99
b) Reacción con hidróxido de sodio.....	99
3. Determinación de glucósidos cardiotónicos	99
a) Método Baljet	99
b) Método Legal.....	99
C. Reactivos para la determinación de alcaloides y glucósidos cardiotónicos	100
1. Reactivo de Dragendorff.....	100
2. Reactivo de Mayer.....	100
3. Reactivo de Baljet.....	100
D. Pruebas para la Identificación de iones, cationes y radicales	101
13. REFERENCIAS	104

Abreviaturas

%	Por ciento
μ	micro
ARA	Angiotensina
C	Carbono
EA	Extracto Acuoso
EAE	Extracto de Acetato de Etilo
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
ED	Extracto de Diclorometano
EE	Error Estándar
EM	Espectro de Masas
EMeOH	Extracto Metanólico.
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
EtOH	Etanol
g	gramos
h	hora
H	Hidrogeno
HA	Hipertensión Arterial
HAS	Hipertensión Arterial Sistémica
i.p.	intraperitoneal
i.v.	Intravenosa
IECA	Inhibidor de la Enzima Convertidora de Angiotensina
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
IR	Infrarrojo.
J	Constante de acoplamiento
L	Litros.
M	Molaridad.
m	metros.
M ⁺	Ion molecular
MeOH	Metanol
min	minutos
n	nano
NA	Noradrenalina.
NAPRALET	Natural Product Alert
NO	Óxido nítrico
°C	Grado centígrado
OMS	Organización Mundial de la Salud
PA	Presión Arterial
PAD	Presión Arterial Diastólica
PAS	Presión Arterial Sistémica
PE	Polietileno
PM	Peso Molecular
RAA	Renina-Angiotensina-Aldosterona
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
UI	Unidades Internacionales

Lista de espectros

Espectro 1. Espectro de RMN ¹ H (D ₂ O, 400 MHz) de la fracción de <i>A. mexicana</i> que aumenta la PA en el lecho mesentérico.....	77
Espectro 2. Espectro en el IR (KBr) de KNO ₃ presente en <i>A. mexicana</i>	78
Espectro 3. Espectro en el IR (KBr) de KNO ₃ referencia.....	79
Espectro 4. Espectroscopia de Absorción Atómica a la Flama para ion Potasio.....	80
Espectro 5. Espectro en el IR (KBr) de Berberastina.....	83
Espectro 6. Espectro de RMN ¹ H (DMSO, 400 MHz) de Berberastina.....	84
Espectro 7. Espectro de RMN ¹³ C (DMSO, 100 MHz) de Berberastina.....	85
Espectro 8. Espectro de masas (IE, 70 eV) de Berberastina.....	86

Lista de figuras

Figura 1. Principales clases de fármacos antihipertensivos.....	9
Figura 2. <i>A. mexicana</i>	18
Figura 3. Fruto y tallo de la <i>A. mexicana</i>	18
Figura 4. Flor de la <i>A. mexicana</i>	19
Figura 5. Estados de la República Mexicana en los cuales se utiliza la <i>A. mexicana</i> en la medicina popular.....	21
Figura 6. Aminoácidos, ácidos grasos y ácidos orgánicos provenientes de las hojas y el tallo de la <i>A. mexicana</i>	22
Figura 7. Órganos abdominales de la rata.....	34
Figura 8. Representación esquemática de la perfusión del lecho mesentérico.....	35
Figura 9. Estructura de la berberastina y posición de sus átomos de H y C.....	58
Figura 10. Estructuras químicas de berberina y berberastina.....	71

Lista de gráficas

Gráfica 1. Comparación de los incrementos de la PA producidos por el EMeOH con respecto al incremento máximo alcanzado con NA o con KCl.....	41
Gráfica 2. Curvas concentración-respuesta de NA obtenidas antes y después de la perfusión del lecho mesentérico con EMeOH o con prazosina.....	44
Gráfica 3. Curvas concentración-respuesta de KCl obtenidas antes y después de la perfusión del lecho mesentérico con EMeOH o con nifedipina.....	46
Gráfica 4. Comparación de los incrementos de la PA producidos por KNO ₃ con respecto al incremento máximo alcanzado con NA o con KCl.....	57
Gráfica 5. Curvas concentración-respuesta de NA obtenidas antes y después de la perfusión del lecho mesentérico con berberastina o con prazosina.....	61
Gráfica 6. Curvas concentración-respuesta de KCl obtenidas antes y después de la perfusión del lecho mesentérico con berberastina o con nifedipina.....	63

Lista de tablas

Tabla I. Valores de referencia para la PA en el humano de acuerdo a la OMS.	4
Tabla II. Estadios de la HAS.....	5
Tabla III. Valores de referencia para la PA en el humano de acuerdo a la JNC VII.....	5
Tabla IV. Ejemplos de diuréticos útiles en la HAS.....	11
Tabla V. Ejemplos de inhibidores del sistema nervioso simpático útiles en la HAS.....	12
Tabla VI. Ejemplos de bloqueadores de canales de calcio útiles en la HAS.	14
Tabla VII. Ejemplos de IECA útiles en la HAS.....	15
Tabla VIII. Nombres de la <i>A. mexicana</i> en diferentes Estados de la República Mexicana.	17
Tabla IX. Efectos de la <i>A. mexicana</i> en diferentes organismos de prueba.....	24
Tabla X. Promedios del por ciento de incremento de PA en el lecho mesentérico obtenidos con diferentes concentraciones de EMeOH.....	41
Tabla XI. Estadística descriptiva de los efectos producidos por concentraciones crecientes de NA, sobre el lecho mesentérico, en ausencia y presencia del EMeOH o de prazosina adicionadas al líquido de perfusión.	43
Tabla XII. Estadística descriptiva de los efectos producidos por concentraciones crecientes de KCl sobre el lecho mesentérico, en ausencia y presencia del EMeOH o de nifedipina adicionadas al líquido de perfusión.	46
Tabla XIII. Características físicas y rendimientos de los extractos secos obtenidos a partir del EMeOH.	47
Tabla XIV. Promedios del efecto producido por el EAE en lecho mesentérico.....	48
Tabla XV. Promedios del efecto producido por el ED en lecho mesentérico.....	49
Tabla XVI. Promedios del efecto producido por el EA en lecho mesentérico.....	50
Tabla XVII. Promedio del efecto producidos por NA en ausencia y presencia del EAE o de prazosina adicionadas al líquido de perfusión.....	52
Tabla XVIII. Promedio del efecto producido por NA, en ausencia y presencia del ED o de prazosina adicionadas al líquido de perfusión.	53
Tabla XIX. Promedio del efecto producidos por NA, en ausencia y presencia del EA o de prazosina adicionadas al líquido de perfusión.	54
Tabla XX. Promedios del por ciento de incremento de PA en el lecho mesentérico obtenido con diferentes concentraciones de KNO ₃	56
Tabla XXI. Asignaciones de los espectros de RMN ¹ H y ¹³ C para la determinación de berberastina comparadas con las asignaciones publicadas en 1975.	58
Tabla XXII. Estadística descriptiva de los efectos producidos por concentraciones crecientes de NA, sobre el lecho mesentérico, en ausencia y presencia de berberastina o de prazosina adicionadas al líquido de perfusión.....	60
Tabla XXIII. Estadística descriptiva de los efectos producidos por concentraciones crecientes de NA sobre el lecho mesentérico, en ausencia y presencia de berberastina o de nifedipina adicionadas al líquido de perfusión.....	63

Lista de registros

Registro 1. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA en la arteria mesentérica, producidos por concentraciones crecientes e independientes de EMeOH.	40
Registro 2. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA en la arteria mesentérica, producidos por dosis crecientes de NA antes y después de agregar en líquido de perfusión 2 mg/mL de EMeOH.	42
Registro 3. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA en la arteria mesentérica producidos por dosis crecientes de KCl antes y después de agregar en líquido de perfusión 2 mg/mL de EMeOH.	45
Registro 4. Imagen digitalizada que muestra la ausencia de efecto del EAE sobre la PA del lecho mesentérico en condiciones basales.	48
Registro 5. Imagen digitalizada que representa la ausencia de efecto del ED en la PA del lecho mesentérico en condiciones basales.	49
Registro 6. Imagen digitalizada que muestra el efecto del EA en la PA del lecho mesentérico en condiciones basales.	50
Registro 7. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA en el lecho mesentérico producidos por una dosis de NA, antes y después de agregar en el líquido de perfusión 100 mg/mL de EAE.	52
Registro 8. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA en la arteria mesentérica producidos por una dosis de NA antes y después de agregar en líquido de perfusión 100 mg/mL de ED.	53
Registro 9. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA en el lecho mesentérico, producidos por una dosis de NA, antes y después de agregar en líquido de perfusión 100 mg/mL de EA.	54
Registro 10. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA en el lecho mesentérico, producidos por concentraciones crecientes e independientes de KNO ₃	56
Registro 11. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA del lecho mesentérico, producidos por dosis crecientes de NA, antes y después de agregar en líquido de perfusión berberastina.	59
Registro 12. Imagen digitalizada que representa los cambios de KCl en la PA del lecho mesentérico, producidos por dosis crecientes de NA, antes y después de agregar en el líquido de perfusión berberastina.	62

1. INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial sistémica (HAS) es una enfermedad ampliamente extendida que contribuye de forma notable a la morbilidad y mortalidad en los países industrializados. El diagnóstico correcto y su tratamiento apropiado disminuyen significativamente los problemas cardiovasculares de la edad adulta. El diagnóstico de HAS ha estado basado en la demostración de una presión arterial (PA) por encima de un determinado rango de valores considerados normales. Aunque los valores de PA identifican a pacientes con un riesgo superior de accidentes cardiovasculares, un enfoque más moderno debería contemplar la anomalía cardiovascular resultante de la HAS y con base a ello, establecer un pronóstico y un tratamiento adecuado.

En países desarrollados se estima que solamente se diagnostica este trastorno en dos de cada tres individuos que lo padecen, y de ellos, sólo alrededor del 75 % recibe tratamiento farmacológico, y éste es adecuado sólo en el 45 % de los casos.¹

Las plantas medicinales y sus productos derivados han sido milenariamente utilizados en la medicina tradicional de los pueblos, y como materia prima, para la preparación de medicamentos. La industria farmacéutica y herbal conocen la importancia económica del mercado de productos naturales, porque año con año aumenta significativamente. Se estima que a nivel mundial el gasto de fármacos de origen vegetal es aproximadamente de 35 mil millones de dólares anuales.²

El desarrollo de la medicina se ha enfocado a buscar estrategias, procesos o métodos de investigación para descubrir tratamientos que mejoren el bienestar del ser humano. Uno de los tratamientos para combatir enfermedades, es el empleo de medicamentos que contienen sustancias biológicamente activas. En la actualidad, el mayor éxito para buscar dichas sustancias es a través de estudios que valoran cientos de moléculas en preparaciones automatizadas que emplean blancos (enzimas, canales, receptores y transportadores) para determinar si la molécula en estudio interacciona con alguno de ellos. En la mayoría de estos estudios, la selección de las moléculas es aleatoria (random screening) sin importar sus antecedentes.^{3, 4, 5}

Las plantas superiores son una fuente de nuevas moléculas, y se estima que el número de especies que se necesita investigar hasta encontrar una sustancia a comercializar, es alrededor de 400. El esfuerzo para llegar a este fin, puede apreciarse si se considera que de cada especie se obtienen cuando menos dos extractos de cada una de sus partes (cáscaras, hojas, frutos, raíz, etc.). Cada uno de los extractos debe investigarse en diferentes sistemas experimentales que pueden sumar hasta 500, lo que indica que sería necesario examinar más de un millón de extractos para obtener un nuevo medicamento. Las fases necesarias hasta la obtención del medicamento duran de 10 a 15 años y cuestan en promedio, 800 millones de dólares.^{6, 7, 8}

Numerosas plantas han dado origen a compuestos y medicinas de gran importancia para la cura de enfermedades, que por su gravedad, han afectado a la humanidad a través de la historia. Las plantas de origen Latinoamericano han jugado un papel muy importante en la búsqueda de nuevos medicamentos, por ejemplo la Diosgenina con actividad anticonceptiva, o la Emetina con actividad antiamebiana, han sido aisladas de plantas del centro y del sur del continente americano. Actualmente, la eficacia y seguridad de una gran variedad de compuestos aislados de nuestras plantas, están siendo ensayadas para el tratamiento de numerosas enfermedades como el cáncer y el SIDA.⁹

México tiene una gran biodiversidad de plantas potencialmente medicinales que no han sido completamente registradas. Por ejemplo, hace 17 años el Herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social, el más importante de Latinoamérica, censó a curanderos, yerberos y aquellos que utilizan las plantas para curar, y estimo unas 17 000 plantas medicinales. A través de estos contactos logro reunir 11 156 plantas que curan desde un dolor de estómago, hasta una insolación y una gangrena.¹⁰

Actualmente existe una intensa investigación científica sobre las plantas medicinales. Numerosos estudios Químico Farmacológicos se han generado en todo el mundo y a pesar de este importante avance, para la mayoría de las plantas se carece de suficiente investigación científica que permita racionalizar su uso popular. Tal es el caso de

Argemone mexicana, que según la base de datos *Natural Product Alert* (NAPRALERT) se emplea en la India para el tratamiento de la HAS y sin embargo, solo hay un estudio preclínico que señala un efecto hipotensor en perros normotensos anestesiados,¹¹ sin caracterizarlo farmacológicamente y menos aún químicamente.

La presente investigación fue diseñada para valorar los efectos de un Extracto metanólico (EMeOH) obtenido de la parte aérea de *A. mexicana*, sobre la PA del lecho mesentérico, para que guiados por las acciones vasculares de este extracto en dicho modelo experimental, sea fraccionado hasta aislar e identificar los componentes vasoactivos. Todo ello con el propósito de sentar las bases para que posteriormente, se inicien los estudios farmacológicos pertinentes que fundamenten el efecto hipotensor informado para esta planta.

2. ANTECEDENTES TEÓRICOS

2.1. Hipertensión arterial sistémica

A la HAS se le llama el “Asesino Silencioso”, porque en la mayoría de los casos no ocasiona ningún síntoma hasta causar enfermedades serias que si no se detectan a tiempo, o se controlan apropiadamente, pueden terminar con la vida del enfermo. Para un diagnóstico temprano de HAS, el médico debe tener presente que en algunos casos, los pacientes sufren dolores de cabeza, sangrado de nariz (epistaxis), mareos o cansancio extremo.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el mundo occidental la hipertensión arterial (HA) constituye el primer riesgo de muerte en la mujer y el segundo en el hombre. Se estima que el 50 % de las enfermedades cardiovasculares se puede atribuir a la elevación de la presión arterial (PA), la cual es el principal riesgo de ictus y de insuficiencia cardiaca.¹²

2.2. Definición y clasificación de la hipertensión arterial sistémica

De acuerdo con la OMS la HA se define como la elevación sostenida de la PA por encima de los límites normales.^{12, 13} El límite para definir a un paciente como hipertenso es ≥ 140 mm Hg en la presión arterial sistólica (PAS), y ≥ 90 mm Hg en la presión arterial diastólica (PAD), véase **Tabla I**.

Tabla I. Valores de referencia para la PA en el humano de acuerdo a la OMS.

Categoría	Presión sistólica	Presión diastólica
Nivel óptimo	<120 mm Hg	< 80 mm Hg
Normal	120 a 129 mm Hg	80 a 84 mm Hg
Normal alta*	130 a 139 mm Hg	85 a 89 mm Hg
Hipertensión	140 o más mm Hg	90 o más mm Hg

Si se trata de un paciente diabético con nefropatía (proteinuria) estas cifras deben ser consideradas como si fuera hipertensión y requiere tratamiento farmacológico.

Fuente: Hipertensión arterial en México Guías y recomendaciones para su detección, control y tratamiento.

El paciente hipertenso se clasifica en estadios según los valores de su PA y de su estado de salud (**Tabla II**). El estadio I es cuando la PAS está entre 140 y 159 mm Hg y/o la PAD está entre 90 y 99 mm Hg. El estadio II es indicativo de pacientes cuya PAS es mayor de 160 mm Hg y/o la PAD mayor de 100 mm Hg. Si el paciente es además

diabético con proteinuria, o bien hay evidencia de daño renal o a otro órgano blanco, el paciente debe ser considerado de riesgo mayor.

Tabla II. Estadios de la HAS.

Categoría	PAS	PAD
Estadio I	140-159 mm Hg	90-99 mm Hg
Estadio II	160 o más mm Hg	100 o más mm Hg

Fuente: Hipertensión arterial en México Guías y recomendaciones para su detección, control y tratamiento.

En mayo del 2003 se presentó en el Congreso Americano de Hipertensión Arterial, una nueva guía para el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad. El objetivo fue actualizar a los profesionales de la salud en los nuevos conocimientos publicados en las diferentes revistas científicas, y brindar una nueva guía sobre el manejo de la HA. Este 7°. Reporte de la Junta del Comité Nacional de Prevención, Detección, Evaluación y Tratamiento de la Presión Arterial Elevada (7th Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure-VII JNC)¹⁵ simplificó la clasificación de HAS en categorías (**Tabla III**).

Tabla III. Valores de referencia para la PA en el humano de acuerdo a la JNC VII.

Clasificación	Presión arterial sistólica (mm Hg)	Presión arterial diastólica (mm Hg)
Normal	<120	<80
Pre-Hipertensión	120-139	80-89
Hipertensión estadio 1	140-159	90-99
Hipertensión estadio 2	>160	>100

Fuente: JNC VII 2003.

Nuevos conocimientos en relación con la HA, indican que no sólo es el nivel numérico en mm Hg es lo que establece la categoría, sino también deben ser tomados en cuenta al momento de estratificar la categoría del paciente, otros factores como por ejemplo, la presencia de insuficiencia renal crónica.

2.3. Epidemiología

En el 90 % de las personas con HAS, la causa es desconocida por lo que se denomina hipertensión esencial o primaria. Esta hipertensión puede tener más de una causa y probablemente se debe a una combinación de diversos factores relacionados con el corazón y los vasos sanguíneos. Cuando la causa es conocida, la HAS se denomina

secundaria y en el 5-10 % de los casos tiene como causa una enfermedad renal. Del 1-2 % su origen en un trastorno hormonal o en el uso de ciertos fármacos como los anticonceptivos orales. Una causa poco frecuente de HAS secundaria es el feocromocitoma, un tumor de las glándulas suprarrenales que secreta las hormonas adrenalina y noradrenalina las cuales son responsables del incremento de la PA.¹⁶

Existen numerosos factores que determinan el desarrollo de la HAS, entre los cuales destacan:¹⁷

- **Edad y sexo.** La PAS a diferencia de la PAD, aumenta en ambos sexos conforme avanza la edad. Sin embargo, es más frecuente en mujeres de la tercera edad.^{18, 19}
- **Raza.** La prevalencia es mayor en la raza negra (32,4 %) y menor en la raza blanca (23,3 %) y en estadounidenses de origen mexicano (22,6 %).²⁰
- **Herencia.** La frecuencia de HAS es mayor en los familiares cercanos a los hipertensos.
- **Factores ambientales.** La prevalencia, morbilidad y mortalidad es mayor cuanto más bajo es el nivel socioeconómico y educativo.^{21, 20} El estrés, la ocupación, una mala dieta y los ambientes sicosociales adversos, favorecen la HAS.
- **Factores dietéticos.** Sobrepeso, su relación con la HAS es más intensa en individuos jóvenes y adultos de mediana edad, principalmente en el sexo femenino. La obesidad especialmente abdominal (se reconoce como el principal factor hipertensinógeno), la resistencia a la insulina, la alta ingesta de alcohol, la alta ingesta de sal, el sedentarismo, el estrés y la baja ingesta de potasio y calcio, incrementan el desarrollo de la HAS.²⁰ El 25 % de los hipertensos menores de 60 años, presenta la entidad clínica llamada *síndrome metabólico* la cual se caracteriza por resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, e hipercolesterolemia.²²

La patología cardiovascular es la principal causa de muerte de todos los países industrializados.²³ A nivel mundial el 20-25 % de los adultos presentan cifras tensionales consideradas por definición como hipertensión, y de ellos el 70 % vive en países en vías de desarrollo.^{21, 24, 25} Según el 7º informe de la JNC, el 90 % de los

hipertensos antes de 55 años formaban parte de la población normotensa, lo cual indica que el riesgo de desarrollar HAS se incrementa con la edad.¹⁶

En México de 1990 al 2006, las enfermedades cardiovasculares fueron la primera causa de muerte.²⁶ En el año 2000 el CENSO de población y vivienda, reveló que había 49,7 millones de mexicanos entre los 20 y 69 años, de los cuales 15,16 millones (30,05 %) eran hipertensos. Lo cual significó que en el año 2000 ocurrieran 227 400 muertes atribuibles a la HAS y por lo tanto, potencialmente prevenibles. En otras palabras, una muerte cada 2 min. Si bien a este número de muertes potenciales hay que restar el 14,6 % de pacientes hipertensos controlados, la cifra se reduciría a 194 199, es decir una muerte cada 3 min.²⁷ En el año 2002 la HAS ocupó la 9ª causa de muerte en la población general, con un total de 10 696 muertes, con tasa de 10,38 defunciones por cada 100 000 habitantes.²⁸

En la encuesta nacional de salud y nutrición (ENSANUT) del año 2006, la prevalencia de la HAS fue de 30,08 % en la población de 20-69 años, de los cuales el 61 % desconocía su enfermedad. La prevalencia fue mayor en los estados del norte y en relación al sexo, es mayor para los hombres antes de los 50 años, pero después de esta edad, la prevalencia es la misma en ambos sexos.²⁵

2.4. Sintomatología

Habitualmente la HAS es asintomática. En ocasiones se acompaña de cefaleas, hemorragias nasales, vértigo, enrojecimiento facial y cansancio. Sin embargo esta sintomatología también puede aparecer con la misma frecuencia en individuos con una PA normal y su presencia no es patognomónico de HAS.

En caso de HAS grave o de larga duración que no recibe tratamiento, los síntomas como cefaleas, fatiga, náuseas, vómitos, disnea, desasosiego y visión borrosa se producen por lesiones en el cerebro, los ojos, el corazón y los riñones.²⁹ Algunas veces las personas con HAS grave, desarrollan somnolencia e incluso coma por edema

cerebral (acumulación anormal de líquido en el cerebro) que requiere tratamiento urgente.

2.5. Tratamiento

El tratamiento farmacológico del paciente hipertenso tiene como objetivo principal la reducción del riesgo de complicaciones cardiovasculares, renales y cerebrales, y no sólo el descenso de la PA. En los últimos años el descenso de la PA, parece estar asociado a elementos distintos a la intervención farmacológica tales como disminución del estrés y del peso corporal.³⁰

Las principales clases de fármacos antihipertensivos manejados en la actualidad son: diuréticos, antagonistas de receptores β -adrenérgicos, bloqueadores de canales de calcio, inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA), antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARAII), bloqueadores α -adrenérgicos, inhibidores del tono simpático central, vasodilatadores arteriales directos y, muy recientemente, inhibidores de la renina plasmática^{31, 32} (**Figura 1**).

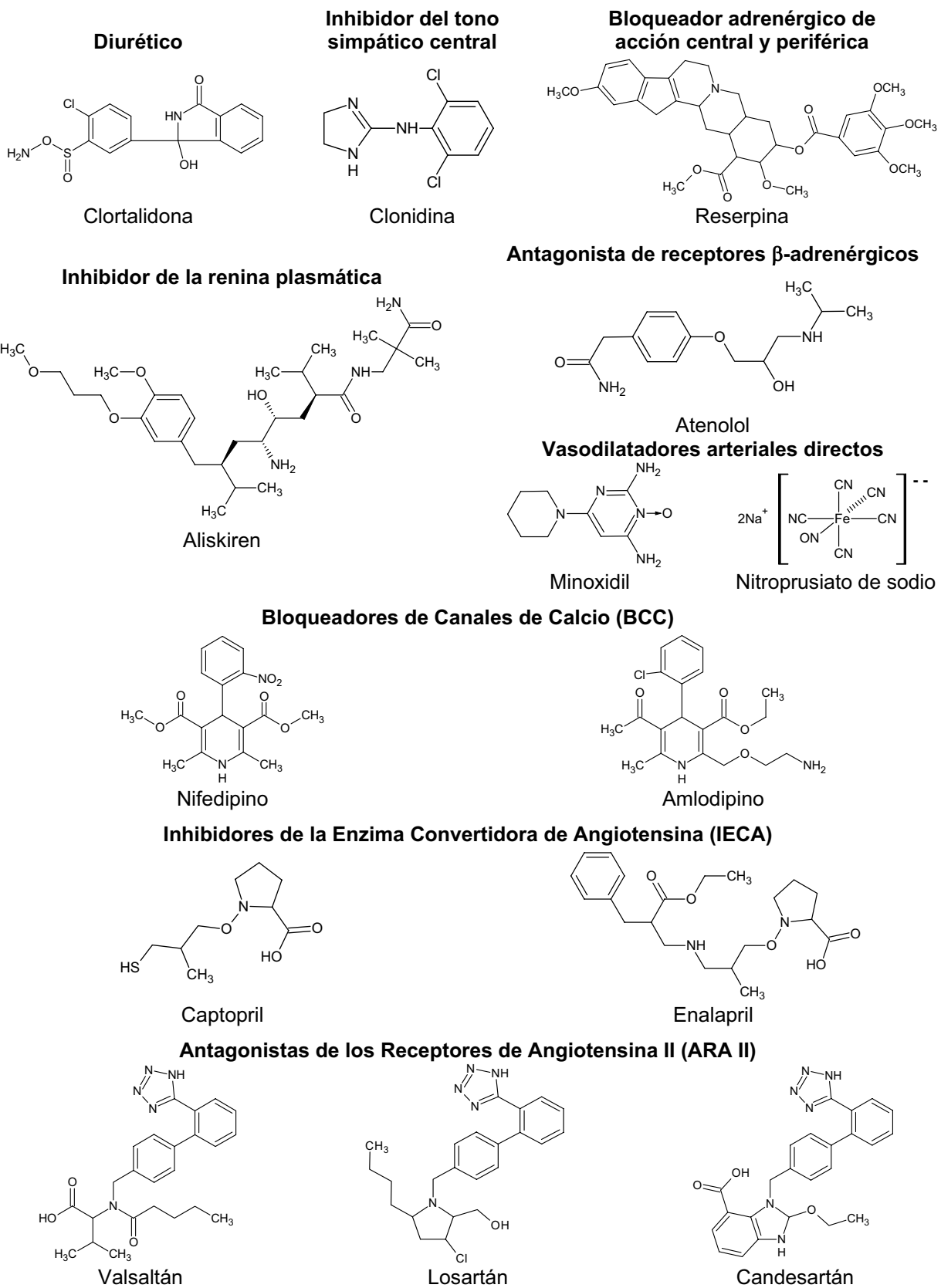


Figura 1. Principales clases de fármacos antihipertensivos.

La eficacia demostrada del tratamiento antihipertensivo para reducir la morbilidad de los pacientes hipertensos se basa en estudios realizados fundamentalmente con los fármacos clásicos diuréticos y β -bloqueadores.³³ Estos son fármacos básicos en el manejo de la HA, y se consideran como referencia en la evaluación de los nuevos fármacos modernos. Diferentes revisiones como la de Pasty. *et al*,³¹ observan que los fármacos modernos también son útiles para reducir el riesgo cardiovascular, pero desafortunadamente no modifican el pronóstico del paciente hipertenso.^{34, 35} A pesar de esta situación, existe un debate acerca de qué grupo de antihipertensivos a de considerarse como primera elección en el tratamiento de la HAS. La JNC VII ha recomendado que el tratamiento inicial debiera ser un fármaco clásico, fundamentalmente un diurético tiazídico.³⁶ En este mismo sentido se expresa la Guía Canadiense del 2005,³⁷ que recomienda el inicio del tratamiento con diuréticos tipo tiazidas, pero reconoce que para la mayoría de los hipertensos se requieren varios agentes hipotensores asociados. Las guías conjuntas de la OMS, de la Sociedad Internacional de Hipertensión y de las Sociedades Europeas de Hipertensión y Cardiología (SEH-SEC), han establecido que cualquier fármaco de los grupos principales puede ser válido para el inicio del tratamiento antihipertensivo.^{38, 39} La reciente “Guía Europea para la Prevención de las Enfermedades Cardiovasculares en la Práctica Clínica” también indican que cualquiera de los fármaco antihipertensivos de los grupos principales, puede ser útil para iniciar el tratamiento.^{40, 41}

2.5.1. Fármacos útiles en la HAS

2.5.1.1. Diuréticos

Los diuréticos mostrados en la **Tabla IV** se encuentran entre los fármacos más antiguos en el tratamiento de la HA. Junto con los β -bloqueadores son los únicos fármacos que han demostrado una reducción en la morbilidad y mortalidad a largo plazo. Los diuréticos son fármacos relativamente baratos comparados con otros antihipertensivos; y su efecto secundario más notable es la hipopotasemia para fármacos como las tiazidas y la furosemida, y la hiperpotasemia para los ahorradores de potasio como espirinolactona, triamtereno y amilorida.⁴²

Las Tiazidas, la clortalidona y la indapamida inhiben la reabsorción de sodio en el túbulo contorneado distal, la furosemida, bumetamida y el ácido etacrínico en la porción ascendente gruesa del asa de Henle y la espirolactona, triamtereno y amilorida en el túbulo contorneado distal y en los túbulos colectores.

El efecto antihipertensivo a largo plazo de los diuréticos no se explica por la disminución de volumen, sino más bien con la atenuación de la respuesta vascular a estímulos depresores, quizás como una disminución del grosor de la pared y del contenido en sodio, lo que produciría una disminución del calcio libre intracelular.⁴²

Los diuréticos pueden aumentar la resistencia a la insulina y descompensar una diabetes en pacientes susceptibles, así como incrementar los niveles de colesterol y triglicéridos.⁴²

Tabla IV. Ejemplos de diuréticos útiles en la HAS.

Tipo	Ejemplos
Tiazidas	Clorotiacida Hidroclorotiacida Clortalidona Indapamida Metolazona Bendroflumetiácida
Diuréticos de asa	Furosemida Ácido etacrínico Bumetanida Piretanida
Ahorradores de potasio	Espironolactona Triamtereno Amilorida

Fuente: Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics.

2.5.1.2. Inhibidores del sistema nervioso simpático

La influencia del sistema nervioso simpático en la patogénesis de la hipertensión, llevó al desarrollo de sustancias cuyo efecto farmacológico era la reducción del tono simpático. Estas sustancias se clasificaron según el mecanismo de acción y se resumen en la **Tabla V**.

Tabla V. Ejemplos de inhibidores del sistema nervioso simpático útiles en la HAS.

Tipo	Ejemplos
Inhibidores del tono simpático central	Alfametildopa Guanetidina Clonidina Rilmenidina Guanfacina
Bloqueadores adrenérgicos de acción central y periférica	Reserpina Urapidil
Antagonistas de receptores α y β adrenérgicos	Labetalol Carvedilol
Antagonistas de receptores β adrenérgicos	Atenolol Bisoprolol Metoprolol Nadolol. Oxprenolol Propranolol Timolol
Antagonistas de receptores α adrenérgicos	Prazocina Teratozina Fentolamina Doxazosina

Fuente: Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics.

En la actualidad los fármacos más utilizados de este grupo son los β -bloqueadores. El efecto farmacológico de este grupo de fármacos, está basado en el antagonismo competitivo por los receptores β con los neurotransmisores agonistas noradrenalina y adrenalina. La máxima eficacia antihipertensiva de los β -bloqueadores generalmente se alcanza a las 2-4 semanas de tratamiento.

Las desventajas de los β -bloqueadores son la disminución de la capacidad para realizar ejercicio y la aparición de efectos secundarios como astenia, alucinaciones, frialdad de extremidades o disfunción sexual que suelen estar relacionados con la dosis. Además, pueden desencadenar crisis asmáticas en pacientes predispuestos o con insuficiencia cardiaca. En contraste, hay evidencias cada vez mayores de su efecto cardioprotector.⁴³

Los β -bloqueadores tienen diferente selectividad por los receptores β_1 del corazón, diferente actividad simpaticomimética intrínseca, y un efecto adicional vasodilatador sobre los receptores α_1 . Su empleo para el tratamiento de la HA suele acompañarse con diuréticos (tiazidas), bloqueadores de canales de calcio (dihidropiridinas) o un antagonista selectivo de receptores α_1 (prazosina).

2.5.1.3. Vasodilatadores arteriales directos

Su efecto farmacológico reside en la acción directa sobre la musculatura lisa vascular tanto de los vasos arteriales como venosos. Los vasodilatadores directos usados en la práctica clínica son: hidralazina, minoxidil, nitroprusiato y diaxosido (**Figura 1**). Estos dos últimos fármacos son de elección en las crisis hipertensivas y deben su efecto respectivamente, a la inhibición de la Guanilato ciclasa y a la apertura de los canales de potasio localizados en la membrana celular de los vasos.^{44, 45} Salvo el nitroprusiato, en la actualidad los vasodilatadores son de uso infrecuente debido a sus efectos secundarios caracterizados por el fenómeno de tolerancia y la necesidad frecuente de tener que añadir un segundo fármaco debido a la retención de sodio y taquicardia que producen. Debido a estos efectos, los vasodilatadores directos son fármacos no recomendados para el tratamiento inicial de la HA.

2.5.1.4. Bloqueadores de canales de calcio

Son sustancias químicas heterogéneas cuya característica común es la inhibición de la entrada de iones de calcio al interior de la célula. Pueden clasificarse según su estructura química y función en: fenilalquilaminas, dihidropiridinas y benzodiazepinas (**Tabla VI**). Descienden la PA independientemente de la edad o sexo y su efectividad ha sido demostrada en todos los grados de HA ideopática, y en muchos países se consideran como de primera elección, ya que además, producen reducción de la hipertrofia cardíaca, incrementan la diuresis y natriuresis (especialmente las dihidropiridinas), y funcionan como antianginosos.⁴⁶

Los bloqueadores de canales de calcio tipo verapamilo o diltiazem, por su efecto cronotrópico negativo están contraindicados, y deben administrarse con suma precaución en pacientes que además de la HAS, presentan bradicardia, disfunción sinusal o grados variables de bloqueo de la conducción cardiaca. El efecto secundario más frecuente de la hidropiridina es el edema de extremidades, mientras que el verapamilo produce estreñimiento.

Tabla VI. Ejemplos de bloqueadores de canales de calcio útiles en la HAS.

Tipo	Ejemplos
Fenilalquilaminas	Verapamilo
Benzodiazepinas	Diltiazem
Dihidropiridinas	Nifedipino
	Amlodipino
	Felodipino
	Nitrendipino
	Lacidipino Nicardipino

Fuente: Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics.

2.5.1.5. Inhibidores del sistema renina - angiotensina

El sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAA) es fundamental en la regulación de la PA. La enzima renina producida por el aparato yuxtglomerular es liberada por diversos estímulos: hipotensión, hiponatremia, hipovolemia, etc., y convierte al angiotensinógeno en angiotensina I y esta a su vez en angiotensina II, por acción de la enzima convertidora de la Angiotensina.

Los efectos de la angiotensina II sobre diversos órganos están mediados por el estímulo de los receptores AT₁ y AT₂. La estimulación de los AT₁ producen vasoconstricción, liberación de aldosterona y catecolaminas, y efectos mitogénicos. La relevancia clínica de los receptores AT₂ está menos clara. En la actualidad los Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (IECA) tienen una amplia aceptación como fármacos antihipertensivos de primera línea. Los IECA actúan tanto a nivel sistémico como local (corazón, riñones, pared vascular, cerebro, etc.). La disminución de la formación de angiotensina II, produce disminución de la vasoconstricción y de la reabsorción de sodio

y agua mediada por este octapéptido. Los EICA inducen los siguientes cambios hormonales.⁴⁷

- Aumento de la secreción de renina.
- Aumento de la angiotensina I.
- Disminución de la actividad de la enzima convertidora de angiotensina.
- Disminución de la angiotensina II.
- Disminución de la secreción de aldosterona.
- Aumento de bradicinina.

Todos los IECA disponibles en la actualidad (**Tabla VII**) tienen el mismo mecanismo de acción y sólo se diferencian por su estructura molecular (**Figura 1**). Su eficacia es mayor en pacientes con niveles de renina altos, pero también controla la PA en un sustancial número de pacientes con niveles de renina normales o bajos. Su principal efecto secundario es la tos, y se tiene que vigilar los niveles de potasio por el riesgo de aparición de hiperpotasemia, especialmente si se toma simultáneamente con diuréticos ahorradores de potasio.

Tabla VII. Ejemplos de IECA útiles en la HAS.

Tipo	Ejemplos
Grupo sulfhidrido	Captopril
Grupo carboxilo	Enalapril
	Benazepril
	Cilazapril
	Lisinopril
	Perindopril
	Quinapril
Grupo fosforilo	Ramipril
	Trandolapril
	Fosinopril

Fuente: Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics.

Los antagonistas de los receptores de la angiotensina II (ARAII), losartán, valsartán, candesartán, (**Figura 1**), van adquiriendo un protagonismo cada vez más importante en el tratamiento de la HA.^{48, 49} Esto en parte se debe a una menor aparición de efectos secundarios, especialmente la ausencia de tos y el riesgo de edema angioneurótico⁵⁰

ya que no interfieren en la vía metabólica de la bradicinina, como lo hacen los IECA clásicos Su eficacia antihipertensiva ha sido demostrada en diferentes estudios y además, ofrece protección cardiaca y renal.⁵¹

Muy recientemente la FDA ha aprobado un nuevo medicamento para el control de la HAS de la clase Inhibidores de la Renina Plasmática (IRP) llamado aliskiren (tekturna) (**Figura 1**). Ya en los 80s se había publicado el primer agente IRP, sin embargo este agente era poco potente, inespecífico y requería dosis muy altas para mostrar su efecto hipotensor.⁵²

El aliskiren se une al sitio activo de la molécula de renina lo cual bloquea la acción de esta enzima sobre el angiotensinógeno. Es el primer antihipertensivo que se ha aprobado desde hace más de 10 años. Se puede utilizar solo o en combinación con otros antihipertensivos. Reduce la PA en un 50-80 % y su magnitud no esta relacionada con la dosis, ni se correlaciona con la reducción en la presión sanguínea.⁵³ Es bien tolerado y tiene un efecto aditivo con la mayoría de los otros antihipertensivos. Produce efectos adversos gastrointestinales que se relacionan con la dosis. Estos se manifiestan como: diarrea que aumenta en el sexo femenino y en los ancianos, dolor abdominal, dispepsia y leve reflujo gastroesofágico. Se ha asociado con un ligero aumento de tos sarpullido, angioedema en la cara, hiperuricemia, gota y litiasis renal.⁵⁴

Como puede notarse en la literatura consultada, existen notorias controversias sobre la selección del o de los mejores fármacos antihipertensivos, y numerosos informes sobre múltiples y variadas reacciones que llevan a la conclusión que no hay fármaco seguro e inocuo.

2.6. Características de *Argemone mexicana* Linn

2.6.1. Taxonomía

La *Argemone mexicana* pertenece al reino: *Plantae*, subreino: *Tracheobionta*, superdivisión: *Spermatophyta*, división: *Magnoliophyta*, clase: *Magnoliopsida*, subclase: *Magnoliidae*, orden: *Papaverales*, familia: *Papaveraceae*, genero: *Argemone*, especie: *mexicana* Linn.⁵⁵

2.6.2. Nombres

En México la *Argemone mexicana* es conocida con una gran variedad de nombres, tanto en lengua indígena como en español.^{56, 57} La **Tabla VIII** resume algunos de los nombres por Estados de la República Mexicana.

Tabla VIII. Nombres de la *A. mexicana* en diferentes Estados de la República Mexicana.

Estado de la República Mexicana	Nombres
Baja California	Cardo
Estado de México	Ostrené, Ost-bi-yi-shi-villi (mázuhua), chicalote*
Guerrero	Chicale, tlapa (mexicano)
Hidalgo	Chicalote*
Michoacán	Shate, Xaté (purhépecha)
Morelos	Ayohuixtle, Chicallotl, xicalotl (náhuatl)
Nayarit	Chicalote sha, zamuitiza (cora), to-he (tepehuano)
Oaxaca	Guechinichi (zapoteca)
Quintana roo	h-man, ixk'anlo (maya)
San Luis Potosí	Tsolich (huasteca)
Veracruz	Tlamexcaltzin
Yucatán	kiix-kanlol, k' iix-saklol (maya)

* La *A. mexicana* es mas conocida con la denominación chicalote la cual provienen de la lengua náhuatl Chicallotl, que significa cardo.⁵⁸

2.6.3. Aspectos botánicos

2.6.3.1. Distribución y hábitat

La *Argemone mexicana* (**Figura 2**) es originaria de México y del sur de Estados Unidos, extendiéndose desde las zonas tropicales y subtropicales de América, Paraguay, Brasil, Uruguay, Chile y en la zona norte de la Patagonia.⁵⁸ Crece en climas semicálido, semiseco y templado. Florece entre los meses de abril a octubre. Se encuentra en terrenos abandonados, zonas agrícolas asociadas a bosques tropicales de caducifolio de pino y mixto (encino-pino).



Figura 2. *A. mexicana*.

2.6.3.2. Morfología

Es una planta anual de 50 a 70 cm de altura con hojas de 10 a 20 cm de largo, de color verde-azulado, borde dentado y cada diente termina en una espina. El fruto presenta un aspecto de cápsulas alargadas espinosas (**Figura 3**).



Figura 3. Fruto y tallo de la *A. mexicana*.

Las flores tienen pétalos de color amarillo en número de seis, (**Figura 4**) y sus semillas son color negro.⁵⁹



Figura 4. Flor de la *A. mexicana*.

2.7. Historia

Los indígenas mexicanos molían las semillas y las daban a beber en dosis de 2 dracmas (3,59 g) para obtener efectos purgantes. Los aztecas mojaban un algodón con jugo de chicalote y lo aplicaban en los ojos para eliminar nubes y manchas que dificultaban la visión.⁵⁸

El códice florentino en el siglo XVI indica a la *A. mexicana* para el dolor de los ojos.⁶⁰ En el mismo siglo Francisco Hernández señala: “evacua todos los humores (fluidos), principalmente los pituitosos y los que dañan las articulaciones, cura las inflamaciones de los ojos, es eficaz contra los accesos de las fiebres, cura las úlceras de las partes sexuales, la sarna, disuelve las nubes de los ojos, consume la carne superflua y calma el dolor de jaqueca”.⁶¹

A finales del siglo XVIII Vicente Cervantes relata que “purga los humores pituitosos, mitiga las inflamaciones de los ojos y disipa las nubes que principian a formarse en ellos”.

En el antiguo hospital de San Andrés, México, se empleaba para sedar a los enfermos y para calmar la tos de los niños.⁵⁸

La sociedad mexicana de historia natural lo registra como: antidiarreico, antidisentérico, antigonorreico, astringente, para enfermedades de los ojos, diurético, emetocatórtico, hipnótico, pectoral, tónico capilar y analgésico, para cefalalgias y dermatosis.⁶²

Francisco Flores consigna su uso para la conjuntivitis simple, las quemosis (edema de la conjuntiva ocular) y como sedante. Eleuterio González la cita para curar las nubes de la cornea, contra los dolores de cabeza ya que obra como calmante, para lavar la cabeza y así nazca pelo, como purgante drástico. En el siglo XX Narciso Souza describe su uso para afecciones del hígado, páncreas, falta de apetito, como emético y purgante, para inflamación de los ojos y enfermedades de la piel. En el mismo siglo Luis Cabrera la registra como antitusígeno, hipnótico y para la tos ferina”.⁶³

En la década de los 20s se creyó haber aislado morfina de esta planta, pero estudios posteriores confirmaron la presencia de un alcaloide de estructura similar.⁵⁸

Finalmente, la Sociedad Farmacéutica de México menciona sus uso como: antiescabiático, antiespasmódico, antitusígeno, catártico, dermatológico, emetocatórtico, hipnótico, pectoral y sedante.

2.8. Usos Etnomédicos

En la medicina popular diferentes estados de la República Mexicana han utilizado la parte aérea de *A. mexicana* (**Figura 5**). Por ejemplo en Michoacán, se emplea en infusión por sus propiedades analgésicas. En odontología colocada en las caries dentales actúa como analgésico. Se han observado efectos análogos a los que produce el opio. Además, se le atribuyen propiedades hipotónicas y antitusivas.⁶⁴ El aceite extraído de las semillas de esta planta produce efectos emetocatórticos. Se utiliza para el tratamiento de las convulsiones y afecciones espasmódicas. El látex se emplea para deshacer las nubes de los ojos y tratar las alergias oculares.⁶⁵ Las flores y el látex

aplicado como emplastos curan la sarna.^{66, 67} Hay información etnomédica que en la India se utilizan infusiones de *A. mexicana* mezclada con palo mulato, para el tratamiento de la hipertensión arterial.¹¹



Figura 5. Estados de la República Mexicana en los cuales se utiliza la *A. mexicana* en la medicina popular.

2.9. Estudios químicos

Numerosas sustancias orgánicas pueden ser aisladas de la mayoría de las plantas. En el caso de la *A. mexicana* de las flores y el tallo se han aislado aminoácidos, ácidos grasos, ácidos orgánicos (**Figura 6**), azúcares como fructosa y glucosa, además de dos sales inorgánicas, sulfato de calcio (CaSO_4) y nitrato de potasio (KNO_3).⁶⁷

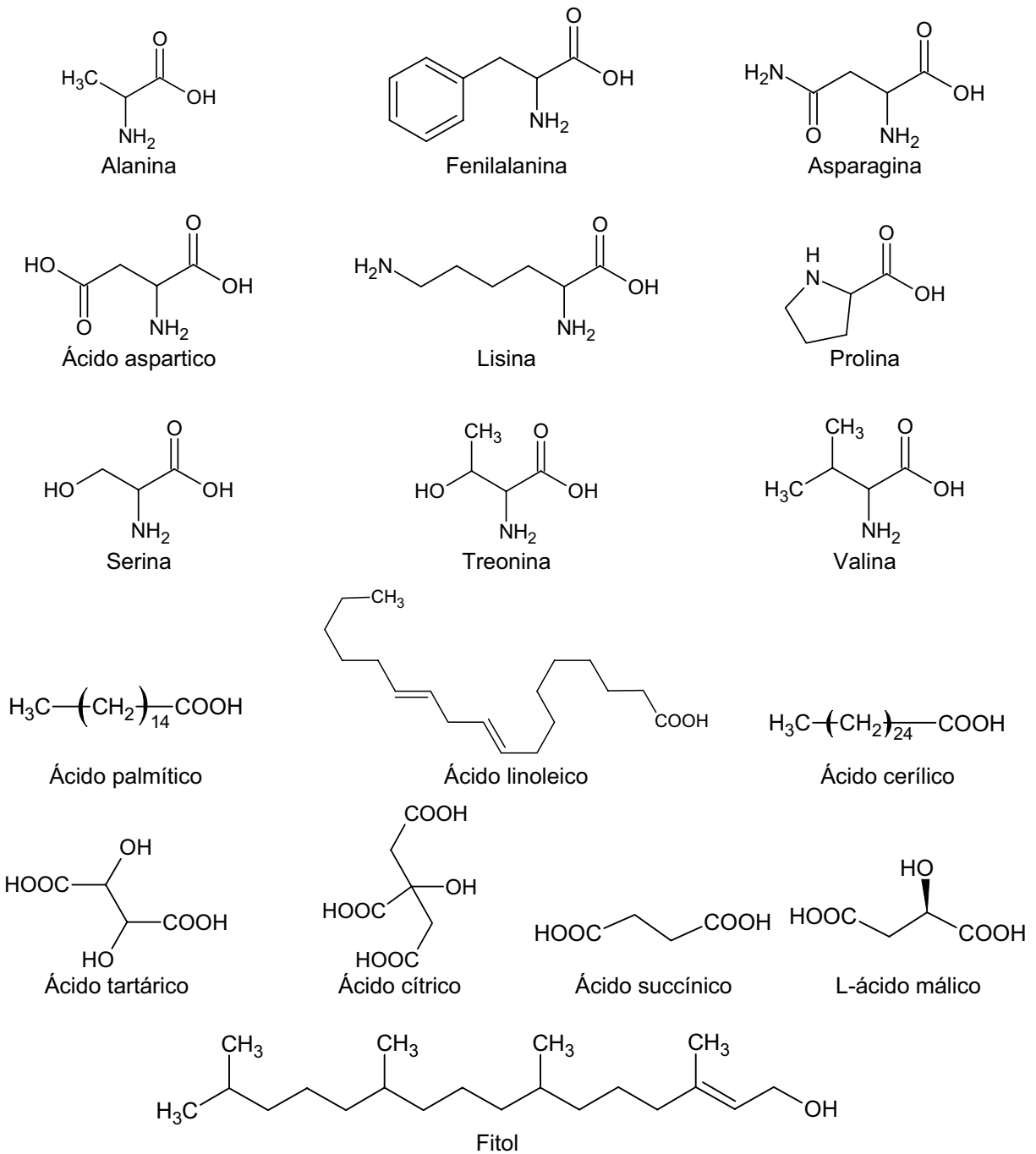


Figura 6. Aminoácidos, ácidos grasos y ácidos orgánicos provenientes de las hojas y el tallo de la *A. mexicana*.

Además de las sustancias mencionadas anteriormente, se han aislado una gran variedad de alcaloides en toda la planta: como la berberina, (-)-canadalina, queilantifolina, alocriptopina, sanguinarina, protopina y argemexicainas A y B, los flavonoides 3-O-glucopiranosido Isoramnetin y 3,7-diglicosidos Isoramnetin. En la raíz también se encontraron meta-hidroxi(-)- α -estilopina y meta-hidroxi(-)- β -estilopina. Todos los compuestos aislados son mostrados detalladamente en el **ANEXO A**.^{68, 69}

En el aceite obtenido de las semillas, se ha encontrado sanguinarina, norsanguinarina y dihidrosanguinarina, las cuales, han sido señaladas como las sustancias responsables de las intoxicaciones observadas en la India, por la ingesta de aceite adulterado con semillas de *A. mexicana*.⁷⁰

2.10. Estudios farmacológicos

2.10.1. En el sistema cardiovascular

En estudios farmacológicos relacionados con el sistema cardiovascular se ha encontrado que la administración del extracto acuoso obtenido de flores de *A. mexicana*, produjo contracción de las aortas provenientes de cobayo, rata, perro y conejo, y relajación de traquea e íleon de cobayo. Otro estudio demuestra que la administración de extracto acuoso (0,1 mL/kg) e hidroetanólico (0,3 mL/kg) de hojas y tallos, produjo en perros actividad hipotensora arterial.⁷¹ De igual modo, se comprobó el mismo efecto hipotensor en perros con la administración de ambos extractos, pero de la planta entera en dosis de 50 mg/kg.⁷² Por otra parte, la administración de extracto acuoso por vía i.v. a ratas anestesiadas, incrementó la PA, mientras que con dosis bajas la disminuyó.⁷³

También se ha encontrado que un Extracto Metanólico (EMeOH) obtenido de la parte aérea de *A. mexicana*, produjo hipotensión arterial en ratas anestesiadas, efecto antihipertensor en ratas despiertas, y efecto bifásico en aorta aislada de rata.⁷⁴

2.10.2. En el área de infectología

Estudios llevados a cabo con *A. mexicana* en ratones Swiss albinos, infectados con formas sanguíneas de *Plasmodium berghe*, se pudo constatar que el EMeOH de las hojas mostró una reducción del crecimiento de los parásitos de 47 %, 32 % y 39 %, en las dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg, respectivamente, resultando parcialmente activo *in vivo* como antimalárico.⁷⁴ Sin embargo, el aceite de la semilla (0,8 %) mostró actividad *in vitro* frente a *Salmonella sp.* y *Staphylococcus aureus*.⁷⁶ El extracto hidroalcohólico (50:50) de la parte aérea mostró *in vitro* propiedades antifúngicas.⁷⁷ En cambio, el extracto completo de la planta resulto inactivo *in vitro* frente a *Candida albicans*.⁷⁸

Los alcaloides protopina y sanguinerina ejercen *in vivo* un significativo efecto moluscosida frente a *Lymnaea acuminata*, produciendo descenso del nivel de proteínas, aminoácidos y ácidos nucleicos en tejido nervioso acompañado de peroxidación lipídica en membranas celulares.⁷⁹ La actividad molusquicida se extiende también a *Biomphalaria glabrata*, el huésped intermediario de *Schistosoma mansoni*.⁸⁰ La **Tabla IX** muestra otros organismos en los cuales presenta actividad la *A. mexicana*⁶⁷

Tabla IX. Efectos de la *A. mexicana* en diferentes organismos de prueba.

Parte estudiada	Actividad	Organismo de prueba	Resultado
Hoja tallos y raíz	Antibacteriana	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Activa
Hoja tallos y raíz	Antibacteriana	<i>Escherichia coli</i>	Activa
Hoja tallos y raíz	Antibacteriana	<i>Shigella dysenteriae</i>	Activa
Hoja tallos y raíz	Antibacteriana	<i>Leishmania tropica</i>	Activa
Hoja tallos y raíz	Fungicida	<i>Microsporium ferrugineum</i>	Activa
Hoja tallos y raíz	Fungicida	<i>Candida pseudotropicalis</i>	Activa

Fuente: Plantas medicinales de México I. Composición, usos y actividad biológica.

En los virus la 6-Acetonildihidrosanguinarina demostró efectos anti-VIH significativos en linfocitos H9 con CE₅₀ de 1,77 µg/mL.⁸¹ Al respecto, la fracción de acetona del extracto de éter de petróleo provenientes de las semillas exhibió efectos insecticidas *in vitro* sobre el estadio larvario de *Aedes aegypti* a concentraciones relativamente altas 25-200 ppm. A bajas concentraciones de 10 ppm mostró efecto esterilizante del 100 % en la primera generación de huevos.⁸²

2.10.3. Otros estudios

El extracto acuoso e hidroalcohólico en dosis de 3,3 mL/L demostraron en ileon aislado de cobayo efectos espasmogénicos.⁷¹ Estudios de oncología experimental no hallaron actividad citotóxica de dichos extractos, tanto *in vitro* sobre cultivos de células tumorales, como *in vivo* sobre tumores transplantados a ratones.⁷²

Estudios *in vitro* sobre ileon aislado de cobayo determinaron que un EMeOH y una fracción purificada con los alcaloides protopina y alocriptopina, producen una disminución del síndrome de abstinencia a morfina, lo cual podría interpretarse como una potencial actividad farmacológica para ser evaluada en la lucha contra adicciones a opioides.⁸³

2.11. Efectos adversos y/o tóxicos

2.11.1. En humanos

En la India desde hace más de 20 años ocurren intoxicaciones con aceite de mostaza contaminado con las semillas de *A. mexicana*. Un reciente informe del 2001, da cuenta que entre los meses de agosto y septiembre de 1998 en Nueva Delhi (India) y provincias fronterizas, ocurrieron 3 000 intoxicaciones con aceites adulterados, de las cuales 65 personas fallecieron. Sus principales alcaloides sanguinarina e hidrosanguinarina, demostraron producir alteraciones capilares con aumento de la permeabilidad y la consiguiente extravasación proteica hacia el compartimiento extracelular lo que dio comienzo al edema e hipoproteinemia observados en todos estos casos.^{84, 85}

Es importante señalar que la ingesta de semillas de *A. mexicana* produce importantes efectos tóxicos en humano como: edema en miembros inferiores o generalizado, diarrea, disnea, anemia, hipopotasemia, fragilidad capilar, vasculitis, hemorragias retinales, aumento de la presión intraocular, eritema y pigmentación cutánea, dolores musculares, parestesia, en casos graves insuficiencia cardíaca, arritmias severas y paro cardíaco.^{86, 87, 88}

También en la India han sido reportados algunos casos de alergias respiratorias al polen de *A. mexicana*.⁸⁹ El aceite contaminado con sanguinarina utilizado cutáneamente en forma de masajes, ha provocado cuadros de toxicidad similares a los descritos anteriormente.⁹⁰

2.11.2. En animales

El extracto acuoso de la hoja y la decocción de la raíz son embriotóxicos y estimulan el útero de rata.^{91, 92} La sanguinarina aislada de la semilla produce degeneración y necrosis de las células hepáticas de ratas a dosis de 10 mg/kg.⁹³ La administración de semillas en el alimento diario de gallinas produjo entre otros síntomas: edema generalizado, retraso en el crecimiento, pericarditis, edema pulmonar, hidrotórax y obscurecimiento en las puntas de las crestas.⁹⁴ La protopina en altas dosis ejerce un efecto paralizante muscular.

Las semillas de *A. mexicana* administradas en la dieta diaria de ratas, a lo largo de 10-60 días, producen signos de intoxicación tales como: letargo, debilidad, atonía muscular, contractura abdominal, diarrea, opacidad craneal, piloerección, pérdida de peso y edema generalizado. En la química sanguínea se encuentra importante hiperglucemia y aumento de transaminasas. A nivel de órganos hay hemorragias en el glomérulo e intersticio, fibrosis e hiperplasia de vías biliares, congestión portal, congestión pulmonar, atrofia de la mucosa superior del estómago y erosión de la mucosa del duodeno. Los signos tóxicos cardíacos se produjeron entre los 30 y 60 días de ingesta continua.^{95, 96}

Los alcaloides de la semilla también resultan hepatotóxicos, inhiben los sistemas metabólicos dependientes de la aminopirina-N-dimetilasa, de la hidrocarbonaril-hidroxilasa y los citocromos B₅ y P₄₅₀. A su vez, incrementan los sistemas enzimáticos prooxidativos que estimulan la formación de peróxidos lipídicos.⁹⁷

2.12. Características de la vasculatura del lecho mesentérico de rata

2.12.1. Estructura y componentes

La red arterial en la vasculatura del mesenterio de rata, abarca la arteria mesentérica superior con un diámetro de 460 μm , la cual se ramifica en 16-20 arterias pequeñas, cada una se subdivide en más redes antes de unirse a la arteria mesentérica principal que tiene un diámetro en su luz de alrededor de 200 μm . Esta corre en forma paralela a la pared intestinal y se ramifica en arterias más pequeñas con redes adicionales sobre los intestinos.⁹⁸

Similar a la pared de otras arterias, la arteria mesentérica superior presenta tres tunicas que de afuera hacia la luz del vaso son: la adventicia, la media central y la íntima, las cuales están formadas por tejido conectivo, músculo liso y endotelio respectivamente. En comparación con la aorta, la arteria mesentérica superior presenta una estructura más muscular, tiene aproximadamente de 6-8 capas de células de músculo liso, y de 4-6 capas de láminas elásticas arregladas circunferencialmente alrededor de su pared.^{99, 100} El número de capas de las células de músculo liso es directamente proporcional al diámetro de la arteria,⁹⁹ por lo que las arteriolas pequeñas tienen solamente una capa de mayor diámetro dentro de la túnica media

2.12.2. Resistencia periférica arterial

Mediciones directas de la PA en el lecho microcirculatorio del intestino de ratas anestesiadas, indica que las arterias y las arteriolas del mesenterio contribuyen a la resistencia vascular total aproximadamente del 23 al 57 %.^{101, 102} Recientemente en ratas conscientes, se midió la PA a lo largo de la vasculatura mesentérica, y se demostró que cerca del 31 % de la presión acontece en las arterias pequeñas y alrededor del 51 % en la microcirculación intestinal, incluyendo arteriolas, tubos capilares, vénulas y venas pequeñas.¹⁰³ Un 5 % de la PAS se disipa en la arteria mesentérica superior, el 6 % en las venas principales y el 7 % en venas restantes, más la circulación hepática. Los resultados indican que las arterias mesentéricas pequeñas, y los vasos microcirculatorios, contribuyen perceptiblemente en la PAS. Esto determina

que la arteria mesentérica superior contribuya no solamente a generar la resistencia vascular periférica si no también, al control de la misma.

2.12.3. Control de la resistencia periférica.

La resistencia y el tono del músculo liso en la arteria del lecho mesentérico, esta controlada por varios factores intrínsecos y extrínsecos que incluyen fuerzas físicas, presión sanguínea, flujo sanguíneo,¹⁰⁴ estímulos neuronales,^{105, 106} estímulos hormonales y sustancias vaso-activas sintetizadas localmente, especialmente sustancias derivadas del endotelio.¹⁰⁷ La repercusión de estos factores sobre el lecho vascular mesentérico es variable y depende del estado funcional de los diferentes vasos sanguíneos.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los objetivos primarios en el tratamiento de la HA son: a) disminuir la PA hacia niveles considerados como normales y b) mantener al sujeto “normotenso” para prevenir complicaciones. Estos objetivos, teóricamente se logran mediante una estrategia terapéutica racional, en la cual los medicamentos son la piedra angular. Sin embargo, hasta la actualidad no se ha logrado obtener un medicamento antihipertensor que tenga la eficacia para mantener la PA dentro de límites normales, y la seguridad de no producir efectos tóxicos. Aunado a esto, tampoco se cuenta con un medicamento que por su costo abarate el tratamiento.¹⁰⁸ Además, se sabe que los medicamentos existentes poseen reacciones adversas que limitan el tratamiento crónico. Por estas razones, la búsqueda de nuevos y mejores fármacos con actividad terapéutica antihipertensiva, continua vigente.

Una fuente de fármacos con potencial efecto antihipertensor son las plantas superiores. Este hecho generalmente es originado empíricamente a nivel popular. Sin embargo, en la medicina alópata la información etnomedicinal no es suficiente para avalar oficialmente su empleo en el ser humano. Se necesitan estudios científicos que comprueben la actividad biológica y la seguridad de la planta propuesta para que sea aprobada como medicamento herbolario o bien, aislar los principios activos y desarrollarlos como nuevos medicamentos. La *A. mexicana* es una planta con una supuesta actividad antihipertensora sin estudios científicos que la avalen, por lo que requiere de una adecuada investigación farmacológica y química que comience a identificar los componentes vasoactivos de la planta. Por esta razón, la presente investigación propone caracterizar la química y farmacología de un extracto obtenido de dicha planta, para fraccionarlo mediante un estudio fitoquímico dirigido por la actividad de cada una de las fracciones sobre el lecho mesentérico y obtener el o los componentes vasoactivos.

4. OBJETIVOS

4.1. General

- Aislar e identificar de un extracto metanólico obtenido de la parte aérea de *Argemone mexicana*, el o los compuestos que incrementen o disminuyan la presión arterial del lecho mesentérico de la rata.

4.2. Específicos

- Identificar y recolectar el material biológico.
- Preparar el extracto metanólico de la parte aérea de *A. mexicana*.
- Realizar curvas concentración-respuesta del extracto metanólico de *A. mexicana*.
- Fraccionar el extracto metanólico por extracción líquido-líquido e identificar las fracciones vasoactivas en el mesenterio aislado de la rata.
- Purificar las fracciones con actividad farmacológica por columna cromatográfica.
- Realizar curvas concentración-respuesta de las fracciones purificadas del extracto metanólico de *A. mexicana*, en lecho mesentérico relajado o en presencia de noradrenalina o cloruro de potasio.
- Determinar la estructura química de los compuestos activos a partir de estudios de Infrarrojo (IR), Espectrometría de Masas (EM), Resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H y de ^{13}C .

5. HIPÓTESIS

La parte aérea de la *A. mexicana* contiene al menos un principio activo con actividad farmacológica el cual puede ser aislado, identificado y caracterizado farmacológicamente en el lecho mesentérico.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. Reactivos

La (\pm)-Noradrenalina (NA), prazosina, nifedipina, cloralosa, uretano y el ácido ascórbico son marca Sigma–Aldrich (St. Louis, MO USA). El cloruro de sodio (NaCl), cloruro de potasio (KCl), cloruro de calcio (CaCl_2), sulfato de magnesio (MgSO_4), fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4), carbonato ácido de sodio (NaHCO_3), glucosa y los disolventes metanol, acetato de etilo y diclorometano son marca J.T.Baker. La heparina marca PiSA. La gel de sílice 60 M; 0,04-0,063 mm marca MACHEREY-NAGEL, GmbH & C.o.

6.2. Preparación de soluciones

La composición de la solución Krebs-Henseleit modificada esta expresada en miliMolar (mM) y es la siguiente: NaCl 121,40; KCl 4,70; CaCl_2 2,50; MgSO_4 1,25; KH_2PO_4 1,18; NaHCO_3 25,00; glucosa monohidratada ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \bullet \text{H}_2\text{O}$) 11,00; ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{C}_6$) 0,60 mM. La solución se preparó en agua bidestilada y se mantuvo a una temperatura de $36,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ burbujeada con carbógeno (95 % de O_2 y 5 % de CO_2) para mantener el pH de la solución a $7,4 \pm 0,5$.¹⁰⁹

La NA, prazosina y nifedipina, así como las concentraciones que se emplearon del EMeOH, y fracciones puras, se disolvieron en la solución de Krebs-Henseleit que se preparo diariamente.

6.3. Recolección de *Argemone mexicana*

La parte aérea de la planta se colectó en el camino de Xochimilco a San Gregorio Atlapulco durante los meses de junio y julio del año 2006, un espécimen se depositó en el herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) para ser identificado por la Mtra. Abigail Aguilar Contreras, jefa del herbario.

6.4. Preparación de extracto metanólico

222 g del material recolectado de la parte aérea de *A. mexicana*, fue secado bajo la sombra a temperatura ambiente, posteriormente se molió y maceró con 300 mL de MeOH durante 24 h a temperatura ambiente. Al término de este tiempo, el disolvente fue removido y sustituido con igual volumen. El disolvente removido, se evaporó a temperatura ambiente hasta sequedad obteniendo un residuo seco. Este procedimiento se repitió cada 24 h, hasta que el residuo extraído con MeOH, fue menor al 5 % del obtenido en la primera extracción. Los residuos extraídos libres de disolvente se mezclaron formando el material denominado EMeOH.

6.5. Preparación del lecho mesentérico en ratas anestesiadas

Los protocolos experimentales se realizaron conforme a las normas oficiales nacionales (NOM-062-ZOO-1999 y NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002) e internacionales (*Guide for the care and Use of Laboratory Animals* National Institutes of Health Publication 85-23, 1996) de las buenas prácticas de investigación preclínica. Los experimentos se llevaron a cabo en ratas macho adultas de la cepa Wistar con un peso entre 200 y 300 g proporcionadas por el Bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM. Todos los animales se mantuvieron alimentados con Purina Chow y agua corriente *ad libitum*, en el bioterio de la Facultad de Medicina que tiene instalaciones propias para controlar la temperatura, la higiene y los ciclos de luz-oscuridad de 12 por 12 h. Previo a la administración del anestésico se administró heparina vía i. p. una dosis de 1000 UI por kg de peso, las ratas se anestesiaron con una mezcla de Cloralosa-Uretano por vía i.p. (500 mg - 8 g en 100 mL de H₂O destilada).

6.5.1. Disección del lecho mesentérico

A la rata anestesiada se le realizó una incisión en el abdomen a lo largo del eje medio, en la línea alba del plano muscular. Para no dañar los órganos, las tijeras fueron de punta roma, se mantuvieron horizontalmente y paralelas al eje medio. Otra incisión se realizó en la parte media del abdomen, perpendicular al eje medio. Al levantar la piel y

separar los músculos rectos anteriores se visualizaron las siguientes vísceras abdominales (**Figura 7**).

- *Hígado* con varios lóbulos y su desembocadura a las vías biliares en el intestino delgado.
- *Estómago*, en donde se diferencian la zona cardial, la fúndica y la pilórica.
- *Páncreas* difuso y de color rosado. Es identificado por las numerosas masas tisulares diseminadas en el mesenterio del intestino delgado.
- *Bazo*, que tiene forma de lengüeta.
- *Complejo intestinal* cubierto de la grasa que se diseco.

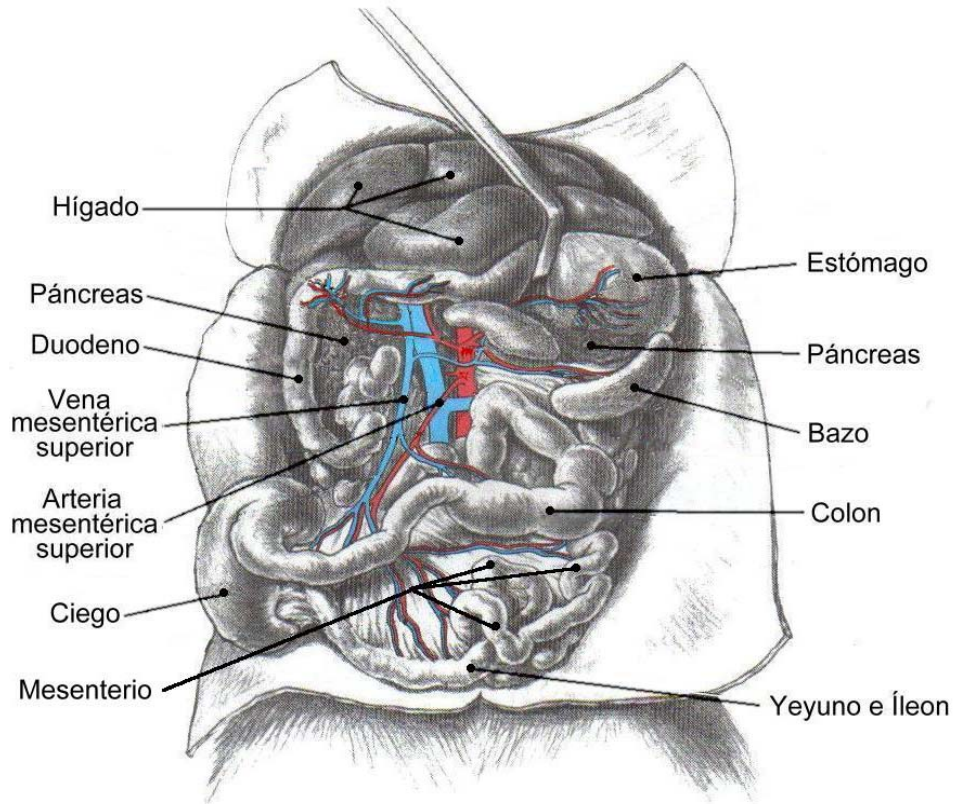


Figura 7. Órganos abdominales de la rata.

Al mover el complejo intestinal hacia la izquierda se identificaron todas las partes del intestino. En primer lugar el *delgado*, compuesto por *duodeno*, *yeyuno* e *íleon*. El cambio de intestino delgado a grueso se nota fácilmente por el *ciego* (saco muy voluminoso), el *colon* (con estriaciones) y el *recto* que desemboca en el *ano*.

Al identificar el lecho mesentérico, este se extrajo para diseccionarlo y referir, la arteria y la vena mesentérica superior. En el origen de esta arteria se colocó una cánula (PE-60) para la perfusión de la solución Krebs-Henseleit modificada. El esófago, el recto y la vena mesentérica superior se cortaron, e inmediatamente el mesenterio se desgarró suavemente para retirarlo y colocarlo en una gasa con ambiente controlado de temperatura de $36,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

La solución de perfusión Krebs-Henseleit modificada se mantuvo a $36,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ con un recirculador VWR Scientific: 1104, y a un pH de 7,4 con burbujeo de carbógeno. A través de una bomba peristáltica Heidolph Pumpdrive: 5006, el lecho mesentérico se perfundió a una velocidad de 4 mL/min para obtener una PA inicial entre 25-35 mm Hg (presión basal) (**Figura 8**). Esta presión de perfusión se registró mediante un transductor de presión P23XL acoplado a un polígrafo Grass 79 Medical Instruments Quince, USA., y a través de una interfase se envió la señal a un software PREFRE EME. 2003 que guardaba los registros.

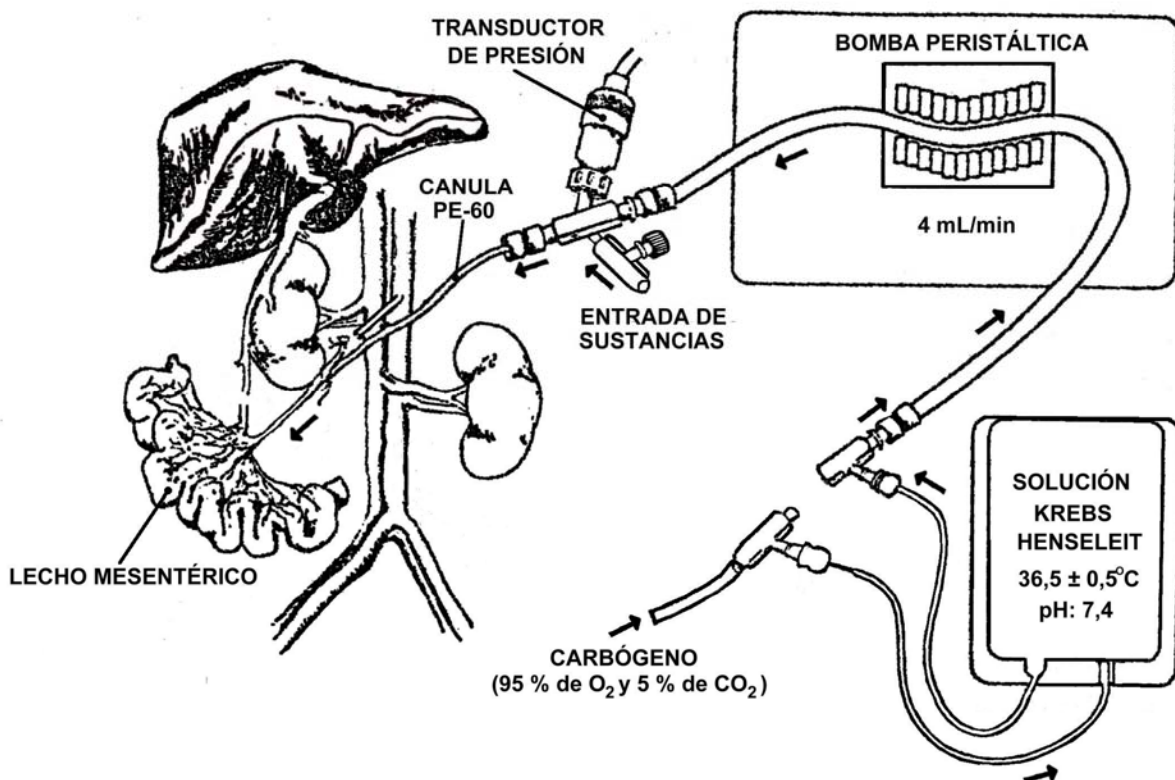


Figura 8. Representación esquemática de la perfusión del lecho mesentérico

6.6. Incremento de la PA del lecho mesentérico por el EMeOH

Al inicio de los experimentos, el lecho mesentérico se mantuvo perfundido durante 20 min para estabilizarlo a una presión entre 25-35 mm Hg. Después se estimuló con una sola concentración de NA 100 μ M o de KCl 250 mM para incrementar la resistencia vascular al líquido de perfusión, lo cual se tradujo en ascenso de la PA que alcanzó su máximo para cada una de las sustancias vasoconstrictoras (NA, KCl). Esta respuesta máxima se consideró como el 100 %. Es importante señalar que a las concentraciones empleadas de NA (100 μ M) o de KCl (250 mM), el lecho mesentérico se mantuvo viable. Posterior a la respuesta máxima, el lecho mesentérico recuperó las condiciones basales (25-35 mm Hg) y se administraron concentraciones crecientes del EMeOH (100; 149,5; 223,6; 334,3 y 500 mg/mL). Con los resultados obtenidos se construyeron curvas concentración respuesta con EMeOH tomando como 100 % la respuesta máxima producida previamente por NA (100 μ M) o por KCl (250 mM).

6.7. Disminución de la PA del lecho mesentérico por el EMeOH

Estabilizado el lecho mesentérico se administraron concentraciones crecientes de NA (0,1; 1; 10 y 100 μ M) antes y después de agregar a la solución de perfusión una concentración de 2 mg/mL del EMeOH. El mismo diseño experimental fue realizado con concentraciones crecientes de KCl (50; 75; 111; 164; 250 mM). Se realizaron seis experimentos en forma independiente para cada una de las sustancias vasoconstrictoras. Con los resultados obtenidos se construyeron curvas concentración-respuesta a NA y a KCl, antes y después de agregar a la solución Krebs-Henseleit el EMeOH.

Otra serie de experimentos fue realizada utilizando como control positivo prazosina (1 nM) o nifedipina (1 μ M) para el caso de NA o KCl, respectivamente. Con los resultados obtenidos se construyeron las curvas concentración-respuesta a NA y a KCl, antes y después de agregar a la solución Krebs-Henseleit la prazosina o nifedipina, respectivamente.

6.8. Fraccionamiento por extracción líquido-líquido

5 g de EMeOH disueltos en 50 mL de agua (fase acuosa) se colocaron en un embudo de separación de 250 mL, y lentamente se adiciono 50 mL de acetato de etilo (fase orgánica). Evitando que se formara turbulencia al adicionar el solvente orgánico, la mezcla se agitó y dejó reposar hasta la separación de dos fases. La fase superior (acetato de etilo) se depositó en un matraz erlenmeyer de 150 mL, y se adicionó “nuevo” acetato de etilo a la fase acuosa. Esta operación se repitió cinco veces, y los residuos solubles en acetato de etilo, se agruparon previa evaporación de este disolvente a temperatura ambiente. La fase acuosa libre de acetato de etilo, nuevamente fue extraída durante cinco ocasiones con 50 mL de diclorometano en cada ocasión. En las cinco extracciones, la fase inferior de diclorometano, fue separada adicionando “nuevo” diclorometano a la fase acuosa. En resumen se obtuvieron tres extractos denominados: Extracto de Acetato de Etilo (EAE), Extracto de Diclorometano (ED) y Extracto Acuoso (EA), los cuales fueron ensayados independientemente administrando una sola dosis (100 mg/mL) de cada extracto a el lecho mesentérico aislado de rata.

6.9. Fraccionamiento del ED por columna cromatográfica.

Debido a que de los tres extractos ensayados, solo el ED disminuyó la PA del lecho mesentérico, se procedió a fraccionarlo por columna cromatográfica. 123 mg de ED se colocaron en una columna con soporte de gel de sílice 60 M en proporción 1:20, y se eluyó con una fase móvil de Diclorometano-Metanol (9:1). Las fracciones obtenidas se analizaron por cromatografía en capa fina con fase móvil dicloro-metanol (9:1) y cada una, se probó en el lecho mesentérico. Las fracciones recolectadas fueron agrupadas con base a su patrón cromatográfico y su actividad biológica. Las fracciones activas fueron recromatografiadas hasta la purificación de los principios activos

A la fracción activa purificada se le realizó punto de fusión, reacciones químicas para la determinación de alcaloides, flavonoides y glucósidos cardiacos (**ANEXO B**). Una muestra con suficiente compuesto, se envió a la UAM campus Xochimilco en donde se

realizaron los estudios de RMN de ^1H y de ^{13}C . Otra muestra de la misma fracción activa fue enviada al Instituto de Química para realizar EM e IR.

6.10. Fraccionamiento del EA por columna cromatográfica.

Debido a que de los tres extractos ensayados solo el EA incrementó la PA del lecho mesentérico, 2,904 g de este extracto se colocó en una columna con soporte de gel de sílice 60 M en proporción 1:20, y se eluyó con una fase móvil de Acetona-Metanol (9:2). Cada una de las fracciones fue analizada por cromatografía en capa fina y probada en el lecho mesentérico. Las fracciones recolectadas fueron agrupadas con base a su patrón cromatográfico y su actividad biológica.

A los compuestos activos purificados se les realizó punto de fusión, reacciones químicas para la determinación de alcaloides, flavonoides y glucósidos cardiacos (**ANEXO B**), y se envió suficiente compuesto a la UAM campus Xochimilco, para realizar los estudios de, RMN de ^1H y de ^{13}C . Otra concentración del componente activo fue enviada al Instituto de Química para realizar IR, y a la Unidad de Apoyo a la Investigación (USAI) para estudios complementarios.

6.11. Curvas concentración respuesta de los componentes vasoactivos purificados

El efecto de los componentes vasoactivos aislados del ED y EA fue estudiado sobre la PA de lecho mesentérico siguiendo los mismos procedimientos mencionados en los incisos **6.6**, para el compuesto contráctil y **6.7**, para el compuesto relajante. Las concentraciones crecientes del compuesto contráctil fueron 14,14; 19,99; 28,27 y 40 mg/mL, y para el compuesto relajante fue 2 mg/mL adicionado a la solución de perfusión del lecho mesentérico.

6.12. Análisis estadístico

Los resultados del incremento de la PA producida por concentraciones crecientes del EMeOH se informan en mm Hg como la media \pm Error Estándar (EE). Estos valores se convierten a porcentaje al comparar su magnitud con respecto al incremento de PA

máxima (100%) obtenida con NA o con KCl. Las diferencias observadas con las fracciones activas y con el compuesto vasoactivo puro, fueron determinadas de la misma forma que con el EMeOH completo y también se expresan en porcentaje.

Los resultados de la respuesta del lecho mesentérico a dosis crecientes de NA o de KCl registrados antes y después de adicionar EMeOH (2 mg/mL) al líquido de perfusión, son expresados en mm Hg como la media \pm Error Estándar (EE). Las diferencias encontradas con cada una de las sustancias vasoconstrictoras, antes y después de adicionar el EMeOH, se analizan mediante la prueba *t* de *student's* pareada. El nivel α para considerar las diferencias estadísticamente significativas se estableció en 0,05.

Los procedimientos estadísticos se realizaron a cabo con el paquete de estadística STATGRAPHICS Plus Ver. 5.1 diciembre, 2001 y XLSTAT Ver. 7.5.2 1995-2004 (Addinsoft) ambos para Windows. La construcción de las curvas concentración respuesta, se realizó en la hoja de cálculo Excel del paquete Microsoft Office 2003.

7. RESULTADOS

7.1. Obtención e identificación de *A. mexicana*

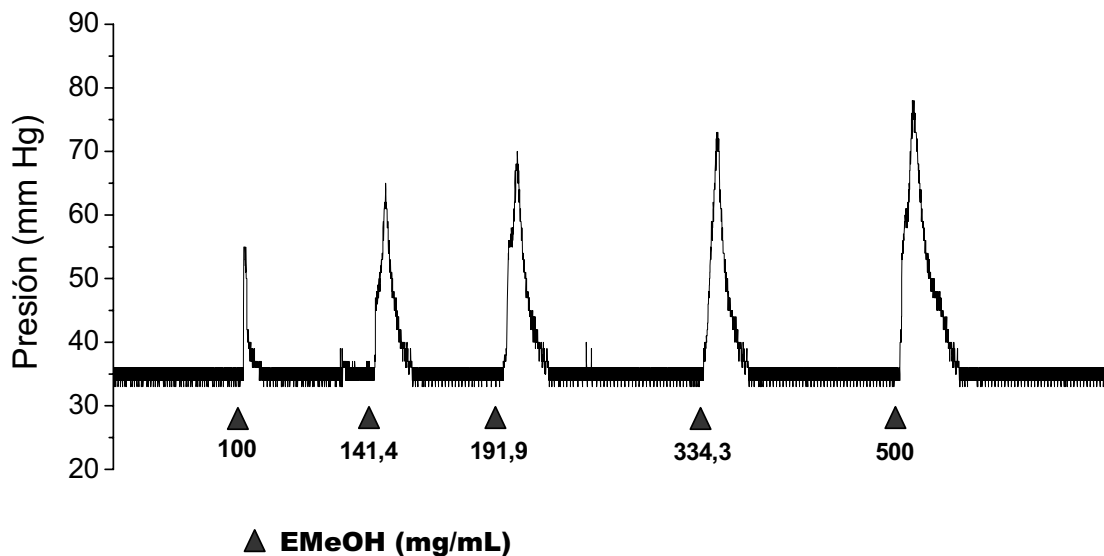
Durante los meses de junio y julio del año 2006, en el camino de Xochimilco a San Gregorio Atlapulco se colectaron 650 g de la parte aérea de la planta. El espécimen fue identificado por la Mtra. Abigail Aguilar Contreras, jefa del herbario en el IMSS, como *Argemone mexicana* asignándole el No. 14132.

7.2. Rendimiento del extracto metanólico

El rendimiento obtenido del EMeOH de la parte aérea de *A. mexicana* después de haber sido macerado con metanol fue de 15,76 %.

7.3. Incremento de la PA del lecho mesentérico por el EMeOH

El **Registro 1** ilustra un ejemplo de una imagen digitalizada obtenida con los incrementos de PA del lecho mesentérico cuando se administran concentraciones crecientes de EMeOH. Cada pico indica la máxima respuesta alcanzada por cada concentración administrada, y refleja los incrementos de la resistencia vascular que se opone al líquido de perfusión. Observe que la relación entre la concentración y la PA es directamente proporcional.



Registro 1. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA en la arteria mesentérica, producidos por concentraciones crecientes e independientes de EMeOH.

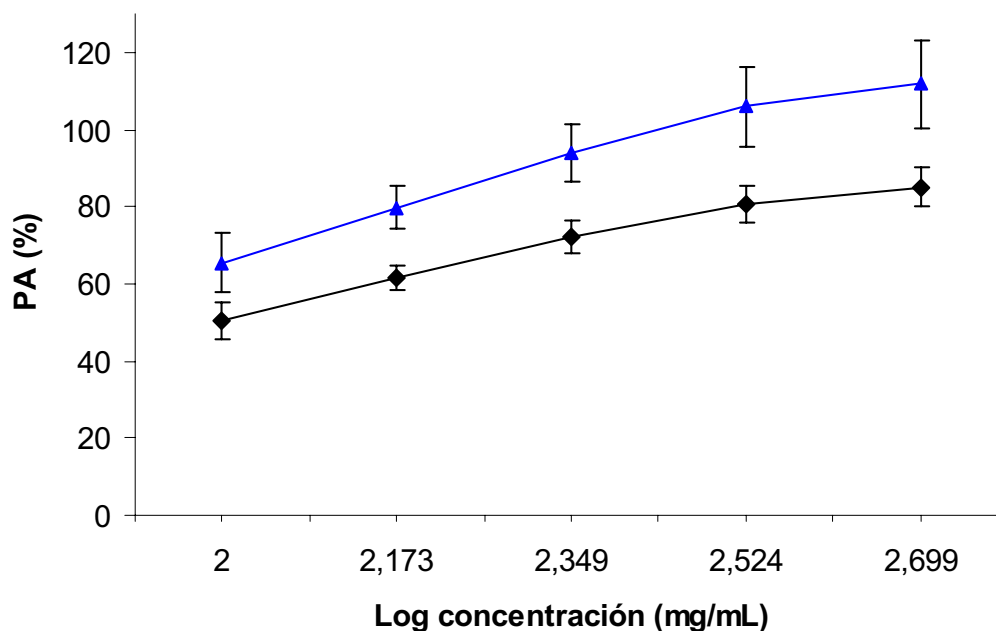
La **Tabla X** muestra los promedios del por ciento de PA del lecho mesentérico, alcanzados con cada una de las concentraciones del EMeOH (100; 149,5; 223,6; 334,3 y 500 mg/mL). Estos porcentajes se calcularon con respecto a la respuesta máxima obtenida con la administración de NA (~74,5 mm Hg-100 μ M) o KCl (~54 mm Hg-250 mM), la cual se tomó como el 100 %. Estos valores se representan más claramente en la **Gráfica 1**. Observe que el incremento de la PA producido por el EMeOH es mayor en los experimentos en donde el KCl se empleó como el vasoconstrictor de referencia.

Tabla X. Promedios del por ciento de incremento de PA en el lecho mesentérico obtenidos con diferentes concentraciones de EMeOH. Se tomó como 100 % la máxima respuesta producida con NA (100 μ M) o con KCl (250 mM).

Máxima respuesta [100 %]	Concentración EMeOH [mg/mL]				
	100	149,5	223,59	334,34	500
	% de incremento de la PA				
NA (74,5 mm Hg)	50,42 \pm 4,622	61,51 \pm 3,325	72,27 \pm 4,260	80,69 \pm 4,785	85,13 \pm 5,233
KCl (54 mm Hg)	65,51 \pm 7,452	79,70 \pm 5,641	94,06 \pm 7,488	105,8 \pm 10,36	111,8 \pm 11,29

Los valores se expresan como el promedio en por ciento \pm EE, n=6.

Incremento de la PA del lecho mesentérico por el EMeOH

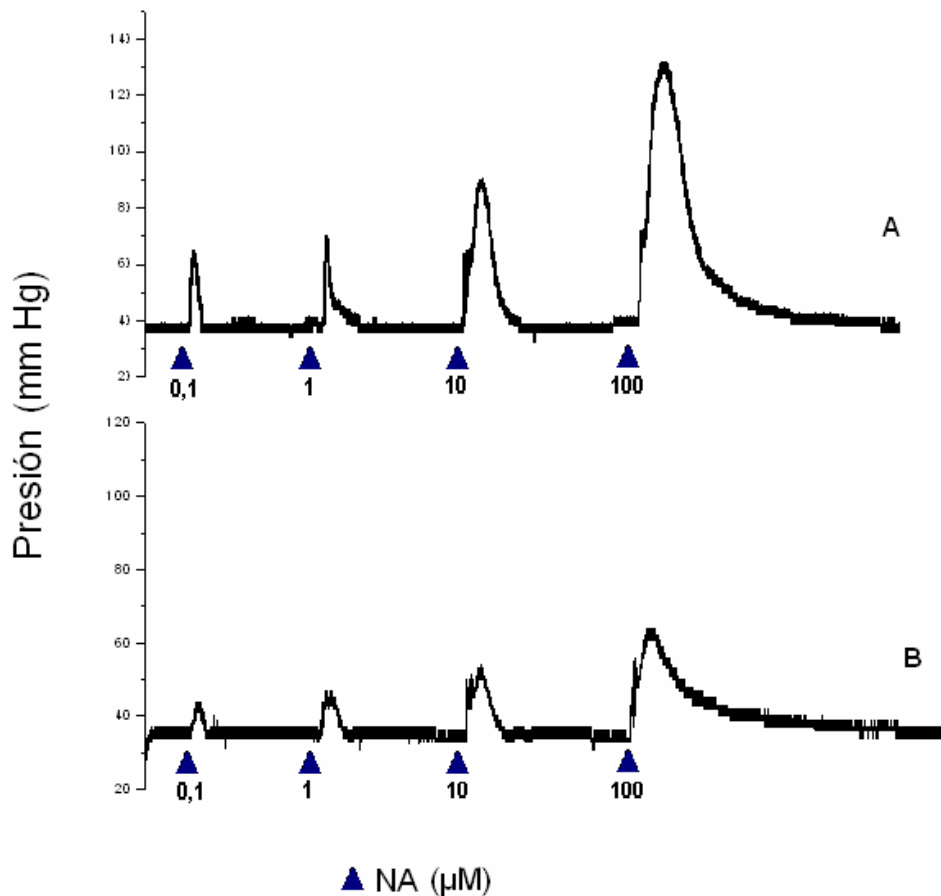


Gráfica 1. Comparación de los incrementos de la PA producidos por el EMeOH con respecto al incremento máximo alcanzado con NA (100 μ M) (◆) o con KCl (250 mM) (▲). Cada símbolo representa el valor promedio en por ciento \pm EE (I), n=6.

7.4. Disminución de la PA del lecho mesentérico por el EMeOH

7.4.1. Curva concentración respuesta con NA

El **Registro 2** ilustra un ejemplo de una imagen digitalizada obtenida con los incrementos de la PA del lecho mesentérico, producidos por concentraciones crecientes de NA. Estos incrementos se registraron antes y después de adicionar al líquido de perfusión 2 mg/mL de EMeOH. Cada pico indica la máxima respuesta alcanzada por la concentración en turno administrada, y refleja incrementos de resistencia vascular al líquido de perfusión. Observe que la relación entre la concentración de NA y la PA es directamente proporcional.



Registro 2. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA en la arteria mesentérica, producidos por dosis crecientes de NA antes (A) y después (B) de agregar en líquido de perfusión 2 mg/mL de EMeOH.

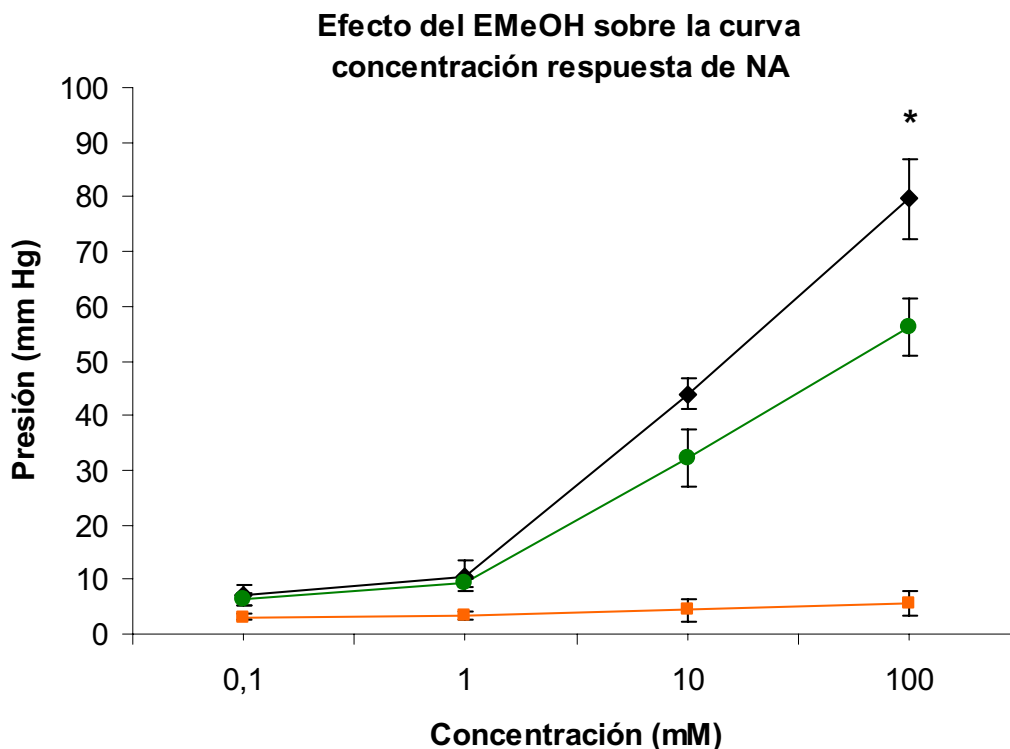
La **Tabla XI** muestra la estadística descriptiva de los cambios producidos por concentraciones crecientes del NA, (0,1; 1; 10; 100 μM) sobre la PA del lecho mesentérico, antes y después de adicionar al líquido de perfusión el EMeOH (2 mg/mL) o la prazosina (1 nM). Estos valores se representan más claramente en la **Gráfica 2**. Observe que el EMeOH desplaza la curva concentración respuesta hacia la derecha y la prazosina la bloquea completamente

Tabla XI. Estadística descriptiva de los efectos producidos por concentraciones crecientes de NA, sobre el lecho mesentérico, en ausencia y presencia del EMeOH (2 mg/mL) o de prazosina (1 nM) adicionadas al líquido de perfusión.

Tratamiento	Concentración NA (μM)			
	0,1	1	10	100
	Presión (mm Hg)			
NA	7 \pm 1,862	10,66 \pm 2,813	44 \pm 2,708	79,66 \pm 7,233
EMeOH (2 mg/mL) + NA	6,333 \pm 1,022	9,333 \pm 0,760	32,16 \pm 5,294	56,16* \pm 5,282
Prazosina (1 nM) + NA	3,167 \pm 0,543	3,333 \pm 0,760	4,333 \pm 1,909	5,5 \pm 2,217

Los valores se expresan como el promedio en mm Hg \pm EE, n=6, *p<0,05.

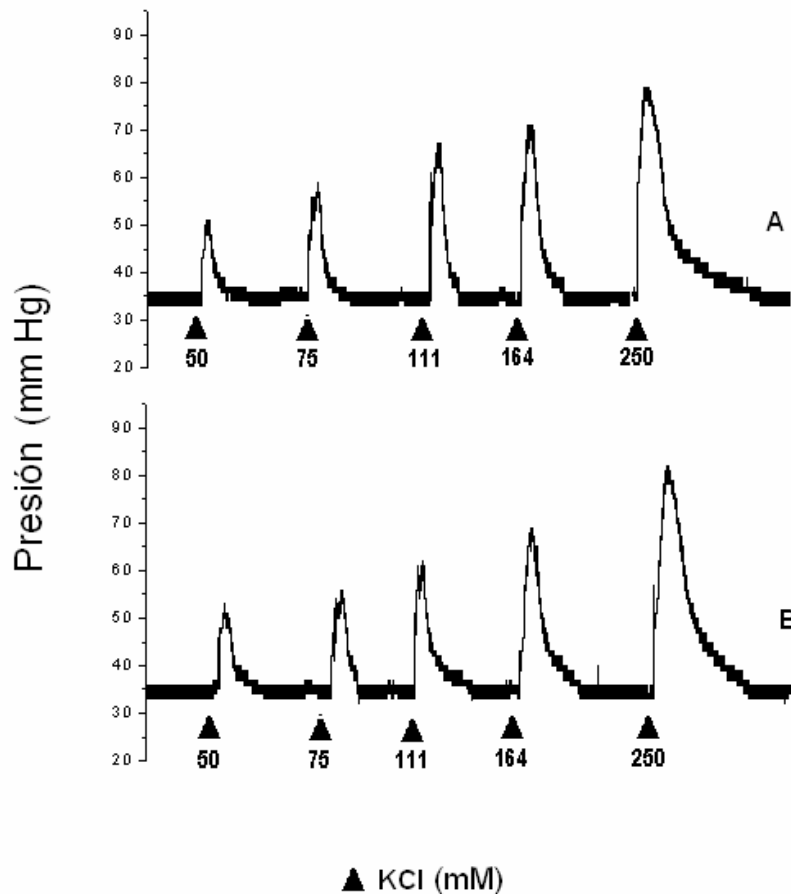
El análisis estadístico mediante la prueba *t pareada* para los resultados obtenidos con la administración de concentraciones crecientes de NA, antes y durante la perfusión de EMeOH (2 mg/mL) fue de $t_{\text{calc}} = 0,293; 0,523; 2,083$ y $4,231$ respectivamente para cada una de las concentraciones, con un valor crítico de $2,571$, y respectivamente un valor de $p = 0,781; 0,623; 0,091; 0,008$. La adición de EMeOH modifica significativamente la respuesta en la última concentración de NA.



Gráfica 2. Curvas concentración-respuesta de NA (◆) obtenidas antes y después de la perfusión del lecho mesentérico con EMeOH (2 mg/mL) (●) o con prazosina (1 nM) (■). Cada símbolo representa la presión en mm Hg como el valor promedio \pm EE (I), n=6, *p<0,05.

7.4.2. Curva concentración respuesta con KCl

El **Registro 3** ilustra un ejemplo de una imagen digitalizada obtenida con los incrementos de la PA del lecho mesentérico, producidos por concentraciones crecientes de KCl. Estos incrementos se registran antes y después de adicionar al líquido de perfusión 2 mg/mL de EMeOH. Cada pico indica la máxima respuesta alcanzada por la concentración en turno administrada, y refleja incrementos de resistencia vascular al líquido de perfusión. Observe que la relación entre la concentración de KCl y la PA es directamente proporcional.



Registro 3. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA en la arteria mesentérica producidos por dosis crecientes de KCl antes (A) y después (B) de agregar en líquido de perfusión 2 mg/mL de EMeOH.

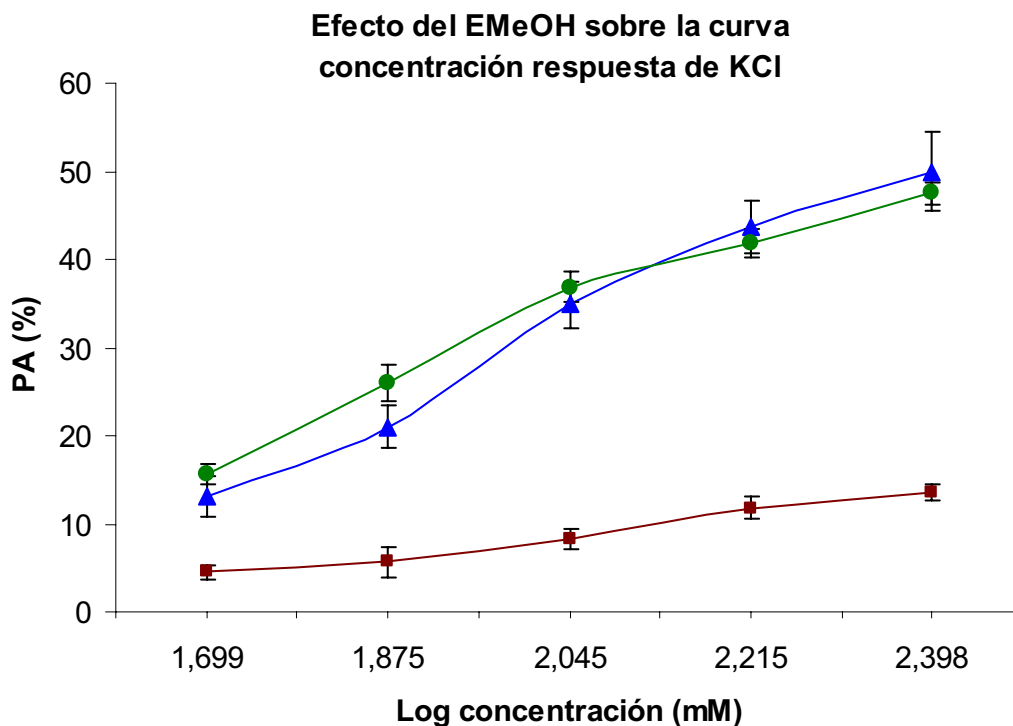
La **Tabla XII** muestra la estadística descriptiva de los cambios producidos por concentraciones crecientes del KCl, (50; 75; 111; 164; 250 mM) sobre la PA del lecho mesentérico, antes y después de adicionar al líquido de perfusión el EMeOH (2 mg/mL) o la nifedipina (1 nM). Estos valores se representan más claramente en la **Gráfica 3**. Observe que el EMeOH prácticamente no modifica la curva concentración respuesta de KCl y la nifedipina la bloquea casi completamente.

Tabla XII. Estadística descriptiva de los efectos producidos por concentraciones crecientes de KCl sobre el lecho mesentérico, en ausencia y presencia del EMeOH (2 mg/mL) o de nifedipina (1 μ M) adicionadas al líquido de perfusión.

Tratamientos	Concentración (mM)				
	50	75	111	164	250
	Presión (mm Hg)				
KCl	13,16 \pm 2,301	21,00 \pm 2,463	34,83 \pm 2,664	43,66 \pm 2,951	50 \pm 4,457
EMeOH (2 mg/mL) + KCl	15,66 \pm 1,116	26 \pm 2,049	36,83 \pm 1,682	41,83 \pm 1,621	47,5 \pm 1,285
Nifedipina (1 μ M) + KCl	4,5 \pm 0,806	5,667 \pm 1,687	8,333 \pm 1,116	11,83 \pm 1,167	13,50 \pm 0,922

Los valores se expresan como el promedio en mm Hg \pm EE, n=6.

El análisis estadístico mediante la prueba *t* pareada para la administración de las concentraciones de KCl obtenidas antes y durante de la perfusión de EMeOH (2 mg/mL) fue respectivamente de $t_{\text{calc}} = 1,263; 1,946; 0,592; 0,510; 0,6$ para cada una de las concentraciones, con un valor crítico de 2,571, y un valor respectivamente de $p = 0,262; 0,109; 0,579; 0,631; 0,574$. La adición de EMeOH no modifica la respuesta a KCl.



Gráfica 3. Curvas concentración-respuesta de KCl (▲) obtenidas antes y después de la perfusión del lecho mesentérico con EMeOH (2 mg/mL) (●) o con nifedipina (1 μ M) (■). Cada símbolo representa la presión en mm Hg como el valor promedio \pm EE (I), n=6.

7.5. Fraccionamiento por extracción líquido-líquido

Las características físicas y el rendimiento para cada uno de los extractos secos obtenidos del EMeOH de *A. mexicana* se describen en la **Tabla XIII**. Los rendimientos se expresan en por ciento a partir de 5 g de EMeOH.

Tabla XIII. Características físicas y rendimientos de los extractos secos obtenidos a partir del EMeOH.

Características físicas	Extracto		
	Acetato de etilo	Diclorometano	Acuoso
Aspecto	Oleoso	Polvo	Oleoso
Color	Verde	Amarillo	Café
Rendimiento	1,97 g (39,44 %)	0,123 g (2,46 %)	2,904 g (58,08 %)

7.6. Efecto de tres extractos sobre la PA del lecho mesentérico

7.6.1. Incremento de la PA del lecho mesentérico

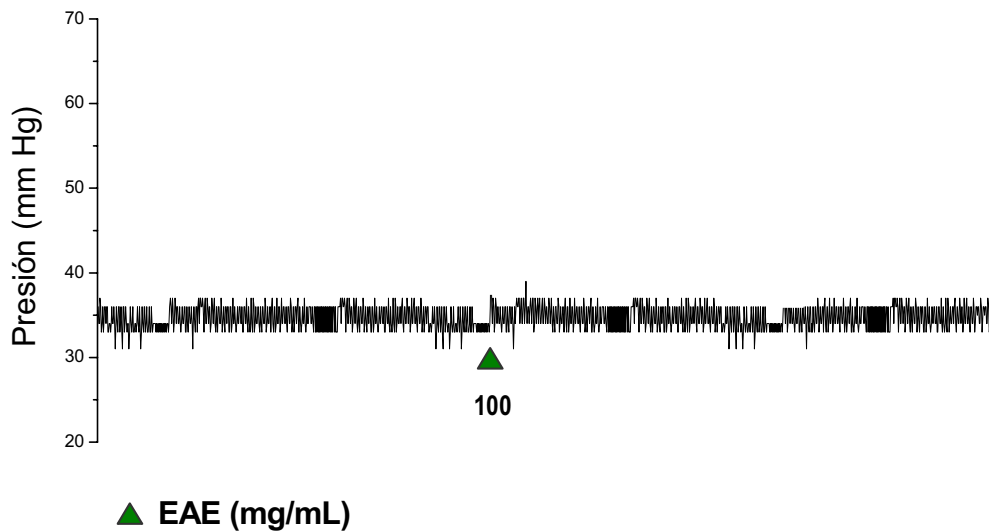
Las **Tabla XIV**, **XV** y **XVI** muestran los promedios del efecto alcanzado por tres extractos (EAE, ED y EA) obtenidos del EMeOH. Estos efectos indican los cambios de la PA del lecho mesentérico cuando cada uno de los extractos se administró en forma independiente y bajo condiciones basales en concentraciones de 100 mg/mL. Estos valores se comparan con respecto a la respuesta máxima obtenida con la administración de NA (100 μ M).

El **Registro 4**, **5** y **6** son ejemplos digitalizados de las respuestas obtenidas con la concentración de 100 mg/mL de EAE, ED y EA respectivamente, sobre la PA del lecho mesentérico. Observe que solo el EA presentó actividad al incrementar la PA del lecho mesentérico en más del 50 % del efecto producido por NA (100 μ M)

Tabla XIV. Promedios del efecto producido por el EAE en lecho mesentérico

Parámetros	EAE	NA
	100 mg/mL	100 μ M
n	6	6
Promedio	2 ± 1	$79,66 \pm 7,232$

Los valores se expresan como el Promedio en por ciento \pm EE.

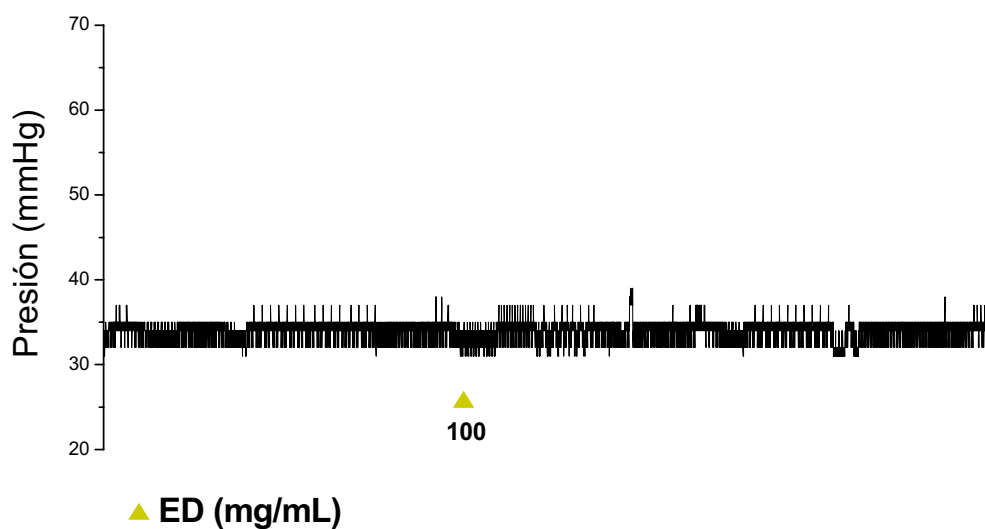


Registro 4. Imagen digitalizada que muestra la ausencia de efecto del EAE (100 mg/mL) sobre la PA del lecho mesentérico en condiciones basales.

Tabla XV. Promedios del efecto producido por el ED en lecho mesentérico

Parámetros	ED	NA
	100 mg/mL	100 μ M
n	6	6
Promedio	0,166 \pm 0,1666	80,33 \pm 1,476

Los valores se expresan como el Promedio en por ciento \pm EE.

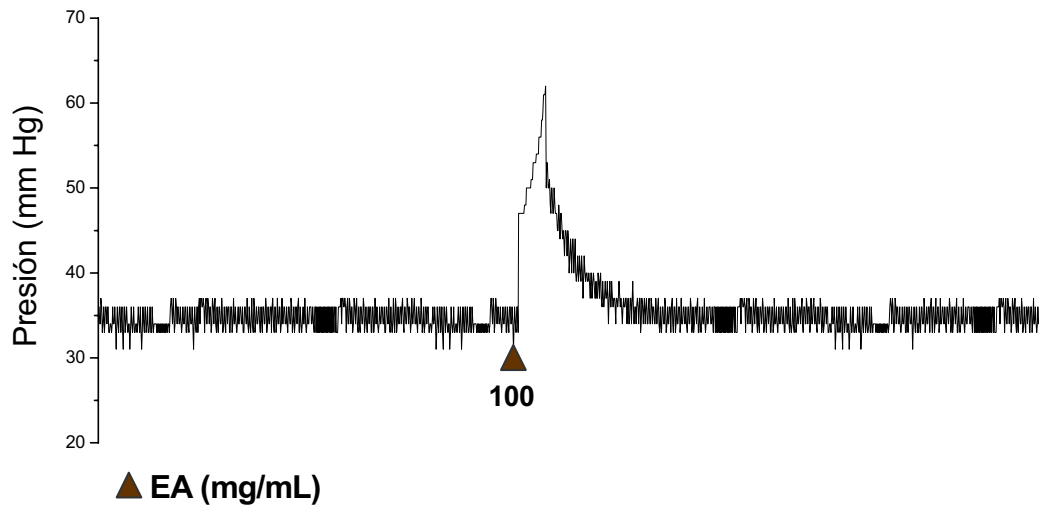


Registro 5. Imagen digitalizada que representa la ausencia de efecto del ED (100 mg/mL) en la PA del lecho mesentérico en condiciones basales.

Tabla XVI. Promedios del efecto producido por el EA en lecho mesentérico

Parámetros	EA	NA
	100 mg/mL	100 μ M
n	6	6
Promedio	46,66 \pm 7,232	76,83 \pm 6,161

Los valores se expresan como el Promedio en por ciento \pm EE.



Registro 6. Imagen digitalizada que muestra el efecto del EA (100 mg/mL) en la PA del lecho mesentérico en condiciones basales.

7.6.2. Disminución de la PA del lecho mesentérico

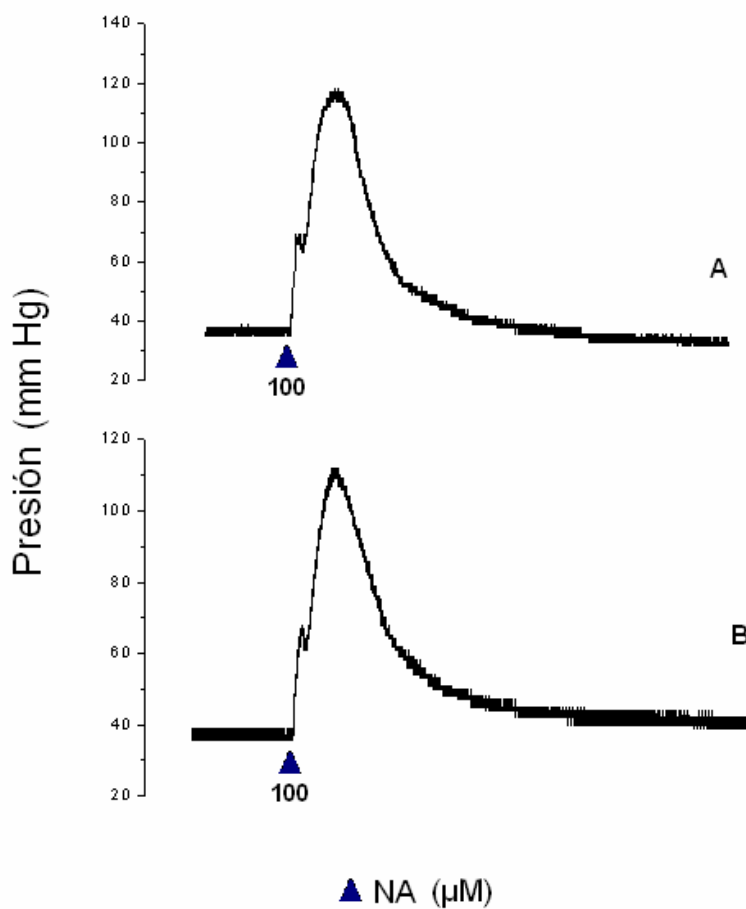
Las **Tablas XVII, XVIII y XIX** muestran los promedios de los incrementos de la PA del lecho mesentérico, producidos por NA (100 μ M), y registrados antes y después de adicionar al líquido de perfusión una concentración 100 mg/mL de alguno de los extractos obtenidos del EMeOH (EAE, ED y EA) o de prazosina (1 nM).

Los **Registros 7, 8 y 9** son ejemplos digitalizados de los incrementos de la PA del lecho mesentérico, producidos por NA (100 μ M). Estos incrementos se registran antes y después de adicionar al líquido de perfusión una concentración 100 mg/mL del EAE, o del ED o del EA, o de prazosina (1 nM). Observe que solo el ED mostró actividad al bloquear por completo el incremento producido por NA (100 μ M).

Tabla XVII. Promedio del efecto producidos por NA (100 μ M) en ausencia y presencia del EAE (50 mg/mL) o de prazosina (1 μ M) adicionadas al líquido de perfusión.

Parámetros	NA 100 μ M	EAE 50 mg/mL	Prazosina 1 nM
n	6	6	6
Promedio	74,69 \pm 3,547	72,41 \pm 2,649	7,989 \pm 4,721

Los valores se expresan como el Promedio en mm Hg \pm EE

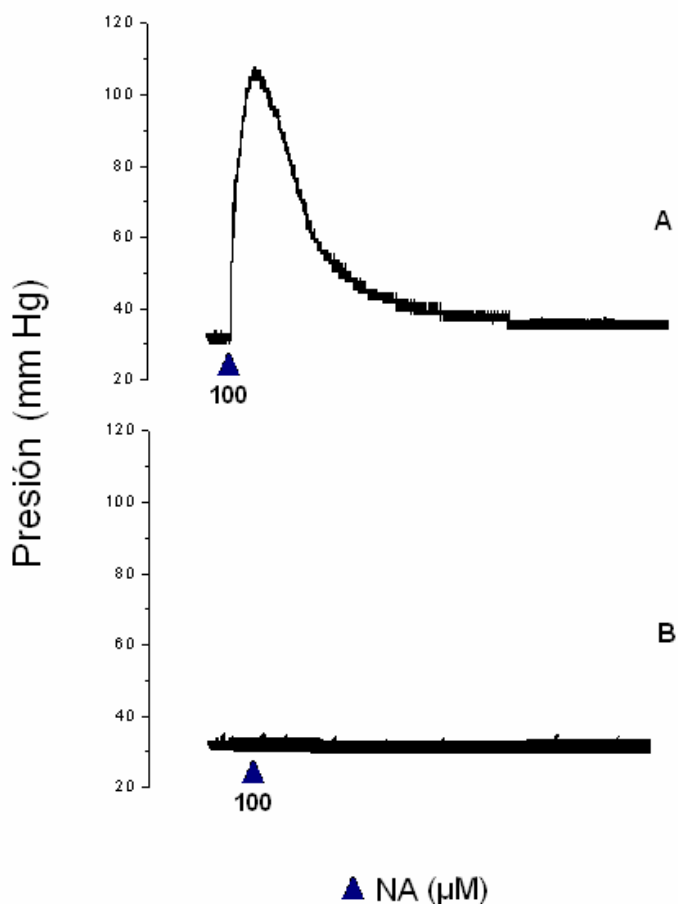


Registro 7. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA en el lecho mesentérico producidos por una dosis de NA, antes (A) y después (B) de agregar en el líquido de perfusión 100 mg/mL de EAE.

Tabla XVIII. Promedio del efecto producido por NA (100 μM), en ausencia y presencia del ED (100 mg/mL) o de prazosina (1 μM) adicionadas al líquido de perfusión.

Parámetros	NA 100 μM	ED 50 mg/mL	Prazosina 1 nM
n	6	6	6
Promedio	78,94 \pm 3,286	2,852 \pm 3,559	6,598 \pm 1,751

Los valores se expresan como el Promedio en mm Hg \pm EE

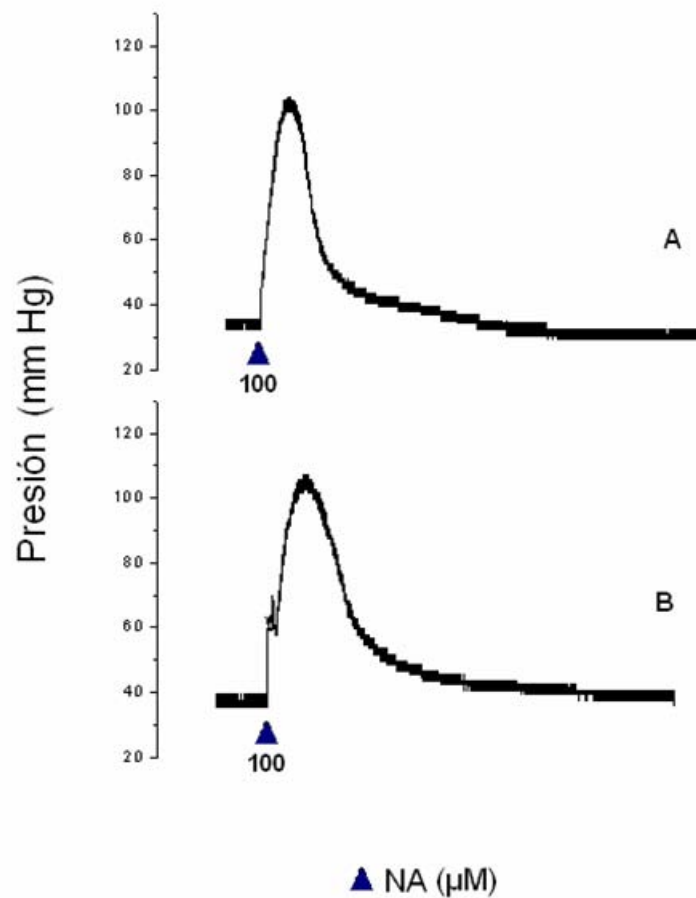


Registro 8. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA en la arteria mesentérica producidos por una dosis de NA antes (A) y después (B) de agregar en líquido de perfusión 100 mg/mL de ED.

Tabla XIX. Promedio del efecto producidos por NA (100 μ M), en ausencia y presencia del EA (100 mg/mL) o de prazosina (1 μ M) adicionadas al líquido de perfusión.

Parámetros	NA 100 μ M	EA 50 mg/mL	Prazosina 1 nM
n	6	6	6
Promedio	75,33 \pm 3,430	74,22 \pm 7,314	7,124 \pm 3,741

Los valores se expresan como el Promedio en mm Hg \pm EE.



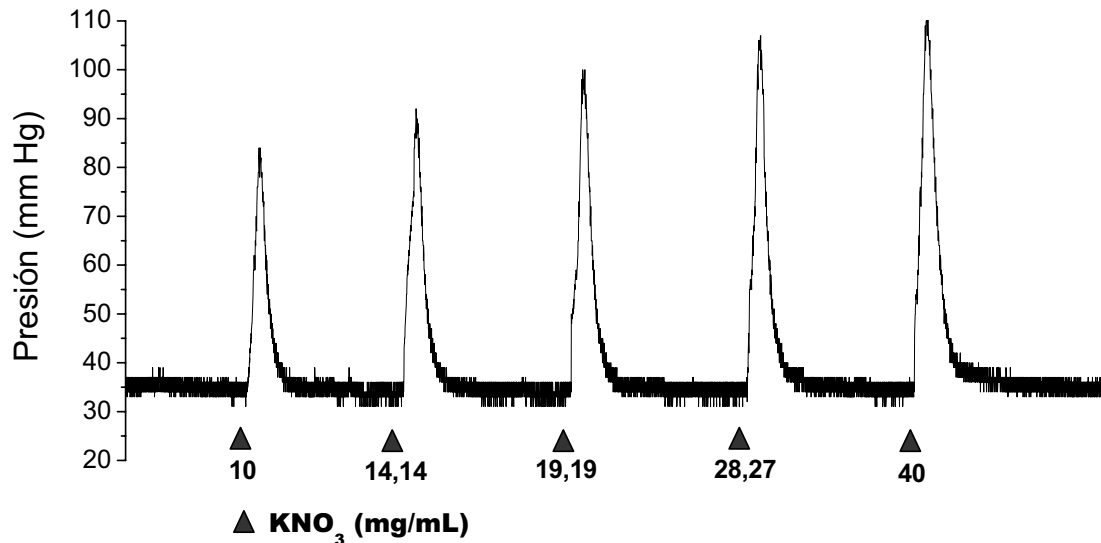
Registro 9. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA en el lecho mesentérico, producidos por una dosis de NA, antes (A) y después (B) de agregar en líquido de perfusión 100 mg/mL de EA.

7.7. Identificación del compuesto contráctil

Del EA se aisló y purificó un compuesto activo cristalino, inodoro, incoloro, de sabor amargo que por su alta solubilidad en agua permitió ensayarlo sobre la PA del lecho mesentérico. El rendimiento fue de 0,032 g (1,109 %), y mostró un pf. 342-345°C con descomposición a los 405°C. Las reacciones para determinación de alcaloides, flavonoides y glucósidos fueron negativas para estos grupos, y el espectro de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) no permitió elucidar estructura alguna (**Espectro 1**) y por IR (KBr) se encontró una ν_{max} ; 1380,5; 828 cm^{-1} (ver **Espectro 2**). A este compuesto se le realizaron pruebas para determinación de iones, cationes y radicales (**Anexo D**). Dio positivo a la prueba de potasio y nitrato por lo que se realizó Espectroscopia de Absorción atómica a la flama cuyo resultado muestra la presencia del ion potasio 240933,821 ppm (**Espectro 4**). Por tal motivo el compuesto se identificó como Nitrato de Potasio (**KNO_3**).

7.8. Curva concentración respuesta de KNO_3

El **Registro 10** ilustra un ejemplo de una imagen digitalizada obtenida con los incrementos de la PA del lecho mesentérico que producen concentraciones crecientes de KNO_3 . Cada pico indica la máxima respuesta alcanzada por la concentración en turno administrada, y refleja los incrementos de la resistencia vascular al líquido de perfusión. Observe que la relación entre la concentración y la PA es directamente proporcional.



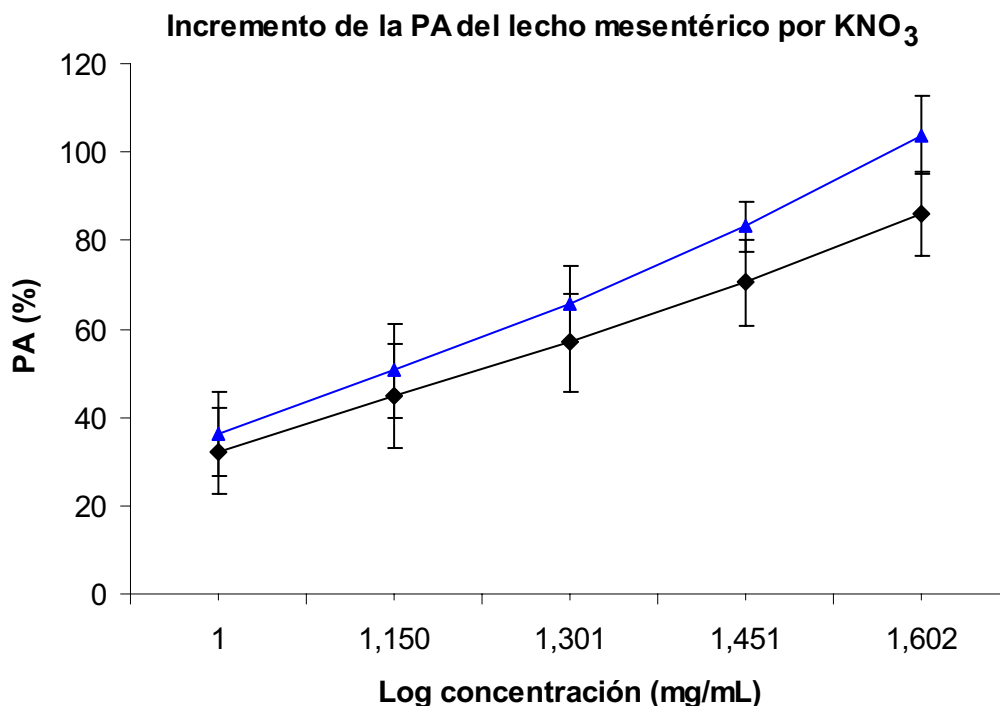
Registro 10. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA en el lecho mesentérico, producidos por concentraciones crecientes e independientes de KNO_3 .

La **Tabla XX** muestra los promedios del por ciento de PA del lecho mesentérico, alcanzados con cada una de las concentraciones del KNO_3 (10; 14,14; 19,99; 28,27 y 40 mg/mL). Estos porcentajes se calcularon con respecto a la respuesta máxima obtenida con la administración de NA (~70,67 mm Hg-100 μM) o KCl (~56,57 mm Hg-250 mM), la cual representó el 100 %. Con los valores obtenidos se construyó una curva concentración respuesta, en la cual se observa que el por ciento del incremento de PA producido por el KNO_3 , tiende a ser mayor cuando se toma como 100 % de la respuesta máxima la producida por KCl (**Gráfica 4**).

Tabla XX. Promedios del por ciento de incremento de PA en el lecho mesentérico obtenido con diferentes concentraciones de KNO_3 . Se tomó como 100 % la máxima respuesta producida con NA (100 μM) o con KCl (250 mM).

Máxima respuesta (100 %)	Concentración (mg/mL)				
	10	14,14	19,99	28,27	40
	% de incremento de la PA				
NA (70,67 mm Hg)	32,3 ± 9,689	45,02 ± 11,78	56,90 ± 11,04	70,48 ± 9,65	86,15 ± 9,452
KCl (56,57 mm Hg)	36,23 ± 9,332	50,62 ± 10,66	65,74 ± 8,734	83,18 ± 5,61	103,9 ± 8,834

Los valores se expresan como el promedio en por ciento ± EE, n=6.



Gráfica 4. Comparación de los incrementos de la PA producidos por KNO₃ con respecto al incremento máximo alcanzado con NA (100 μM) (◆) o con KCl (250 mM) (▲). Cada símbolo representa el valor promedio en por ciento ± EE (I), n=6.

7.9. Identificación del compuesto vasorelajante

Del ED se aisló y purificó un compuesto activo de aspecto amorfo, inodoro, de color amarillo, de sabor amargo, muy soluble en metanol, R_f= 0,66 (mezcla diclorometano-metanol 9:1). El rendimiento fue de 0,020 g (16,26 %), y mostró un pf. 223-225°C con descomposición. Las reacciones para determinación de alcaloides fue positiva, el espectro de IR (KBr) mostró una ν_{\max} ; 3388, 43 (-OH); 1602,87-1636,88 (C=N⁺) cm⁻¹. Las asignaciones de los espectros de RMN de ¹H (400 MHz, DMSO) y ¹³C (100 MHz, DMSO) se reportan en la **Tabla XXI**. El EM presento un ion molecular m/z en 353 [M⁺ + 1] que junto al espectro de RMN de ¹H (100 MHz, DMSO) publicado en estudios previos¹¹⁰ permitieron identificar el compuesto como **Berberastina** (C₂₀H₁₈N⁺O₅). Su formula estructural se muestra en la **Figura 9**.

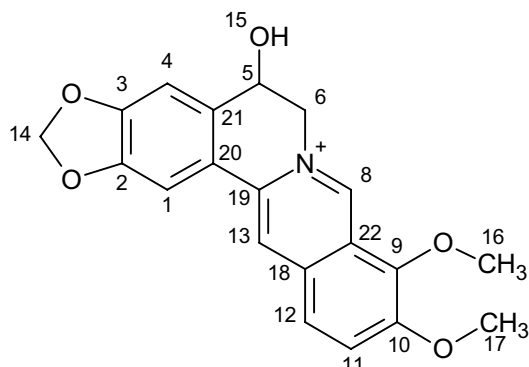


Figura 9. Estructura de la berberastina y posición de sus átomos de H y C.

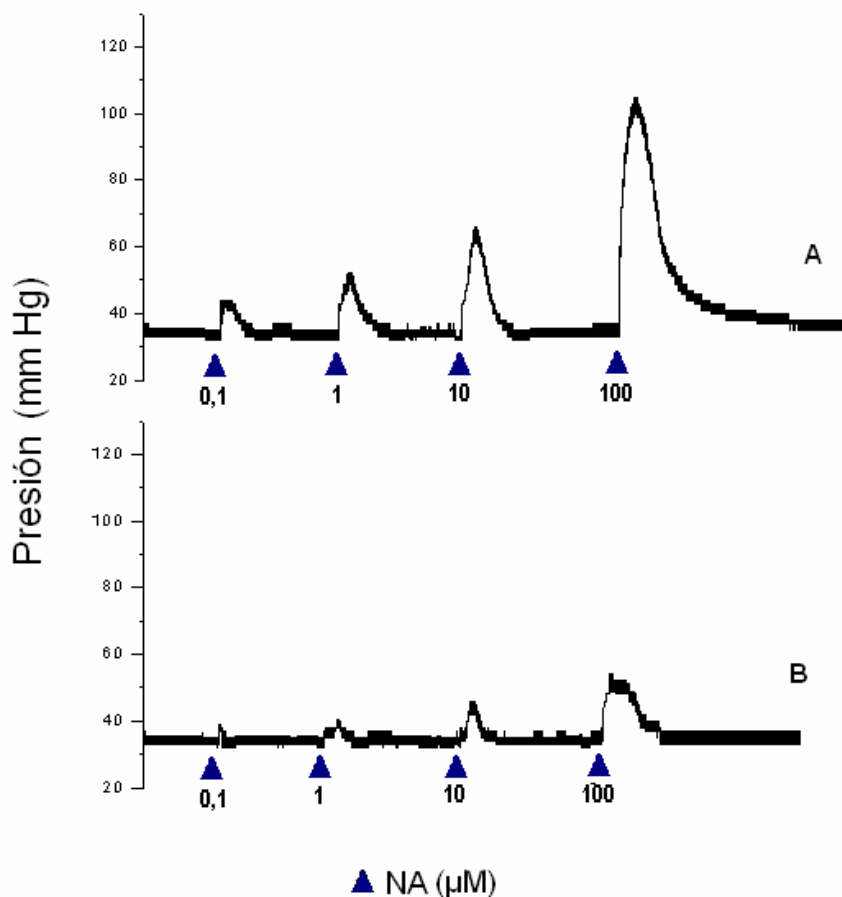
Posición	RMN ¹ H	RMN ¹³ C	RMN ¹ H Publicado ¹¹⁰
1	7,78(s) 1H	102,01	7,83 (1H, s, C ₁ -H)
2	--	147,47	--
3	--	150,2	--
4	7,08 (s) 1H	105,37	7,16(1H, s, C ₄ -H)
5	4,92-4,94 (m) 1H	81,82	4,7-5,3 (3H, m, C ₅ -H y en C ₆ -CH ₂)
6	4,88-4,91, (m) 2H	63,04	
8	8,92 (s) 1H	143,42	
9	--	149,60	--
10	--	145,28	--
11	7,98 (d) J= 9 Hz 1H	123,41	8,02 (1H, d J= 9 Hz C ₁₁ -H)
12	8,19 (d) J= 9 Hz 1H	126,53	8,24 (1H, d J= 9 Hz C ₁₂ -H)
13	9,88 (s) 1H	120,05	9,98 (1H, s, C ₁₃ -H)
14	6,16 (s) 2H	101,89	6,20 (2h, s, -OCH ₂ O-)
15	6 (s) 1H	--	5,95-6,05 (1H, m, removido por la deuteración -OH)
16	4,06 (s) 3H	61,92	4,08 (3, s, C ₉ -OCH ₃)
17	4,08 (s) 3H	57,04	4,12 (3, s, C ₁₀ -OCH ₃)
18	--	130,54	--
19	--	132,77	--
20	--	120,32	--
21	--	137,29	--
22	--	108,33	--

Tabla XXI. Asignaciones de los espectros de RMN ¹H y ¹³C para la determinación de berberastina comparadas con las asignaciones publicadas en 1975.

7.10. Disminución de la PA del lecho mesentérico por berberastina

7.10.1. Efecto de berberastina sobre la curva concentración respuesta con NA

El **Registro 11** ilustra un ejemplo de una imagen digitalizada obtenida con los incrementos de la PA del lecho mesentérico producidos por concentraciones crecientes de NA. Estos incrementos se registran antes y después de adicionar al líquido de perfusión 2 mg/mL berberastina. Cada pico indica la máxima respuesta alcanzada por la concentración en turno administrada, y refleja incrementos de la resistencia vascular del lecho mesentérico al líquido de perfusión. Observe que la relación entre la concentración de NA y la PA es directamente proporcional.



Registro 11. Imagen digitalizada que representa los cambios de PA del lecho mesentérico, producidos por dosis crecientes de NA, antes (A) y después (B) de agregar en líquido de perfusión berberastina (2 mg/mL).

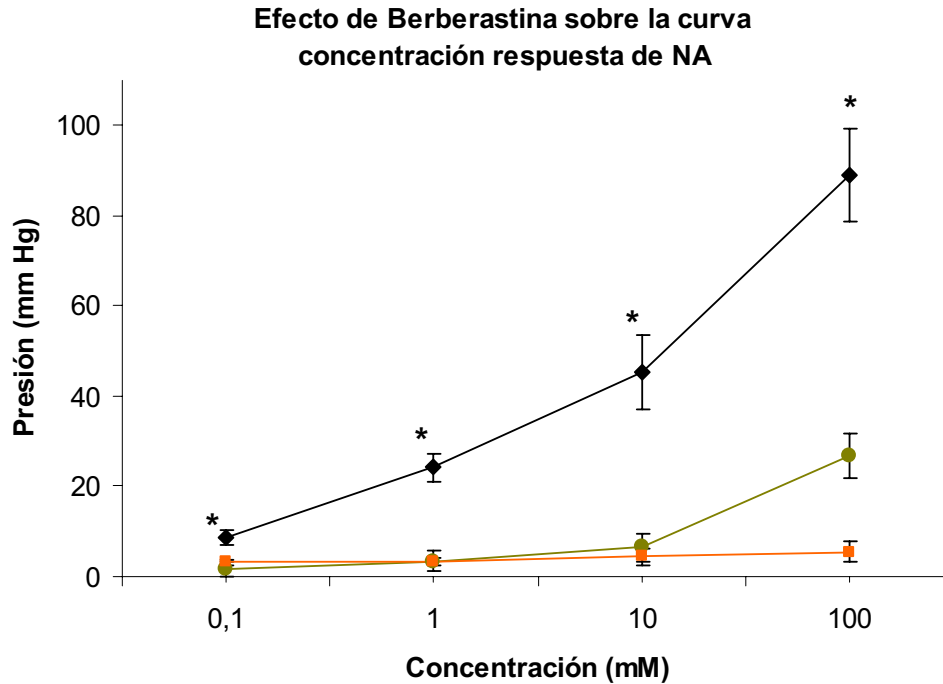
La **Tabla XXII** muestra la estadística descriptiva de los cambios producidos por concentraciones crecientes de NA (0,1; 1; 10; 100 μM) sobre la PA del lecho mesentérico antes y después de adicionar al líquido de perfusión berberastina (2 mg/mL) o prazosina (1 nM). Estos valores se representan más claramente en la **Gráfica 5**. Observe que la berberastina desplaza la curva concentración respuesta hacia la derecha, de manera semejante a como lo hace la prazosina, con excepción de la última respuesta a NA.

Tabla XXII. Estadística descriptiva de los efectos producidos por concentraciones crecientes de NA, sobre el lecho mesentérico, en ausencia y presencia de berberastina (2 mg/mL) o de prazosina (1 nM) adicionada al líquido de perfusión.

Tratamientos	Concentración (μM)			
	0,1	1	10	100
	Presión (mm Hg)			
NA	8,667 \pm 1,745	24,16 \pm 3,07	45,16 \pm 8,244	88,83 \pm 10,34
Berberastina 2 (mg/mL) + NA	1,667* \pm 1,667	3,5* \pm 2,078	6,5* \pm 3,106	26,83* \pm 4,799
Prazosina 1 (nM) + NA	3,167 \pm 0,543	3,333 \pm 0,667	4,333 \pm 1,909	5,500 \pm 2,217

Los valores se expresan como el promedio en mm Hg \pm EE, n=6, *p<0,05.

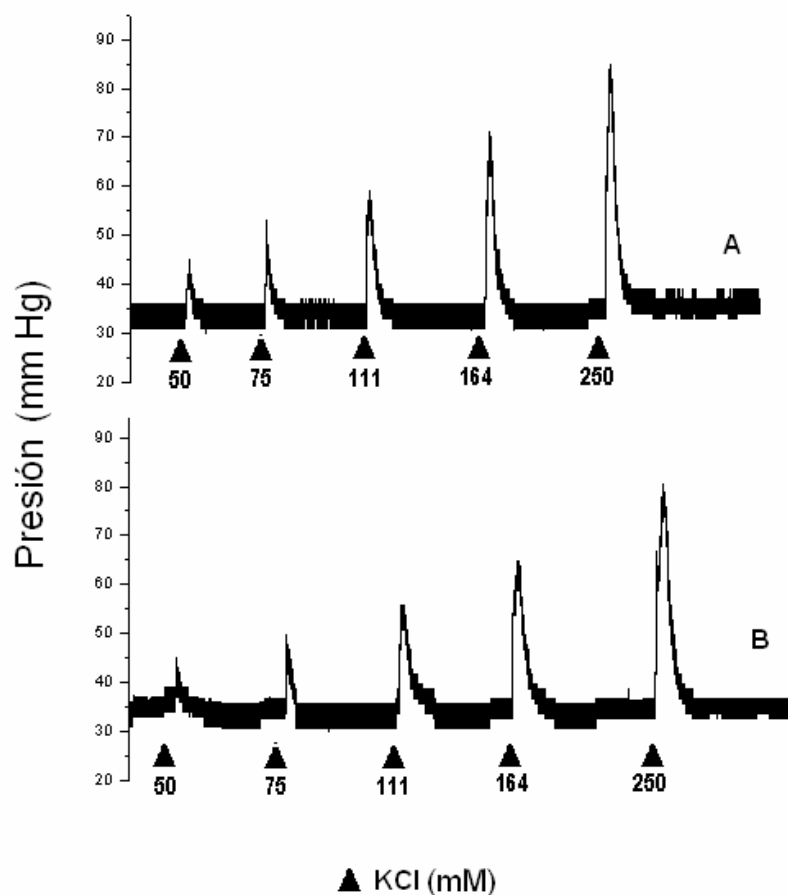
El análisis estadístico mediante la prueba *t pareada* de los resultados obtenidos con la administración de concentraciones crecientes de NA, antes y durante la perfusión de berberastina (2 mg/mL) fue respectivamente de $t_{\text{calc}} = 3,388; 6,542; 4,635$ y $4,118$ para cada una de las concentraciones con un valor crítico de 2,571, y respectivamente un valor de $p = 0,019; 0,001; 0,005; 0,009$. La adición de berberastina modifica significativamente la respuesta en todas las concentraciones empleadas para realizar la curva de concentración respuesta con NA.



Gráfica 5. Curvas concentración-respuesta de NA obtenidas antes (◆) y después de la perfusión del lecho mesentérico con berberastina (2 mg/mL) (●) o con prazosina (1nM) (■). Cada símbolo representa la presión en mm Hg como el valor promedio \pm EE (I), n=6, *p<0,05.

7.10.2. Efecto de berberastina sobre la curva concentración respuesta con KCl

El **Registro 12** ilustra un ejemplo de una imagen digitalizada obtenida con los incrementos de la PA del lecho mesentérico, producidos por concentraciones crecientes de KCl. Estos incrementos se registran antes y después de adicionar al líquido de perfusión 2 mg/mL de berberastina. Cada pico indica la máxima respuesta alcanzada por la concentración en turno administrada, y refleja incrementos de resistencia vascular del lecho mesentérico al líquido de perfusión. Observe que la relación entre la concentración de KCl y la PA es directamente proporcional.



Registro 12. Imagen digitalizada que representa los cambios de KCl en la PA del lecho mesentérico, producidos por dosis crecientes de NA, antes (A) y después (B) de agregar en el líquido de perfusión berberastina (2 mg/mL).

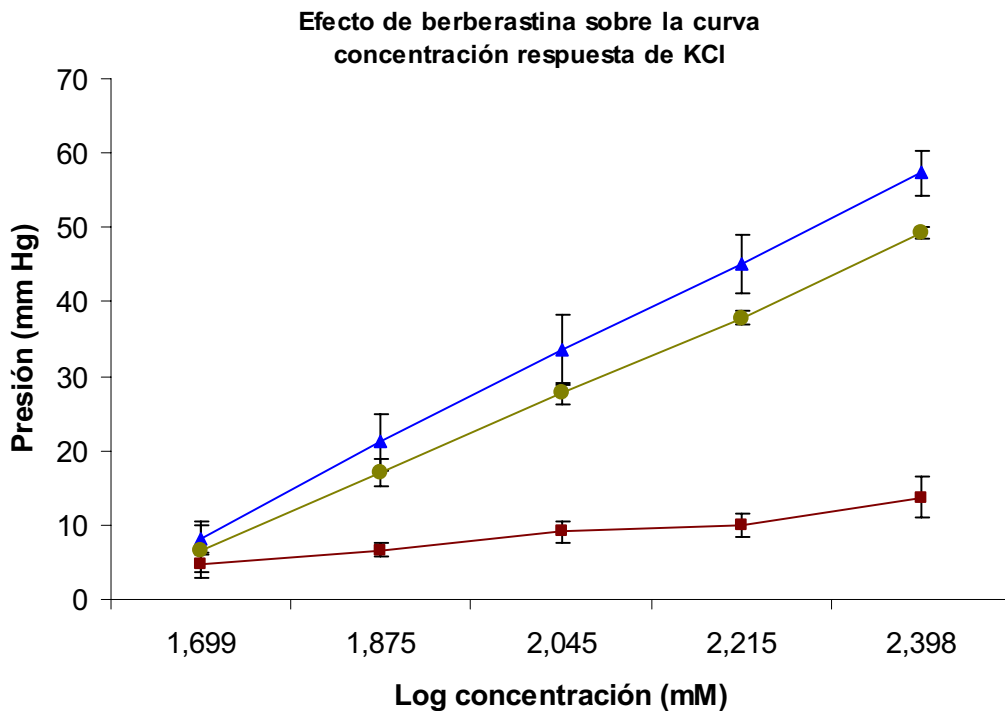
La **Tabla XXIII** muestra la estadística descriptiva de los cambios producidos por concentraciones crecientes del KCl, (50; 75; 111; 164; 250 mM) sobre la PA del lecho mesentérico, antes y después de adicionar al líquido de perfusión berberastina (2 mg/mL), o nifedipina (1 nM). Estos valores se representan más claramente en la **Gráfica 6**. Observe que la berberastina no modifica la curva concentración respuesta de KCl mientras que, la nifedipina la bloquea casi completamente.

Tabla XXIII. Estadística descriptiva de los efectos producidos por concentraciones crecientes de NA sobre el lecho mesentérico, en ausencia y presencia de berberastina (2 mg/mL) o de nifedipina (1 μ M) adicionadas al líquido de perfusión.

Parámetros	Concentración (mg/mL)				
	50	75	111	164	250
KCl	8,167 \pm 1,778	21,16 \pm 3,772	33,5 \pm 4,773	45,16 \pm 3,962	57,33 \pm 2,963
Berberastina (2 mg/mL) + KCl	6,666 \pm 3,826	17 \pm 1,788	27,66 \pm 1,406	37,83 \pm 0,909	49,33 \pm 0,714
Nifedipina [1 μ M] + KCl	4,833 \pm 1,138	6,667 \pm 0,882	9,167 \pm 1,447	10 \pm 1,592	13,66 \pm 2,728

Los valores se expresan como el Promedio en mm Hg \pm EE, n=6.

El análisis estadístico mediante la prueba *t* pareada para los resultados obtenidos con la administración de concentraciones crecientes de NA, antes y durante la perfusión de berberastina (2 mg/mL) fue respectivamente de $t_{\text{calc}} = 0,319; 1,005; 1,252; 1,886$ y $2,449$ para cada una de las concentraciones, con un valor crítico de $2,571$, y respectivamente un valor de $p = 0,761; 0,360; 0,265; 0,117$ $0,057$. La adición de berberastina no modificó la respuesta en cada una de las concentraciones de KCl.



Gráfica 6 Curvas concentración-respuesta de KCl obtenidas antes (▲) y después de la perfusión del lecho mesentérico con berberastina (2 mg/mL) (●) o con nifedipina (1 μ M) (■). Cada símbolo representa la presión en mm Hg como el valor promedio \pm EE (I), n=6.

8. DISCUSIÓN

Estudios previos mostraron que un EMeOH de *A. mexicana* incrementó y disminuyó significativamente la tensión de los anillos de aorta de rata relajados o contraídos con NA.⁷⁴ Estos hechos hicieron pensar que en dicho extracto, había más de un principio activo con funciones antagónicas, lo cual es coherente con numerosas publicaciones que informan sobre plantas que contienen sustancias con efectos diametralmente opuestos sobre los sistemas de prueba. Por ejemplo, la *Casimiroa edulis* utilizada por la población mexicana para el tratamiento de la HAS, contiene un compuesto identificado como acetónico de sinefrina con efecto hipertensor, y compuestos análogos de histamina con efectos hipotensores.¹¹¹ Otro ejemplo es la *Hydrastis canadensis* que contiene grandes cantidades de una sustancia vasoconstrictora, hemostática e hipertensiva llamada hidrastina, y otra sustancia con propiedades hipotensoras llamada berberina.¹¹² Es altamente probable encontrar en las plantas medicinales más de un principio activo con acciones antagónicas. Sin embargo, analizar los efectos de los compuestos de manera independiente, es diferente al análisis de los extractos completos. En el segundo caso, el efecto que predomine dependerá de la concentración, potencia y eficacia de cada una de las sustancias activas, así como también del modelo experimental en donde se ensaye. En nuestro caso, fue posible observar incrementos y decrementos de la PA ya que el lecho mesentérico, en condiciones basales, facilitó la observación de actividad vasoconstrictora del EMeOH, y con la presencia de NA o KCl, la observación de acciones vasorelajantes. Ambas condiciones experimentales, permitieron el seguimiento fitoquímico del EMeOH completo, hasta mostrar las evidencias que sustentan que dicho extracto contiene más de un principio vasoactivo.

La presente investigación muestra que el EMeOH obtenido de la parte aérea de *A. mexicana* incrementa la PA del lecho mesentérico en condiciones basales (**Registro 1**) Este incremento es notoriamente mayor cuando se compara con el efecto máximo previamente alcanzado por KCl, que cuando se compara con el efecto máximo previamente alcanzado por NA (**Gráfica 1**). Esto podría deberse a una acción más intensa de los componentes del EMeOH sobre los canales de Ca^{++} , que sobre los

receptores α_1 adrenérgicos, ya que se sabe que la contracción del músculo liso vascular producida por KCl, se debe al incremento de la entrada de Ca^{++} .¹¹⁴

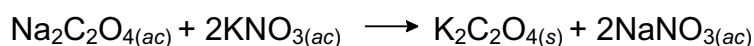
El incremento de la PA basal (25-35 mm Hg) del lecho mesentérico producido por el EMeOH, es un hallazgo interesante porque no es común encontrar en la base de datos MEDLINE, plantas medicinales que se reporten solo por sus acciones vasoconstrictoras en el lecho mesentérico, lo cual contrasta con numerosos informes sobre plantas que producen vasodilatación en el mismo modelo experimental.^{114, 115, 116} La carencia de información sobre plantas con efecto vasoconstrictor, podría deberse al poco interés que se tiene sobre sustancias que incrementan la contracción vascular, y a la gran importancia que representan las sustancias vasodilatadores para el tratamiento de la HAS.

El mismo EMeOH cuando se adicionó al líquido de perfusión (2 mg/mL) del lecho mesentérico, bloqueó significativamente el efecto de la última concentración de NA empleada para realizar la curva concentración respuesta (**Gráfica 2**), lo cual podría indicar que dicho extracto, contiene sustancias que relajan directamente la musculatura vascular del lecho mesentérico, posiblemente por un mecanismo de acción que modifica las acciones vasoconstrictoras de la NA. En contraste, las acciones vasoconstrictoras del KCl no fueron modificadas cuando se adiciono al líquido de perfusión el EMeOH (**Gráfica 3** y **Registro 3**) lo cual puede implicar que el o los componente vasodilatadores del EMeOH, no actúan directamente sobre el canal de Ca^{++} , ya que se conoce que la contracción del músculo liso vascular producida por altas concentraciones de KCl, es debida a una acción directa de K^+ sobre la apertura de estos canales, que al incrementar el Ca^{++} intracelular, conduce a la fosforilación de las cadenas ligeras de miosina permitiendo el deslizamiento de actina y miosina, y en consecuencia la contracción muscular.¹¹³ Es importante mencionar que con estos experimentos, no se puede descartar que la sustancia vasoconstrictora presente en el EMeOH, enmascare una posible modificación del incremento de la PA producido por KCl.

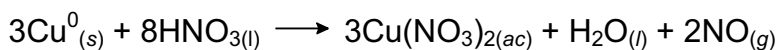
Por otra parte, la sensibilidad del lecho mesentérico a sustancias que bloquean los canales de Ca^{++} se comprobó al adicionar al líquido de perfusión nifedipina (1 nM). Esta sustancia bloqueó hasta un 74% la respuesta máxima de incremento de PA producida por KCl (**Gráfica 3**) indicando que la preparación era lo suficientemente sensible para mostrar cambios.

La sensibilidad del receptor α_1 adrenérgico del lecho mesentérico se comprobó al realizar las curvas concentración respuesta con NA en presencia de prazosina (1 μM) (antagonista de los receptores α_1)¹¹³ Esta sustancia como era de esperarse, bloqueó completamente la respuesta del lecho mesenterio a la NA, lo cual contrasta con el bloqueo parcial observado en la curva concentración respuesta con NA en presencia de EM (**Gráfica 2**). Este hecho señala que el EMeOH o necesita una concentración mayor para bloquear completamente la acción de NA, o posee más de un compuesto activo con mecanismos de acción diferentes, o la presencia del componente contráctil se esta sumando a la contracción producida por NA. Esta última hipótesis es altamente probable, porque en la presente investigación se demostró que el EMeOH obtenido de *A. mexicana* contiene al menos una sustancia que incrementa la PA del lecho mesentérico y en consecuencia, se opone al efecto relajante que también esta presente.

Después de fraccionar el EMeOH por extracción líquido-líquido (**Tabla XIII**), el EA conservo el componente vasoconstrictor (**Registro 6**) y el ED el componente vasorelajante (**Registro 9**). El EAE no presento actividad (**Registro 4** y **Registro 7**). La cromatografía por columna permitió aislar del EA, un solo componente que incrementó la PA del lecho mesentérico, el cual fue identificado como KNO_3 por reacciones químicas positivas a potasio y a nitrato, por IR y por Absorción atómica. Para identificar potasio se agrego oxalato de sodio a la sustancia aislada (KNO_3) en solución acuosa, formando un precipitado de oxalato de potasio. Obteniendose la siguiente reacción.



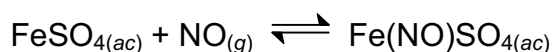
El ion nitrato se identificó por dos reacciones, en la primera la solución presenta una coloración verdosa debida a la oxidación de Cu metálico y formación de óxido nítrico (NO) de color rojo-café, se tiene la siguiente reacción:



En la segunda reacción el ion nitrato oxida el FeSO_4 a $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ formando NO, que se combina con el exceso de FeSO_4 , dando un compuesto nitrosilico en la zona de contacto de color marrón $\text{Fe}(\text{NO})\text{SO}_4$. Primero se obtiene la reacción:



y luego:



En el compuesto $\text{Fe}(\text{NO})\text{SO}_4$ el Fe tiene formalmente un número de oxidación +1. El espectro de IR (**Espectro 2**) muestra una ν_{max} 1380,5 y 828 cm^{-1} las cuales al ser comparadas con un espectro de referencia (**Espectro 3**), son las mismas bandas características del ion NO_3^- . Por absorción atómica (**Espectro 4**) se corroboró el ion K^+ en la muestra purificada vasoconstrictora. Sin embargo, la concentración informada (24,09 %) difiere de la concentración teórica esperada (38,67 %). Una posible explicación de esta diferencia es que se haya realizado una mala técnica de análisis o bien, a la falta de pureza de la muestra enviada. Esta hipótesis es apoyada por el hecho de que el punto de fusión del KNO_3 aislado de *A. mexicana* fue de 342-345°C, y el de descomposición 405°C, mientras que el reportado en la literatura es de 333°C y 400°C, respectivamente.¹¹⁷ La presencia de esta sal en el EMeOH puede explicarse por la gran cantidad de metanol (J.T.Baker) utilizado, y por el agua que contiene dicho disolvente. Ambas condiciones durante la maceración y el fraccionamiento, solubilizaron el KNO_3 que por su intensa acción vasoconstrictora sobre el lecho mesentérico, permitió el seguimiento fitoquímico hasta su aislamiento e identificación.

La presencia de esta sal inorgánica en *A. mexicana* ya ha sido reportada.⁶⁷ Por lo general las especies vegetales poseen nitratos como consecuencia del proceso metabólico de asimilación de nitrógeno presente en suelos. Algunas especies por diferentes circunstancias, lo acumulan en demasía (*Salsola kali*: cardo ruso), y otras

como el Centeno, lo acumulan de acuerdo a la fertilidad del suelo, a la disponibilidad de agua y a la radiación solar.¹¹⁸ La presencia de KNO_3 en las plantas les confiere el calificativo de plantas tóxicas temporarias, y en tiempos nublados son más tóxicas porque los niveles de nitratos se incrementan.¹¹⁹ Es importante señalar que la cantidad máxima utilizada de KNO_3 para producir hipertensión en el lecho mesenterio fue de 40 mg/mL, cantidad que esta notoriamente distante a la dosis letal 50 (DL_{50}) de 3,750 g/kg reportada en ratas por vía oral.¹²⁰ Sin embargo, no se puede establecer una correlación entre dos modelos experimentales completamente diferentes, como tampoco se puede inferir que la administración de KNO_3 a la rata integra incrementa la PAS. En teoría el KNO_3 se metabolizaría liberando el ion potasio, y el nitrato a su vez se convertiría en nitrito.¹¹⁹ Estos dos iones pudieran producir acciones antagónicas sobre la PA. Por un lado, el ion potasio incrementaría la entrada de Ca^{++} a las células musculares de las arteriolas elevando la resistencia periférica, y por el otro lado, el ion nitrato se reduce a nitrito funcionando como donador de NO. Se conoce que este gas estimula a la Guanilato Ciclasa la cual convierte Guanosin Trifosfato (GTP) a Guanosin Monofosfato (GMPc) que como segundo mensajero, estimula a una cinasa dependiente de cadenas ligeras de miosina que conduce a la relajación de músculo liso vascular.¹²¹ En la presente investigación no se estudio la farmacodinamia del KNO_3 (**Gráfica 4**) pero su efecto hipertensor en el lecho mesentérico, es de similar intensidad al producido por el EMeOH (**Gráfica 1**) que requiere una mayor concentración. Estos resultados concuerdan con las acciones vasoconstrictoras conferidas al ion K^+ , y explican el importante incremento de la PA observada en dicho lecho.

No existe duda que la presencia de KNO_3 , pondría en tela de juicio el uso de la planta completa como agente antihipertensivo, como es informado para la medicina tradicional de la India. Aun más, incrementa el riesgo de toxicidad que puede ser mortal debido a que el ion NO_3^- es capaz de unirse a la hemoglobina de la sangre, de una forma semejante a como lo hace a la mioglobina, formándose metahemoglobina, un compuesto que ya no es capaz de transportar el oxígeno. Otro riesgo es la formación de nitrosaminas, sustancias que son agentes cancerígenos y que se forman al preparar la

infusión con *A. mexicana* debido a la unión de nitratos o nitritos con las aminas presentes de forma natural.¹¹⁹

Dentro de un contexto muy amplio, y buscando correlacionar el efecto del KNO_3 del EMeOH con los usos etnomedicinales ya señalados, se le podría conferir a la *A. mexicana* alguna utilidad en el tratamiento de la hipersensibilidad que afecta la pulpa dentaria. Esta inferencia de ninguna manera se apoya en estudios científicos, pero tampoco puede subestimarse. La importancia del KNO_3 debe de analizarse dentro del contexto completo de la planta, particularmente su efecto vasoconstrictor encontrado en lecho mesentérico, el cual podría no repercutir en la PA del humano, debido a que este componente se ingiere con otros que también están presentes en el EMeOH, y que poseen acciones en teoría antagónicas.

En otra serie de experimentos, el fraccionamiento por columna cromatográfica del ED permitió el aislamiento de un componente con acción vasorelajante. Mediante Dragendorff, Mayer, IR, RMN de ^1H y de ^{13}C , y EM, este componente fue identificado como el alcaloide berberastina. El análisis del espectro de RMN de ^1H permitió proponer como estructura base del compuesto aislado, el núcleo de las protoberberinas (**Espectro 6**). Los 2 protones del grupo funcional dioxi ($-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$) en H-14 con asignación en 6,16 ppm y los 6 protones de los dos grupos metoxi ($-\text{O}-\text{CH}_3$)₂ en H-16 y H-17 con asignación en 4,06 y 4,08 ppm, respectivamente, son señales simples características de esta estructura. En las regiones de los protones aromáticos se observan 2 señales simples en 7,78 y 7,08 ppm, para los H-1 y H-4 que se encuentran en posición para. También se observan 2 señales dobles en 7,98 y 8,19 ppm con $J=9$ Hz, indicando que hay acoplamiento en posición orto en el H-11 y H-12 respectivamente. La presencia del H-8 y H-13 se observó por 2 señales simples en 8,92 y 9,88 ppm, respectivamente. El protón en H-15 perteneciente al grupo hidroxilo ($-\text{OH}$) presentó una asignación en 6 ppm. El espectro de IR confirmó la presencia del $-\text{OH}$ en la banda de absorción a $3388,43\text{ cm}^{-1}$ (**Espectro 5**).

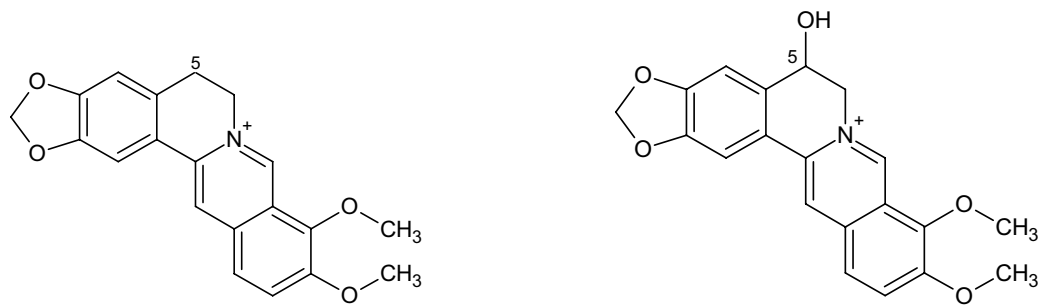
La RMN ^{13}C indica la presencia de 20 C que equivalen a la cantidad de carbonos que contiene la berberastina. El C del grupo funcional dioxi en C-14 con asignación en 101,89 y de los 2C de los dos grupos metoxi en C-16 y C-17 con asignación en 61,92 y 57,04, respectivamente (**Espectro 7**).

La formula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}^+\text{O}_5$ (Teórico: 352,36 g/mol) fue deducida por el EM (IE, 70 eV) (**Espectro 8**), el cual muestra un ion molecular m/z en 353 [$\text{M}^+ + \text{H}$] (6,75) se observa la presencia de un fragmento m/z 337 (3,75) que indica la perdida de $[\text{CH}_3]$, m/z 164 (58,12) con perdida de $[\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{NO}_2]^+$, m/z 148 (100) con perdida de $[\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{NO}_2]^+$.

La disminución de la PA del lecho mesentérico (**Registro 11**), indica que la berberastina tiene un significativo efecto vasodilatador que se produce a concentraciones de 2 mg/mL, el cual es suficiente para desviar hacia la derecha la curva concentración respuesta a NA (**Gráfica 5**). Con base a la información encontrada en la literatura, es la primera vez que se muestra la presencia de berberastina en *A. mexicana*. Este inesperado hallazgo se aleja de lo que podría esperarse de una planta cuyo compuestos en su mayoría han sido identificados. Llama la atención que en nuestro fraccionamiento biodirigido, no se encontraron otras sustancias que han sido reportadas como hipotensoras (berberina, canadalina, protopina). Se sabe que la planta completa de *A. mexicana* también tiene un alto contenido de protopina (0,3%) alocriptopina (0,04%).⁵⁷ Sin embargo, ninguna de estas sustancias se encontró dentro de la fracción final activa, incluyendo berberina que por sus acciones hipotensores y vasorelajantes,¹²² podría ser el compuesto activo del EMeOH. Una posible explicación es el relativamente bajo rendimiento de berberina (0,01%), comparado con berberastina (0,05%), o que la variedad de *A. mexicana* que se estudio sea diferente a la reportada en la literatura. En relación a esto, la jefa del herbario del IMSS nos comunico verbalmente que la *A. mexicana* del presente estudio es variedad *ocroleuca*. Otra posible explicación es que a pesar que berberastina y berberina parten del mismo precursor dopamina, la vía metabólica hacia berberastina es predominante o bien, la presencia en el C-5 del grupo (-OH) en la berberastina incrementa su solubilidad en un medio acuoso, y en

consecuencia, su disponibilidad a los sitios de acción que contiene el lecho mesentérico es mayor. Desafortunadamente, carecemos de elementos experimentales para establecer el porque de la presencia de berberastina, y la ausencia de berberina en la fracción vasorelajante activa.

La berberina y la berberastina como se observa en la **Figura 10** difieren por la presencia de un grupo hidroxilo. Ambas sustancias son alcaloides clasificados como protoberberinas las cuales se encuentran distribuidas en muchas plantas de las familias: *Papaveraceae*, *Berberidaceae*, *Fumariaceae*, *Menispermaceae*, *Ranunculaceae*, *Rutaceae*, *Annonaceae*, *Magnoliaceae* y *Convolvulaceae*,¹²³ las cuales se encuentran como tetrahidroprotoberberinas o como sales cuaternarias de protoberberinas.



Berberina

Berberastina

Figura 10. Estructuras químicas de berberina y berberastina

La berberastina ha sido reportada como uno de los principales componentes (2-3 %) de *Hydrastis canadensis*, una planta perteneciente a la familia *Ranunculaceae* llamada comúnmente sello dorado (goldenseal).¹²⁴ Esta planta se encuentra como ingrediente de algunos suplementos herbales con aplicación over the counter (OTC), productos de venta libre, que saturan los mercados de los Estados Unidos con ventas de hasta 40 billones de dólares anuales,¹²⁵ promoviendo diversos usos para limpieza femenina, resfriados o catarras, alergia, y trastornos digestivos. No obstante que existen evidencias científicas sobre efectos hiperlipidémicos,¹²⁶ antimicrobianos,¹²⁷ antidiarreicos, antiparasitarios e infecciones oculares por tracoma,¹²⁸ no hay informes en la literatura científica que *H. canadensis* modifique la PA. Sin embargo, por su alto contenido de protoberberinas teóricamente se esperaría efecto antihipertensivo.

Tampoco hay evidencias en la literatura para la berberastina, ya que diferentes bases de datos, incluyendo MEDLINE, no muestra artículos de actividad biológica alguna. Por tal motivo, estos resultados parecen ser los primeros que informan sobre la actividad vasodilatadora de este compuesto.

Como se muestra en la **Gráfica 5**, la pendiente de la curva concentración respuesta con NA, fue notoriamente disminuida al adicionar 2 mg/mL de berberastina aislada del ED al líquido de perfusión. Todas las respuestas a concentraciones crecientes de NA fueron bloqueadas con berberastina. Esto contrasta con el bloqueo parcial observado en la curva concentración respuesta de NA al adicionar 2 mg/mL de EMeOH al líquido de perfusión, lo cual es entendible debido a que se emplea el componente vasorelajante puro a una dosis mayor. La intensa actividad de berberastina mostrada en el lecho mesentérico, produce un patrón de respuesta inhibitoria semejante a la producida por prazosina (**Gráfica 5**), lo cual no significa que comparta el mismo mecanismo de acción, pero indica la gran eficacia que tiene berberastina en este lecho vascular. Con nuestros resultados no se puede explicar como la berberastina bloquea la curva concentración respuesta con NA. Sin embargo, se sabe que esta catecolamina produce un efecto vasoconstrictor mediado por la estimulación de los receptores α_1 adrenérgicos localizados en la membrana celular del músculo liso. Estos receptores se encuentran acoplados a proteína Gq que al ser estimulada separa su subunidad α que a la vez estimula a la fosfolipasa C, enzima que cataliza la formación de trifosfato de inositol (IP₃) y diacil glicerol (DAG) a partir de difosfato de inositol (IP₂). Después de originarse esta cascada de transducción, se produce una fase rápida de contracción debida a la salida de Ca⁺⁺ del retículo sarcoplásmico, al estimularse los canales de dicho ion por el segundo mensajero IP₃. El incremento de Ca⁺⁺ intracelular, junto a las acciones del DAG, producen una segunda fase lenta debida a la entrada de calcio extracelular que incrementa la intensidad y la duración de la contracción.¹¹³ La berberastina, podría modificar algún sitio de esta cascada de transducción sin interferir directamente con los canales Ca⁺⁺, ya que se comprobó que en presencia berberastina en el líquido de perfusión no se modificó la curva con KCl (**Gráfica 6**), fenómeno igualmente observado en presencia del EMeOH completo (**Gráfica 3**). En adición a esta carencia de efecto,

estudios realizados con berberina muestran que esta sustancia al igual que la berberastina, produce efecto vasorelajante de la arteria mesentérica aislada de rata, sin interferir con la entrada de Ca^{++} al músculo liso vascular.¹²⁹ Desafortunadamente, tampoco se determinó si la berberina relaja la arteria mesentérica, al inhibir la vasoconstricción inducida por la activación de la fosfolipasa C y la formación de IP_3 , mecanismo que como antes se mencionó, puede ser inducido por la estimulación de los receptores α_1 presentes en músculo liso vascular.

La presente tesis aporta nuevo conocimiento sustancial sobre los efectos vasculares producidos por un EMeOH de una planta con reconocidos usos etnomedicinales. Permite caracterizar la actividad vascular del EMeOH y de los principios activos, en el lecho mesentérico de rata. Logra aislar e identificar los compuestos vasoactivos responsables de los efectos producidos por el EMeOH completo en el lecho mesentérico. Y por último, permite correlacionar el efecto vasorelajante de berberastina, con el efecto hipotensor producido en la rata integra por un EMeOH aislado de *A. mexicana*.

9. CONCLUSIONES

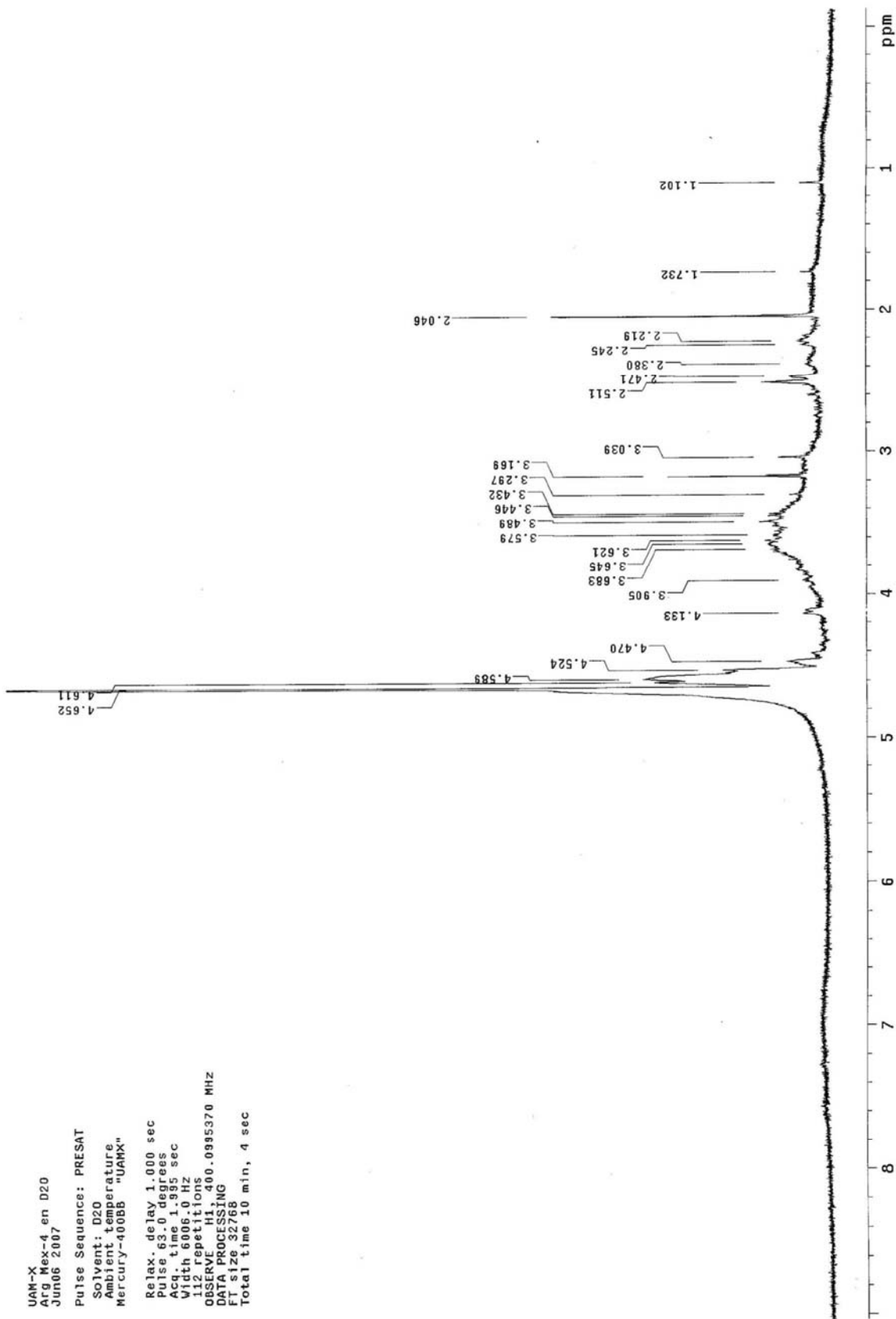
- El EMeOH obtenido de *A. mexicana*, incrementa la PA basal del lecho mesentérico aislado de rata, y disminuye la pendiente de la curva concentración respuesta con NA, pero no así la pendiente de la curva con KCl.
- Las preparaciones del lecho mesentérico son sensibles y confiables, ya que responden como se informa en la literatura, a sustancias empleadas como referencia (prazosina y nifedipina).
- El fraccionamiento biodirigido del EMeOH, condujo al aislamiento de dos principios activos con acciones antagónicas en el lecho mesentérico.
- Los estudios de IR, Espectroscopia de absorción atómica para ion K^+ , y las reacciones para determinación de iones K^+ y NO_3^- , establecieron que la sustancia que incrementa la PA del lecho mesentérico es KNO_3 .
- El KNO_3 es el responsable del incremento de la PA producida por el EMeOH de *A. mexicana*, en el lecho mesentérico.
- El KNO_3 incrementa la PA en el lecho mesentérico al favorecer el flujo de Ca^{++} extracelular hacia el compartimiento intracelular.
- Las reacciones de Dragendorff y Mayer, los espectros de IR, RMN de 1H y de ^{13}C , y EM establecieron que la sustancia que disminuye la PA del lecho mesentérico es berberastina.
- La berberastina es la responsable de la disminución de la PA producida por el EMeOH de *A. mexicana*, en el lecho mesentérico.
- La berberastina disminuye la PA del lecho mesentérico, por un mecanismo de acción que parece no incluir el incremento de flujo de calcio extracelular hacia el compartimiento intracelular.

- El efecto hipotensor observado en lecho mesentérico, correlaciona con lo reportado en anillos de aorta aislados de rata, y con el efecto hipotensor observado en la rata integra.
- La *A. mexicana* contiene sustancias que pudieran actuar en forma antagónica, sobre la HAS, lo cual cuestiona el uso de las infusiones de té utilizados en la medicina tradicional hindú para el tratamiento de la HAS.
- La presencia de altas concentraciones de KNO_3 en *A. mexicana*, incrementa el riesgo de toxicidad en personas que consumen esta planta como remedio medicinal.

10. PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES

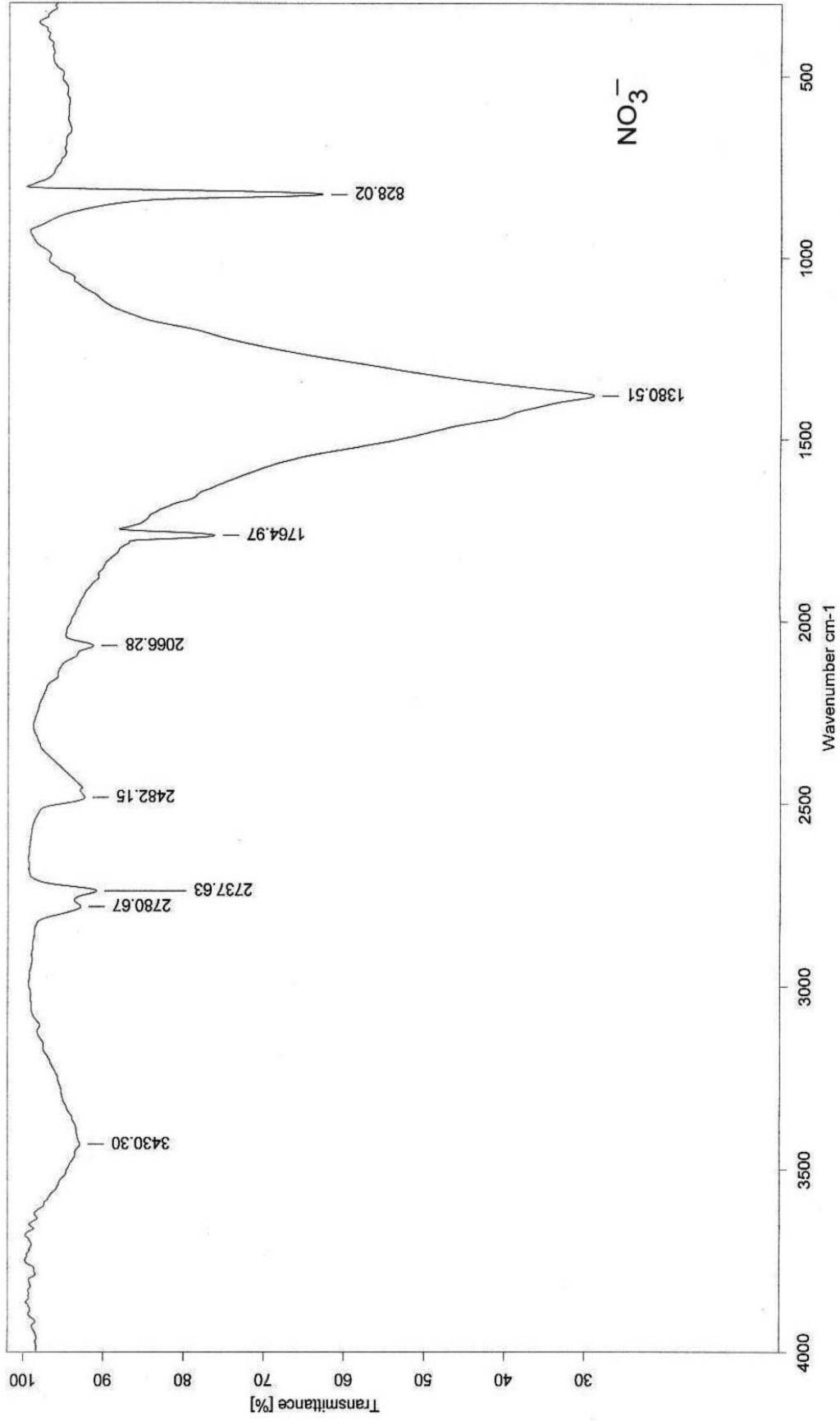
- ∞ Investigar cuantas variedades de *A. mexicana* existen en la República Mexicana, y determinar su contenido de berberastina y KNO_3 en cada una de ellas.
- ∞ Investigar que tipo de variedad de *A. mexicana* crece en el lugar en el cual se realizó la recolección de dicha planta.
- ∞ Realizar un método adecuado para la obtención y/o determinación de KNO_3 a partir de la planta completa de *A. mexicana*.
- ∞ Determinar el contenido de berberastina y KNO_3 en las diferentes partes de la planta.
- ∞ Realizar el estudio pertinente para determinar la toxicidad de la berberastina.
- ∞ Realizar estudios para determinar el mecanismo de acción por el cual la berberastina produce disminución de la PA, y compararlo con lo informado para berbenina.
- ∞ Investigar la acción vasorelajante de berberastina en diferentes lechos vasculares.

11. ESPECTROS

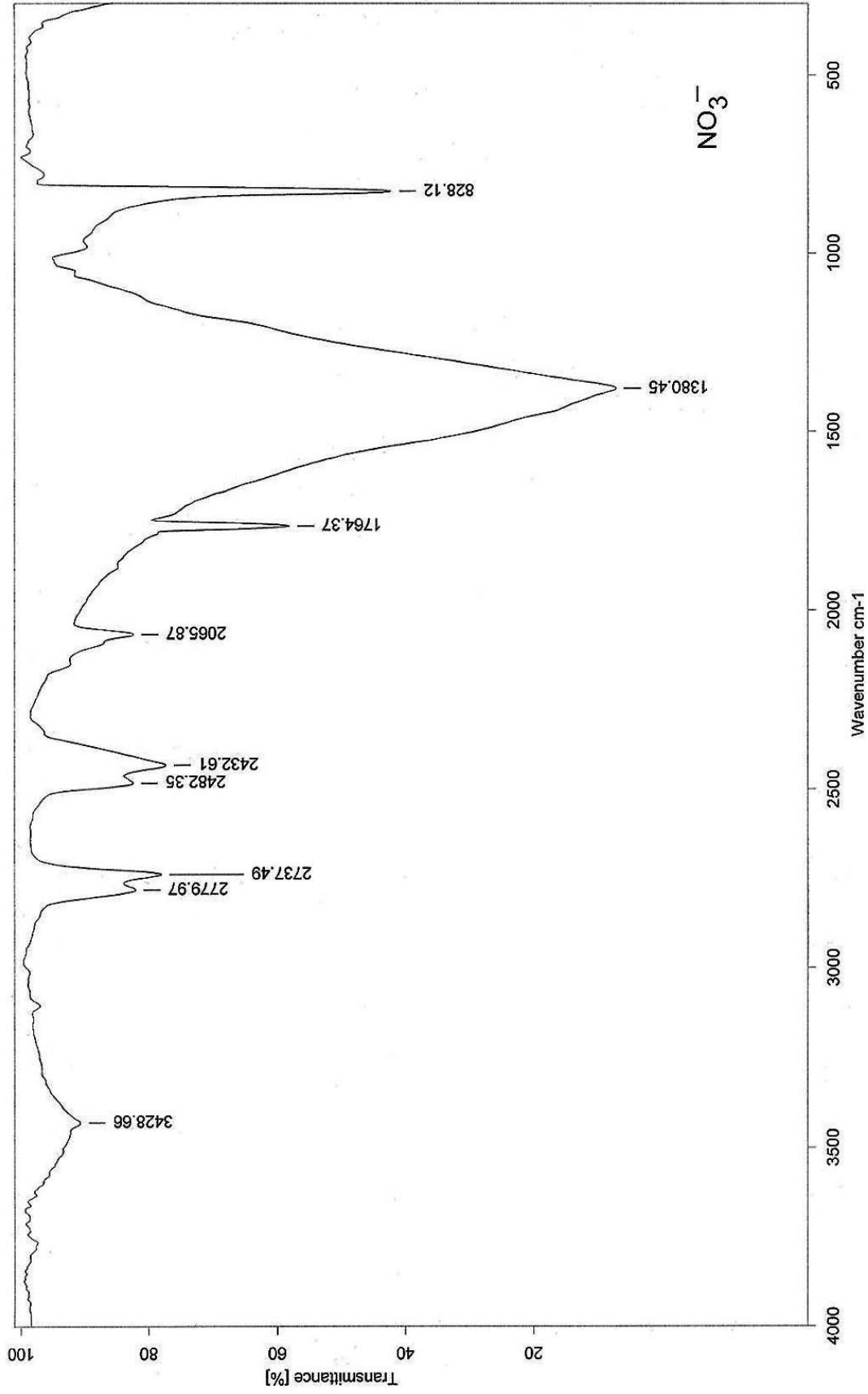


UAM-X
Ara Mex-4 en D2O
Jun06 2007
Pulse Sequence: PRESAT
Solvent: D2O
Ambient temperature
Mercury-400BB "QARIK"
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 63.0 degrees
Acq. time 1.995 sec
Width 6000.0 Hz
112 repetitions
OBSERVED F1 F2 400.0995370 MHz
DATA PROCESSING
F1 SIZE 32768
Total time 10 min, 4 sec

Espectro 1. Espectro de RMN ^1H (D_2O , 400 MHz) de la fracción de *A. mexicana* que aumenta la PA en el lecho mesenterico.



Espectro 2. Espectro en el IR (KBr) de KNO₃ presente en *A. mexicana*.
(Obtenido: NO₃⁻ ν_{max} : 1380,51; 828,02 cm⁻¹. Reportado ¹³⁰: NO₃⁻ ν_{max} : 1380~1350, 840~815 cm⁻¹)



Espectro 3. Espectro en el IR (KBr) de KNO_3 referencia.

(Obtenido: NO_3^- ν_{max} : 1380,45; 828,12 cm^{-1} . Reportado ^{130}O : NO_3^- ν_{max} : 1380~1350, 840~815 cm^{-1}).



INFORME DE RESULTADOS

Clave análisis: 29-250547-AT

Dr. Gil Alfonso Magos Guerrero
Facultad de Medicina, UNAM
P R E S E N T E

➤ **Objetivo del análisis:**

Cuantificar Potasio en un par de muestras cristalinas de "Argemone mexicana".

➤ **Identificación y descripción de las muestras**

Las muestras se encuentran envasadas en frascos viales de plástico transparente. Etiquetadas como sigue:

Clave muestras
M2 Argemone mexicana cristales

➤ **Parámetros de la prueba**

Parámetros instrumentales:

Potasio	
Longitud de onda (nm)	766.5 nm
Slit (ancho de ventana) (nm)	1.0 m
Método	Curva de calibración
Método atomización	Flama aire/acetileno
Supresor de ionización	CsCl

Equipo empleado Varian SpectrAA 220.

La muestra se digirió en horno de microondas marca CEM, modelo MDS. Para tal propósito se emplea HNO (ácido nítrico).

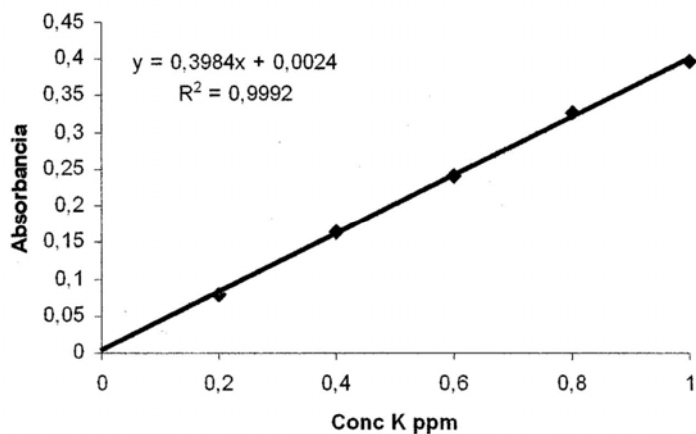
➤ **Resultados**

Muestra	ppm K
M2 argemone mexicana cristales	240933.821

NOTA. Se anexan: curva de calibración obtenida durante el análisis, lecturas obtenidas y los cálculos necesarios para llegar a la concentración reportada.

Potasio

Conc. ppm	Abs
0,2	0,079
0,4	0,1647
0,6	0,241
0,8	0,3253
1	0,3971

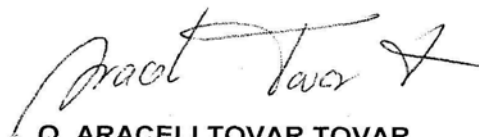


Labels	Abs	mg/L	promedios	muestra-blancos	Multiplico por factor de dilución= 200	Multiplicar *0.010= mg	Peso de la muestra (mg)	% K en la muestra	ppm K	Promedio ppm K
sc	0.1562	0.386								
blanco	-0.0042	0.017								
blanco	-0.0058									
blanco	0.0105									
M2_1	0.1033	0.253								
M2_1	0.0916	0.224								
M2_1	0.0946	0.231	0.236	0.236	47.239	0.472	3	15.7463186	157463.186	
M2_2	0.115	0.283								
M2_2	0.1373	0.339								
M2_2	0.1591	0.393	0.338	0.338	67.637	0.676	2.6	26.0143137	260143.137	
M2_3	0.2172	0.539								
M2_3	0.21	0.521								
M2_3	0.2913	0.725	0.595	0.595	119.026	1.190	3.9	30.519514	305195.140	240933.821
sc	0.1748	0.433								

(Continuación).

sc = concentración de chequeo (dada por el fabricante y es característica para cada elemento), en el caso del Potasio esta concentración es de 0.4 ppm. Esta solución se intercala en el análisis, si la concentración obtenida es de $\pm 10\%$ el análisis continua, en caso contrario se procede a la recalibración del equipo.

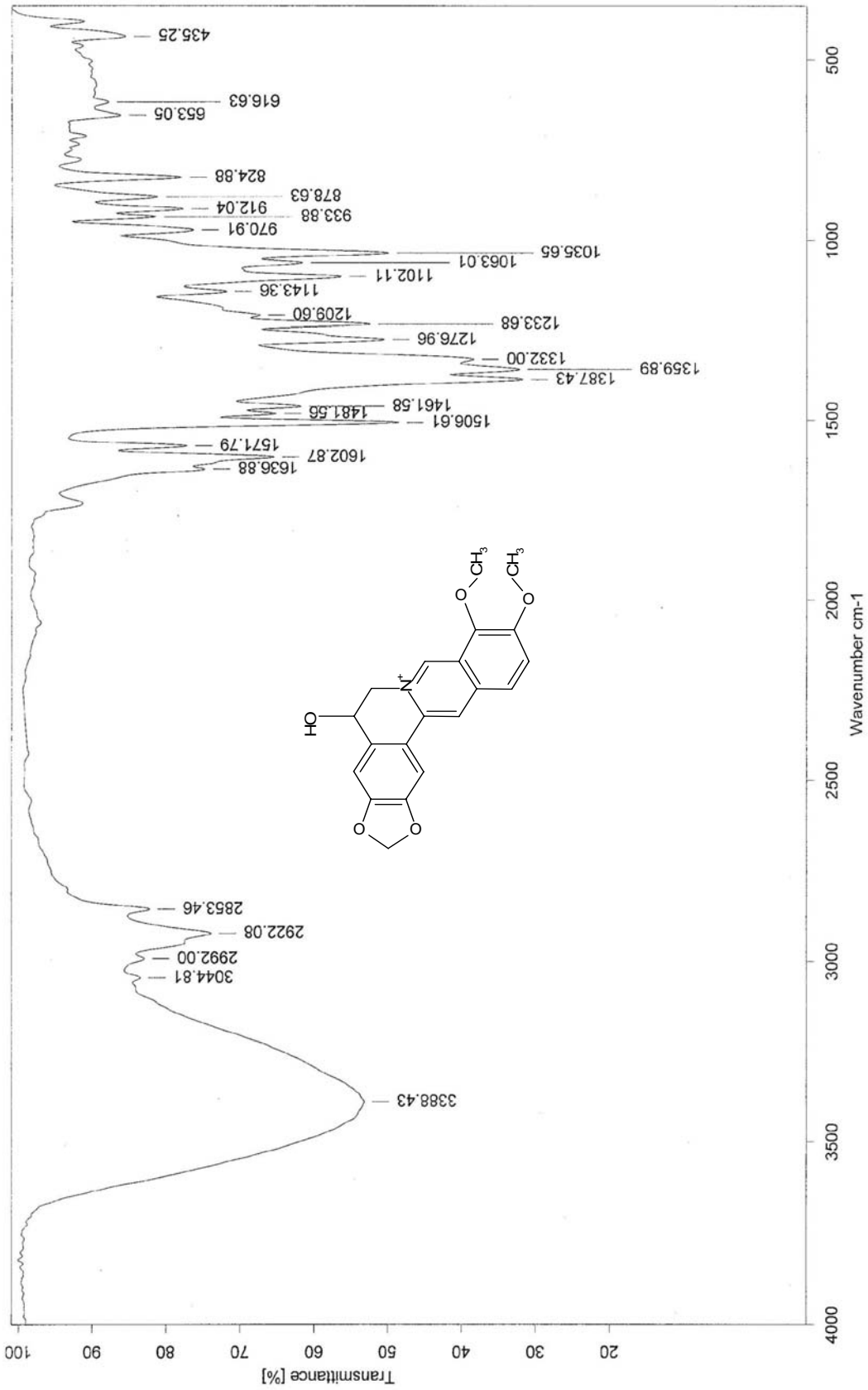
Ciudad Universitaria, México D.F., a 03 de agosto, 2007



Q. ARACELI TOVAR TOVAR.
Responsable del Laboratorio
de Absorción Atómica

NOTA: Los resultados analíticos generados en la USAI tienen tan solo el alcance de la muestra entregada en nuestras instalaciones, no asumimos responsabilidad alguna por el origen de la misma.

(Continuación).

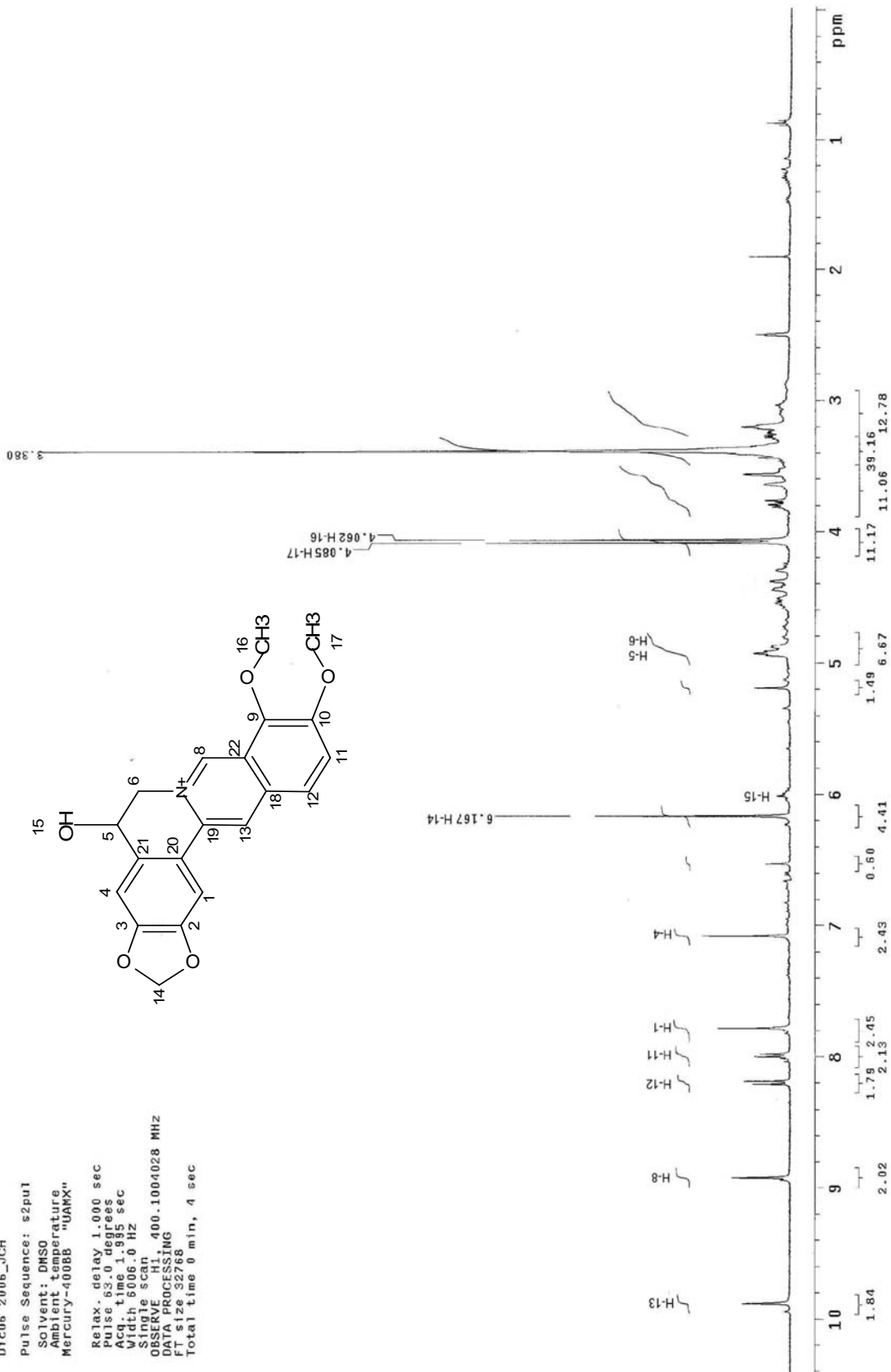


Espectro 5. Espectro en el IR (KBr) de Berberastina
 (Obtenido: -OH ν_{\max} : 3388, 43 cm⁻¹; C-N⁺ ν_{\max} : 1602,87-1636,88 cm⁻¹. Reportado ¹⁰: -OH ν_{\max} : 3240 cm⁻¹; C=N⁺ ν_{\max} : 1660-1620 cm⁻¹)

UAM-X
M3 Ac Mexi
Dic06_2006_UCH

Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: DMSO
Acq temperature
Mercury-400BB "UAMX"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse seq 0
Acq time 1.995 sec
Width 6006.0 Hz
Single scan
OBSERVE H1, 400.1004028 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min, 4 sec

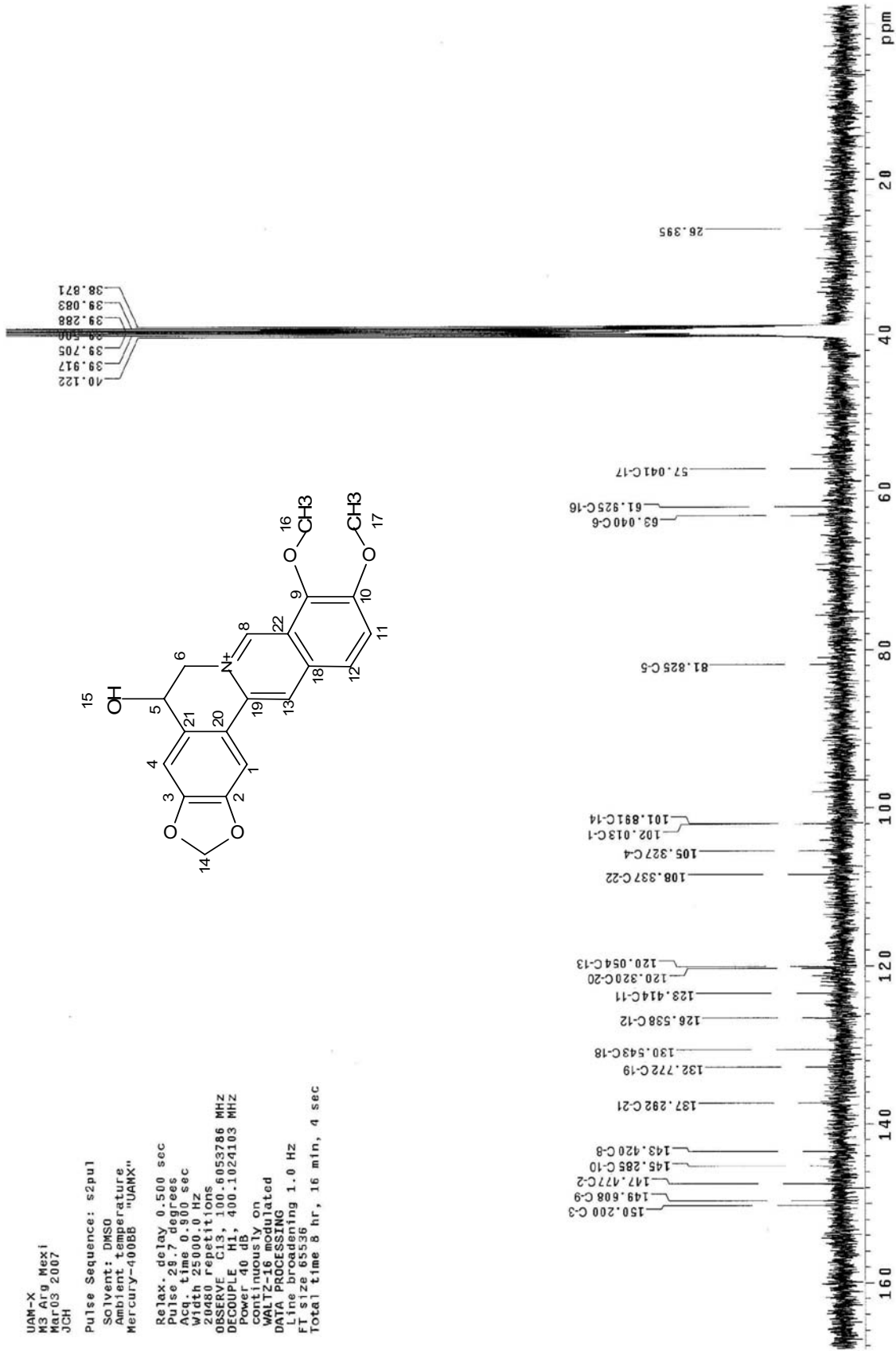


Espectro 6. Espectro de RMN ¹H (DMSO, 400 MHz) de Berberastina

UAM-X
MS Atg Mexi
Nov 05 2007
JCH

Pulse Sequence: s2pul
Solvent: DMSO
Ambient temperature
Mercury-4005B "QAMX"

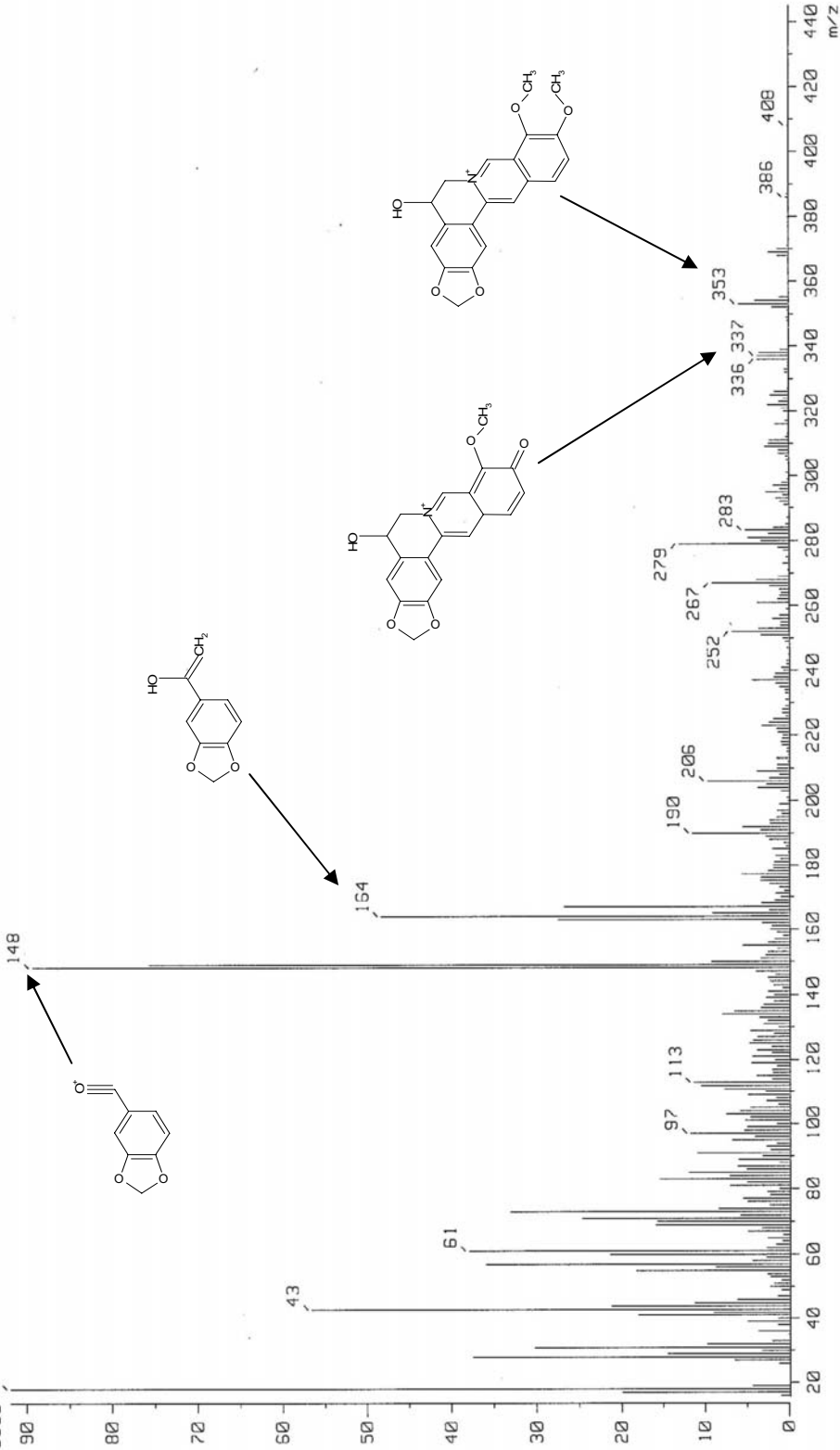
Relax. delay 0.500 sec
Pulse 28.7 degrees
Acq. time 0.900 sec
Width 25000.0 Hz
02480 Repetitions
DECOUPLE H1, 100.6053786 MHz
Power 40 dB, 400.1024103 MHz
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 8 hr, 16 min, 4 sec



Espectro 7. Espectro de RMN ¹³C (DMSO, 100 MHz) de Berberastina

[Mass Spectrum]
 Date : 03-Sep-107 16:50
 Sample: 1666 M217 MF-1 JeolAX505HF
 Note : Javier-Perez
 Inlet : Direct
 Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
 RT : 1.88 min Scan# : (27,59)
 BP : m/z 18.0000 Int. : 266.22
 Output m/z range : 15.4303 to 445.1039
 2758388 ,16

Temp : 218.1 deg.C
 Cut Level : 0.00 %



Espectro 8. Espectro de masas (IE, 70 eV) de Berberastina

12. ANEXOS

A. Descripción detallada de los compuestos informados en la literatura para *A. mexicana*.

1,6,7-Isoquinolinetriol

Derivado: 3,4-Dihidro, eter de metileno, N-Me

Sinónimos: Oxihidrastina, 7,8-Dihidro-6-metil-1,3-dioxolo[4,5-g]isoquinolin-5(6H)-ona, 3,4-Dihidro-2-metil-6,7-metilendioxi-2(1H)-isoquinolinona.

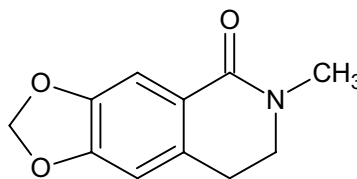
Formula molecular: C₁₁H₁₁NO₃

PM: 205,213 g/mol

Descripción física: Cristales. (éter de petróleo)

Pf: 98°C

Fuente biológica: Alcaloide de *A. mexicana*.



3,7-diglucosidos Isoramnetin

Derivado: 3,7-Di-O--D-Glucopiranosido

Sinónimos: Isoramnetin, 3,7-diglucosido

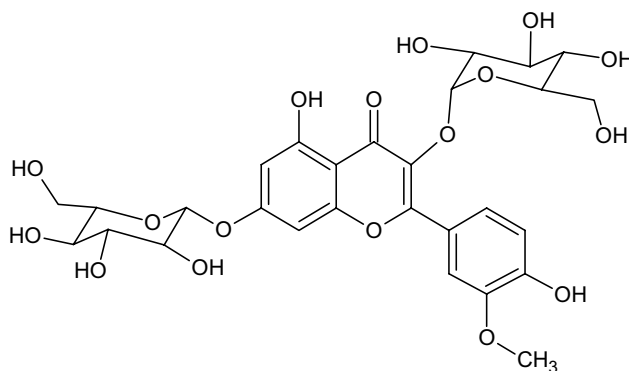
Formula molecular: C₂₈H₃₂O₁₇

PM: 640,551 g/mol

Descripción física: No reportada

Pf: 208-210°C

Fuente biológica: Glucósido presente en la parte aérea de la *A. mexicana*.



6,11-Triacontanediol

Sinónimo: Mexicanol

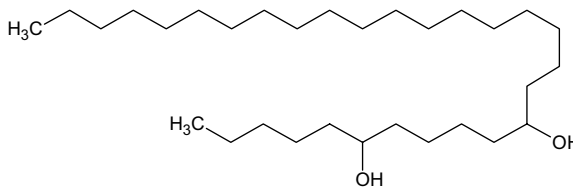
Formula molecular: C₃₀H₆₂O₂

PM: 454,819 g/mol

Descripción física: No reportada

Pf: 116°C

Fuente biológica: Constituyente de *A. mexicana*



3-O-glucopiranosido Isoramnetin

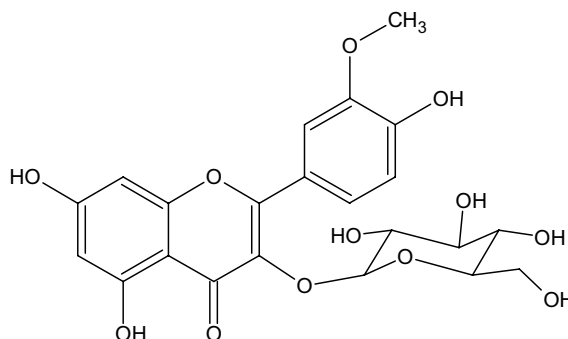
Formula molecular: C₂₂H₂₂O₁₂

PM: 478,349 g/mol

Descripción física: Agujas amarillas (MeOH)

Pf: 278-280°C

Fuente biológica: Glucósido presente en la parte aérea de la *A. mexicana*.



6-Acetonildihidrosanguinarina

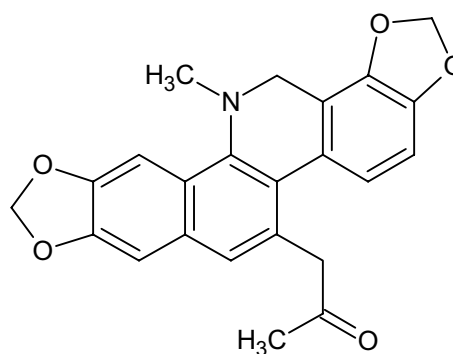
Formula molecular: C₂₃H₁₉NO₅

PM: 389,407 g/mol

Descripción física: No Reportada

Pf: No Reportado

Fuente biológica: Alcaloide presente en la parte aérea de la *A. mexicana*.



8-Acetonildihidrosanguinarina

Variante: Forma-(ξ)

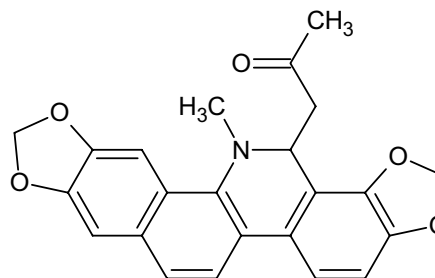
Formula molecular: C₂₃H₁₉NO₅

PM: 389,407 g/mol

Descripción física: Agujas color amarillo palido (MeOH/CHCl₃)

Pf: 194-195,5°C

Fuente biológica: Alcaloide de *A. mexicana*.



11-Triacontanol

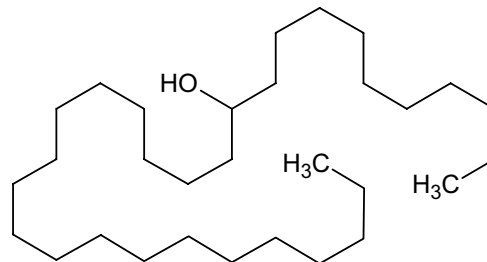
Formula molecular: C₃₀H₆₂O

PM: 438,819 g/mol

Descripción física: No reportado

Pf: 82°C

Fuente biológica: Constituyente de *A. mexicana*.



Ácido 9-oxooctacosanoico

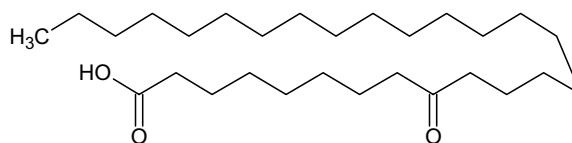
Formula molecular: C₂₈H₅₄O₃

PM: 438,733 g/mol

Descripción física: No reportada

Pf: No reportado

Fuente biológica: Constituyente de las semillas de *A. mexicana*.



Ácido 10-hidroxi-4-heptadecenoico

Variante: Forma-(Z)

Sinónimo: Ácido mexicano

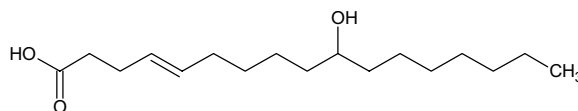
Formula molecular: C₁₇H₃₂O₃

PM: 284,438 g/mol

Descripción física: No reportada

Pf: 43°C

Fuente biológica: Constituyente de las semillas de *A. mexicana*.



Ácido 11-Hidroxitriacontanoico

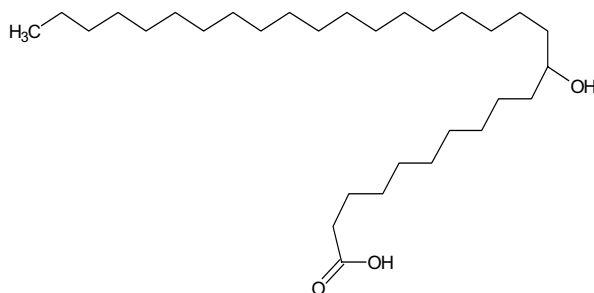
Formula molecular: C₃₀H₆₀O₃

PM: 468,802 g/mol

Descripción física: Ojuelas (MeOH/CHCl₃)

Pf: 110°C

Fuente biológica: Constituyente de las semillas de *A. mexicana*.



Ácido 11-Hidroxitriacontanoico

Derivado: 11-Cetona

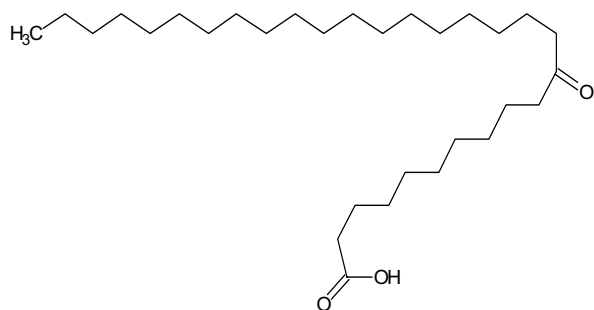
Formula molecular: C₃₀H₅₈O₃

PM: 466,786 g/mol

Descripción física: Ojuelas (MeOH/CHCl₃)

Pf: 102-103°C

Fuente biológica: Constituyente de las semillas de *A. mexicana*.



Ácido 11-Oxoctacosanoico

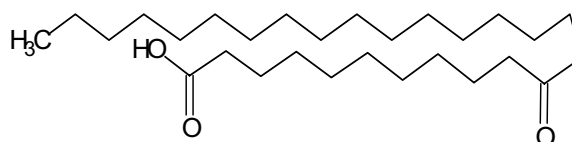
Formula molecular: C₂₈H₅₄O₃

PM: 438,733 g/mol

Descripción física: No reportada

Pf: No reportado

Fuente biológica: Constituyente de las semillas de *A. mexicana*.



Angolina

Sinónimos: 5-Metoxidihidroqueleritrina,
12-Metoxidihidroqueleritirina.

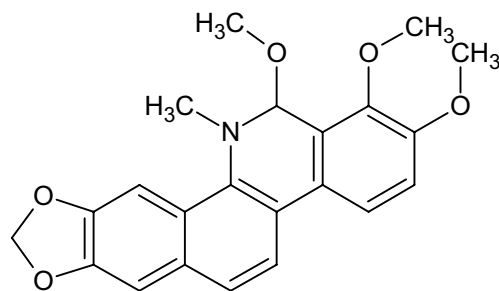
Formula molecular: $C_{22}H_{21}NO_5$

PM: 379,4 g/mol

Descripción física: Polvo de color amarillo

Pf: 173-174,5°C

Fuente biológica: Alcaloide de *A. mexicana*.



Argemexicina A

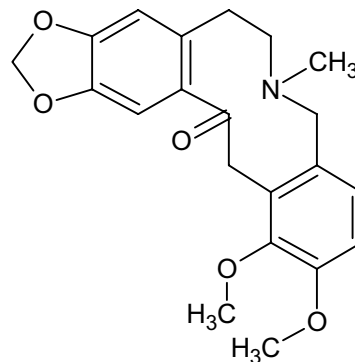
Formula molecular: $C_{21}H_{23}NO_5$

PM: 369,416 g/mol

Descripción física: Cristales (hexano)

Pf: 158-160°C

Fuente biológica: Alcaloide presente en toda la planta de *A. mexicana*.



Argemexicina B

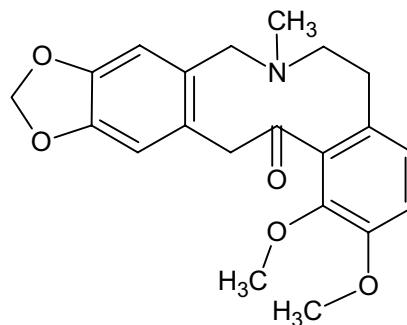
Formula molecular: $C_{21}H_{23}NO_5$

PM: 369,416 g/mol

Descripción física: Polvo

Pf: 131-133°C

Fuente biológica: Alcaloide presente en toda la planta de *A. mexicana*.



(±)-Argemonina

Sinónimo: N-metilpavina, dimetilrotundina.

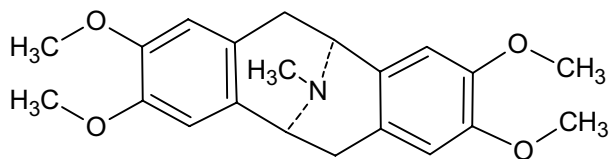
Formula molecular: C₂₁H₂₅NO₄

PM: 355 g/mol

Descripción física: No reportada

Pf: 138-140°C

Fuente biológica: Alcaloide presente en la *A. mexicana*.



Berberina

Sinónimos: 5,6-Dihidro-9,10-dimetoxibenzo[g]-1,3-benzodioxolo[5,6-a]quinolizinio(1+): 9Cl, Umbellatine

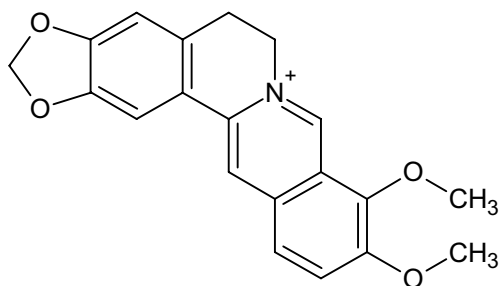
Formula molecular: C₂₀H₁₈N⁺O₄

PM: 336,35 g/mol

Descripción física: Agujas color amarillo (eter)

Pf: 145°C

Fuente biológica: Alcaloide altamente distribuido en la familia *Papaveraceae* (*A. mexicana*).



Canadalina

Derivado: 8-Hidroxilo

Sinónimo: Argenaxina

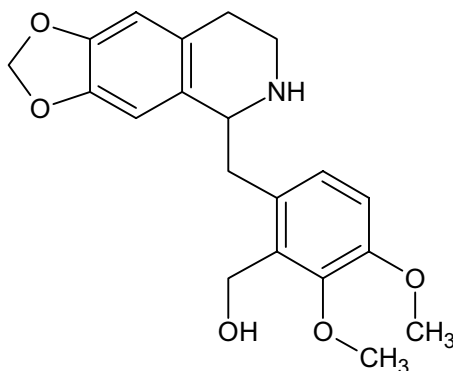
Formula molecular: C₂₀H₂₃NO₅

PM: 357,405 g/mol

Descripción física: Prismas

Pf: 157-158°C

Fuente biológica: Alcaloide presente en toda la planta de *A. mexicana*.



Coptisina

Sinónimos: 6,7-Dihidrobis[1,3]benzodioxolo[5,6-a:4',5'-g] quinolizinio: 9HCl.

2,3:9,10-Bismetilenedioxiprotoberberina

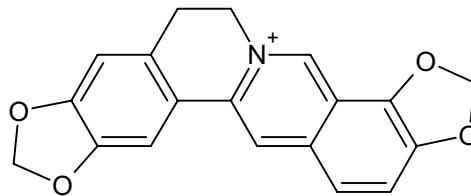
Formula molecular: $C_{19}H_{14}N^+O_4$

PM: 320,318 g/mol

Descripción física: Sólido, polvo amarillo

Pf: No reportado

Fuente biológica: Alcaloide presente en la planta.



Criptopina

Sinónimo: Criptocavina, Talisopirina, 4,6,7,13-Tetrahydro-9,10-dimetoxi-5-metilbenzo[e]1,3-dioxolo[4,5-l][2]benzazecin-12(5H)-ona:9HCl.

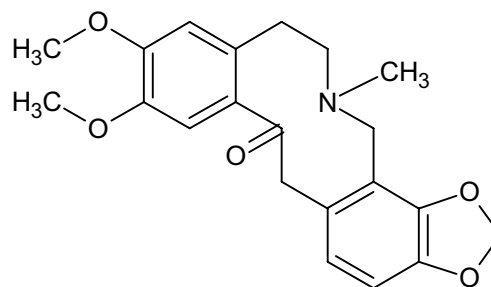
Formula molecular: $C_{21}H_{23}NO_5$

PM: 369,416 g/mol

Descripción física: Prismas (Piridina/EtOH)

Pf: 221-223°C

Fuente biológica: Alcaloide altamente distribuido en la familia *Papaveraceae* (*A. mexicana*).



Dihidroquereritina

Sinónimos: Dihidotoddalina, **Toddalinina**, 12,13-Dihidro-1,2-dimetoxi-12-metil [1,3]benzodioxolo[5,6-c]fenantridina:9HCl,

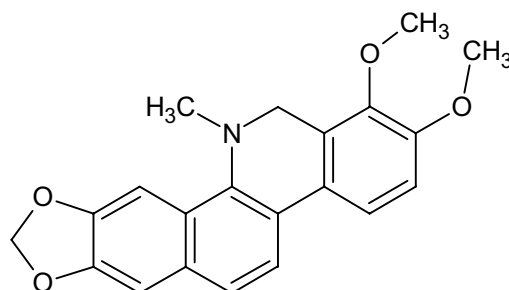
Formula molecular: $C_{21}H_{19}NO_4$

PM: 349,385 g/mol

Descripción física: Cristales. (EtOH, C_6H_6 , o $CHCl_3/MeOH$)

Pf: 169-171 (161-162; 164-165)°C

Fuente biológica: Alcaloide altamente distribuido en la familia *Papaveraceae* (*A. mexicana*).



Dihidrosanguinarina

Sinónimo: 13,14-Dihidro-13-metil[1,3]benzodioxolo [5,6-c]-1,3-dioxolo[4,5-i] fenantridina: 9HCl, 5,6-Dihidro-5-metil-2,3:7,8-bis(metilenedioxi) benzo[c]fenantridina

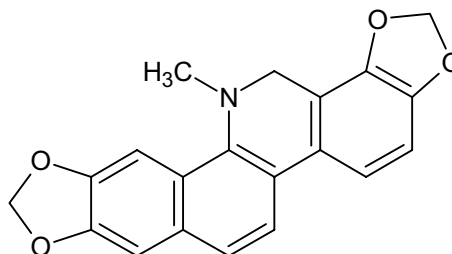
Formula molecular: C₂₀H₁₅NO₄

PM: 333,3 g/mol

Descripción física: Cristales (CHCl₃/MeOH o C₆H₆/EtOH)

Pf: 195-196 (188-189, 191-193)°C

Fuente biológica Alcaloide altamente distribuido en *Papaveraceae* (*A. mexicana*).



Dihidrosanguinarina

Derivado: 8-Oxo

Sinónimo: N-Demetiloxisanguinarina

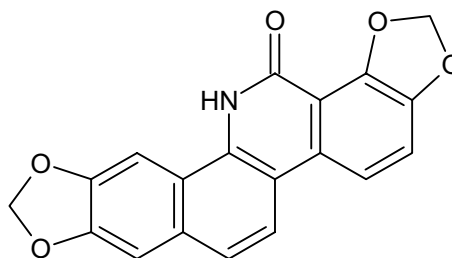
Formula molecular: C₁₉H₁₁NO₅

PM: 333,3 g/mol

Descripción física: Polvo amorfo.

Pf: No reportado

Fuente biológica Alcaloide presente en la parte aérea y en mayor proporción, en la semilla de *A. mexicana*.



Eriodictiol

Sinónimos: 2-(3,4-dihidroxifenil)-5,7-dihidroxicroman-4-ona

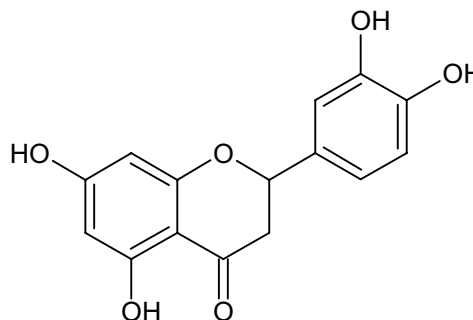
Formula molecular: C₁₅H₁₂O₆

PM: 288,26 g/mol

Descripción física: Polvo blanco

Pf: 265-270°C(descompone)

Fuente biológica: Flavonoide presente en las semillas de *A. mexicana*.



Estilopina

Derivado: Forma-(S)

Sinónimos: 6,7,12b,13e-Tetrahydro-4H-bis[1,3]benzodioxolo[5,6-a:4',5'-g]quinolizina, Tetrahydrocoptisina

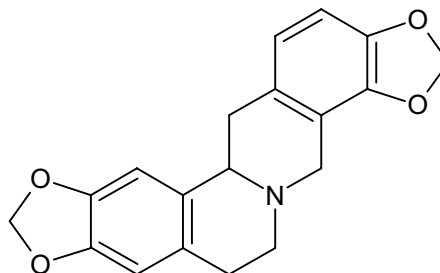
Formula molecular: C₁₉H₁₇NO₄

PM: 323,115 g/mol

Descripción física: Prismas

Pf: 204°

Fuente biológica: Alcaloide altamente distribuido en la familia *Papaveraceae* (*A. mexicana*).



(+)-Higenamina

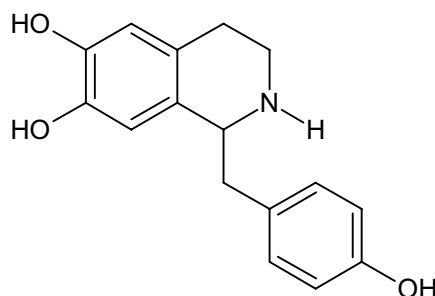
Formula molecular: C₁₆H₁₇NO₃

PM: 271,311 g/mol

Descripción física: Polvo amorfo incoloro, Prismas (EtOH)

Pf: 255-256 (242-244 descomponen)°C

Fuente biológica: Alcaloide presente en la parte aérea de la *A. mexicana*.



Luteolina

Sinónimos: 3',4',5,7-Tetrahydroxiflavona; 5,7,3',4'-Tetrahydroxiflavona.

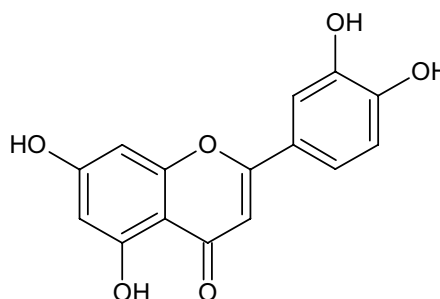
Formula molecular: C₁₅H₁₀O₆

PM: 286,26 g/mol

Descripción física: Polvo amarillo cristalino.

Pf: > 320 °C

Fuente biológica: Flavonoide presente en las semillas de *A. mexicana*.



Norsanguinarina

Derivado: N-de-Me

Sinónimo: [1,3]Benzodioxolo[5,6-c]-1,3-dioxolo [4,5-i]fenantridina,

2,3;7,8-Bis(metilendioxi)benzo[c]fenantridina,

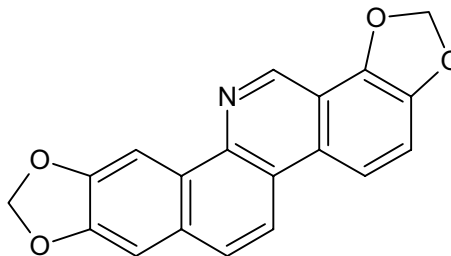
Formula molecular: C₁₉H₁₁NO₄

PM: 317,3 g/mol

Descripción física: Agujas de color amarillo claro (Me₂CO, CHCl₃/MeOH o CHCl₃/EtOH)

Pf: 285-287 (278-280 descomponen)°C

Fuente biológica: Alcaloide presente en la parte aérea y en mayor proporción, en la semilla de *A. mexicana*.



Queretrina

Derivado: N-de-Me

Sinónimos: N-Norqueretrina, Des-N-etilqueretrina.

1,2-Dimetoxi[1,3]benzodioxolo[5,6-c] fenantridina:

9HCl, O-Metildecarina,

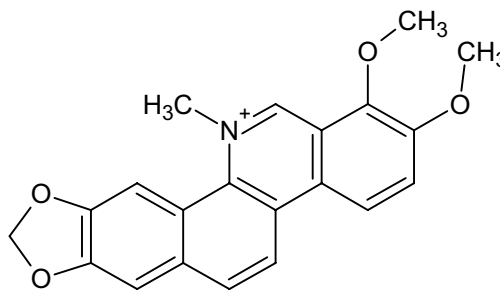
Formula molecular: C₂₁H₁₈NO₄

PM: 348,37 g/mol

Descripción física: Agujas (CH₂Cl₂/hexano o CHCl₃/MeOH)

Pf: 220-221 (211-213; 215-216; 217-221)°C

Fuente biológica: Alcaloide de *A. mexicana*.



Pancorina

Sinónimo: 14-Metoxi-[1,3]benzodioxolo[5,6-c]-1,3-dioxolo[4,5-i]fenantridina:9HCl, 6-Metoxi-2,3;7,8-

bis(metilendioxi)benzo[c]fenantridina,

8-Metoxinorsanguinarina

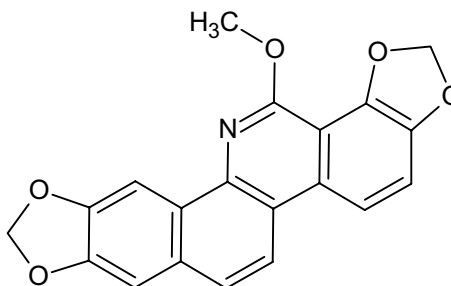
Formula molecular: C₂₀H₁₃NO₅

PM: 347,326 g/mol

Descripción física: Cristales. (CHCl₃/EtOH)

Pf: 254-256°C

Fuente biológica: Alcaloide de *A. mexicana*.



Protopina

Sinónimos: 4,6,7,14-Tetrahidro-5-metilbis[1,3]benzodioxolo[4,5-c:5',6'-g]azecin-13(5H)-one: 9HCl. Fumarian, Coridalis C, Coridinina, Biflorina.

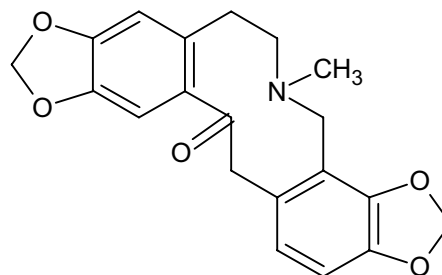
Formula molecular: C₂₀H₁₉NO₅

PM: 353,36 g/mol

Descripción física: Prismas (EtOH/CHCl₃)

Pf: 205-206°C

Fuente biológica: Alcaloide altamente distribuido en la familia *Papaveraceae* (*A. mexicana*).



(+)-Reticulina

Sinónimo: Coclanolina

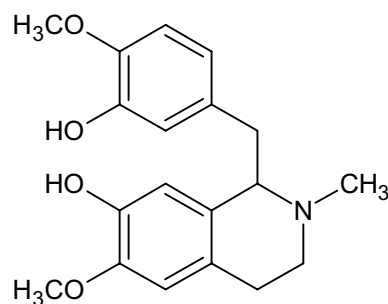
Formula molecular: C₁₉H₂₃NO₄

PM: 329,39 g/mol

Descripción física: Cristales rosas o agujas blancas

Pf: 146 (200-202)°C

Fuente biológica: Alcaloide presente en la parte aérea de la *A. mexicana*.



Sanguinarina

Sinónimos: Pseudoqueleritina, Ψ-queleritina, 13-Metil[1,3]benzodioxolo[5,6-c]-1,3-dioxolo[4,5-i]fenantridinium (1+):9HCl, 5-Metil-2,3:7,8-bis(metilendioxi)benzo[c]fenantridinium (1+).

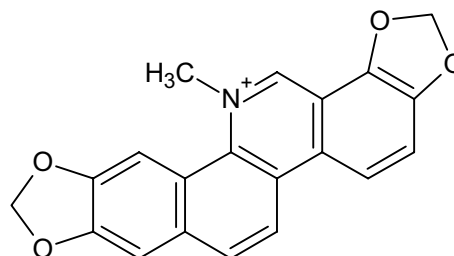
Formula molecular: C₂₀H₁₄NO₄⁺

PM: 332,335 g/mol

Descripción física: No reportada

Pf: No reportado

Fuente biológica: Alcaloide presente en la parte aérea, y en mayor proporción, en la semilla de *A. mexicana*.



Stigma-4-en-3,6-diona

Sinónimo: 24-Etilcolestan-4-ene-3,6-diona

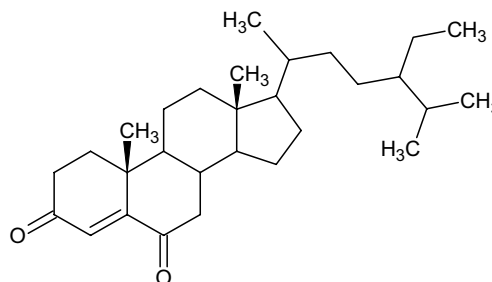
Formula molecular: C₂₉H₄₆O₂

PM: 426,67 g/mol

Descripción física: Agujas incoloras

Pf: 137-139 (170-172)°C

Fuente biológica: Esterol presente en la parte aérea de la *A. mexicana*.



β-Sitostelol

Sinónimos: 22:23-dihidrostigmasterol, α-fitosterol;

α-dihidrofucosterol, cupreol

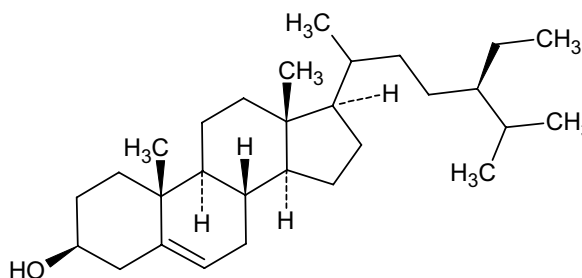
Formula molecular: C₂₉H₅₀O

PM: 414,72 g/mol

Descripción física: Platos (Et-OH)

Pf: 140°C

Fuente biológica: Esterol presente en las flores y tallo de la *A. mexicana*.



B. Métodos para la determinación de alcaloides, flavonoides y glucósidos cardiotónicos

1. Determinación de alcaloides

Una mínima cantidad del compuesto se disuelve en ácido clorhídrico, se agita y si produce un precipitado, se filtra. La solución de ácido clorhídrico se ensaya con los reactivos para alcaloides; Mayer y Dragendorff. Se consideran positivas las pruebas en las que hay precipitado.

2. Determinación de flavonoides

a) Reacción con vapores de amoníaco

Una mínima cantidad del compuesto se diluye con etanol. Se impregna una tira de papel filtro con el compuesto diluido y se deja secar a temperatura ambiente posteriormente, se somete a la acción de vapores de amoníaco. El desarrollo de una coloración amarilla ocre se considera positiva.

b) Reacción con hidróxido de sodio

Una mínima cantidad del compuesto se diluye con etanol, se agregan unas gotas de hidróxido de sodio diluido. La aparición de los colores amarillo o naranja se considera indicativa de la presencia de flavonoides.

3. Determinación de glucósidos cardiotónicos

a) Método Baljet

De 2 o 3 mL del compuesto diluido en etanol, se le adicionan 3 o 4 gotas de reactivo de Baljet (solución A y B), si presenta coloración anaranjada o roja oscura se considera positiva.

b) Método Legal

Una mínima cantidad del compuesto se disuelven 2 o 3 gotas de piridina, después se agrega una gota de solución recientemente hecha de nitroprusiato de sodio al 5 % en agua y de 1 a 3 gotas de NaOH 2N. Se considera positiva la prueba cuando aparece un color rojo intenso.

C. Reactivos para la determinación de alcaloides y glucósidos cardiotónicos

1. Reactivo de Dragendorff

En un matraz erlenmeyer de 125 mL, disolver 8 g de nitrato de bismuto pentahidratado con 20 mL de ácido nítrico. En otro matraz colocar 27,2 g de yoduro de potasio con 50 mL de agua. Mezclar las dos soluciones y dejarlas en reposo durante 24 h. Decantar la solución (para separar residuos de cristales de nitrato de potasio) y aforar con agua a 100 mL.

2. Reactivo de Mayer

En un matraz erlenmeyer de 125 mL disolver 1,36 g de cloruro de mercurio con 60 mL de agua. En otro matraz de la misma capacidad disolver en agua 5 g de yoduro de potasio. Mezclar las soluciones y aforar a 100 mL con agua destilada. El reactivo solo se agrega a soluciones previamente aciduladas con ácido clorhídrico o ácido sulfúrico.

3. Reactivo de Baljet

Solución A: 1 g de de ácido pícrico se afora a 100 mL con etanol.

Solución B: 10 g de hidróxido de sodio se aforan a 100 mL con agua.

D. Pruebas para la Identificación de iones, cationes y radicales

ACETATOS. Al calentar un acetato con ácido sulfúrico y alcohol al 96 % se desarrolla acetato de etilo de olor característico.

BENZOATOS. Las soluciones ligeramente concentradas de benzoatos, acidificadas con solución de ácido sulfúrico 2 N, producen un precipitado de ácido benzoico fácilmente soluble en éter.

BROMUROS. Las soluciones de bromuros, con solución de nitrato de plata, producen un precipitado blanco amarillento, insoluble en ácido nítrico y ligeramente soluble en solución de hidróxido de amonio 6 N.

CALCIO. A soluciones de sal de calcio (1:20), agregar dos gotas de SI de rojo de metilo; neutralizar con solución de hidróxido de amonio 6 N; agregar solución de ácido clorhídrico 3 N, gota a gota, hasta que la solución sea ácida al indicador; agregar solución de oxalato de amonio. Se forma un precipitado blanco de oxalato de calcio insoluble en solución de ácido acético 6 N, soluble en ácido clorhídrico.

Las sales de calcio, humedecidas con ácido clorhídrico, imparten color rojo amarillento a la flama no luminosa.

CARBONATOS Y BICARBONATOS. Al tratar una solución de la muestra, con solución de sulfato de magnesio, se forma un precipitado blanco; cuando la muestra contiene carbonatos y cuando la muestra contiene bicarbonatos, no se forma el precipitado.

Al calentar a ebullición la solución de bicarbonatos, se forma un precipitado blanco y se libera dióxido de carbono.

CIANUROS. Las soluciones de cianuros, con solución de nitrato de plata, producen un precipitado blanco grumoso, soluble en solución de amoníaco y lentamente soluble en ácido nítrico caliente.

CITRATOS. Agregar unos cuantos miligramos de citrato a una mezcla de 15 mL de piridina y 5 mL de anhídrido acético. Se produce un color rojo carmín.

Las soluciones neutras de citratos, agregar solución de cloruro de calcio: no se forma precipitado, sin embargo al calentar a ebullición la solución si se produce un precipitado blanco, soluble en ácido acético 6 N.

CLORATOS. Las soluciones de cloratos con solución de nitrato de plata, no producen precipitado. Si se agrega ácido sulfuroso la mezcla produce un precipitado blanco, insoluble en ácido nítrico, soluble en solución de hidróxido de amonio 6 N.

CLORUROS. Las soluciones de cloruros, con solución de nitrato de plata, producen un precipitado blanco grumoso, insoluble en ácido nítrico, soluble en ligero exceso de solución de hidróxido de amonio 6 N.

FERRICIANUROS. Las soluciones acuosas de ferricianuros con solución de sulfato ferroso, dan un precipitado azul, insoluble en ácido clorhídrico diluido y el cual se descompone con solución de hidróxido de sodio.

FERROCIANUROS. Las soluciones acuosas de ferrocianuros, con solución de cloruro férrico, dan un precipitado azul. Con solución de sulfato de cobre dan un precipitado rojo, insoluble en ácidos diluidos.

FOSFATOS. Las soluciones neutras de ortofosfatos, con solución de nitrato de plata, producen un precipitado amarillo, soluble en solución de ácido nítrico 2 N o en solución de hidróxido de amonio 6 N.

Con solución de molibdato de amonio, producen un precipitado amarillo, soluble en solución de hidróxido de amonio 6 N.

MAGNESIO. Las soluciones de sales de magnesio en presencia de cloruro de amonio, no precipitan; con solución de carbonato de amonio y la subsecuente adición de solución de fosfato de sodio, forman un precipitado blanco cristalino, insoluble en solución de hidróxido de amonio 6 N.

NITRATOS. Mezclar una solución de nitrato con un volumen igual de ácido sulfúrico; enfriar la mezcla y sobreponer una solución de sulfato ferroso: se produce un color café en la zona de contacto de los dos líquidos.

Al calentar un nitrato con ácido sulfúrico y cobre metálico se desarrollan vapores de color rojizo.

NITRITOS. Al tratar soluciones de nitritos con ácidos minerales diluidos, con solución de ácido acético 6 N, desarrolla vapores de color café rojizo, la solución colorea de azul el papel indicador con yoduro de almidón.

OXALATOS. Las soluciones neutras o alcalinas de oxalatos, con solución de cloruro de calcio, producen un precipitado blanco, insoluble en solución de ácido acético 6 N, soluble en ácido clorhídrico.

POTASIO. Los compuestos de potasio imparten un color violeta a la flama no luminosa que se observa a través de un vidrio de cobalto.

Las soluciones de sales de potasio concentradas o ligeramente concentradas, dependiendo de la solubilidad del contenido de potasio, con solución de perclorato de sodio, producen un precipitado blanco cristalino.

SULFATOS. Las soluciones de sulfatos, con solución de cloruro de bario, producen un precipitado blanco, insoluble en ácido clorhídrico y en ácido nítrico.

SULFITOS. Las soluciones de sulfatos, tratadas con solución de ácido clorhídrico 3 N, producen dióxido de azufre, reconocido por su olor picante.

13. REFERENCIAS

1. TOM TJ, Epstein FH, Feldman JJ, Leaverton PE, Woltz M. Total mortality and mortality from heart disease, cancer and stroke from 1950 to 1987 in 27 countries: highlights of trends and their interrelationships among causes of death. US DHHS PHS, National Institutes of Health; NIH pubnum92-3.088. Washington, DC, 1992.
2. Varea A. (comp.) Biodiversidad, Bioprospección y Bioseguridad. ILDIS. Proyecto FTTP-FAO, Ediciones Abya.Yala. Quito 1997.
3. Knoeles J, Gromo G. Target selection in drug discovery. *Nature* 2003; 2 (1): 63-69.
4. Lombardino JG, Lower III JA. The role of the medicinal chemist in drug discovery then-and now *Nature* 2004; 3 (9): 853-861.
5. Koehn FE, Carter GT. The evolving role of natural products in drug discovery 2005; 4 (3): 206-220.
6. Dickson M, Gagnon JP. Key factors in the rising cost of new drug discovery and development 2004; 3 (5): 417-429.
7. Reichert JM. Trends in development and approval times for new therapeutics in the United States 2003; 2 (9): 695-702.
8. Dürbeck, K. Posibilidades de uso y comercialización de productos no maderables del bosque húmedo tropical, en: Informe del Taller "Posibilidades de uso y Comercialización de productos no maderables del Bosque Húmedo Tropical" Anexos. PROFORS, PROMERCADOS. Quito, 1996.
9. Vallejo A. Conservación ¿Gasto o inversión?. ECUADOR, terra incógnita. *Ecológica* 1998; 1: 4-8.
10. Anon. Medicina: ¿Retorno al pasado?. México EFE en: *Diario El Comercio*, 1995.
11. Base de datos NAPRALERT. Ethnomedical information on extracts with purported antihypertension activity. College of Pharmacy. University of Illinois at Chicago, Chicago. USA.
12. Rosas M, Pastelín G, Martínez J, Herrera J, Attie F. Hipertensión arterial en México Guías y recomendaciones para su detección, control y tratamiento. *Arch Cardiol Mex* 2004; 74: 134-157.
13. Secretaría de Salud (México) Norma Oficial Mexicana (NOM), Para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial. NOM-030-SSA 2 1999.

14. Manual Merck de información medica para el hogar CAPITULO 25 Hipertensión arterial [en línea], Actualización Lunes, 16 de Octubre de 2006 [citado 12-Abril-2007]. Disponible en URL:http://www.msd.com.mx/publicaciones/mmerck_hogar/seccion_03/seccion_03_025.html.
15. Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. JAMA 2003; 289 (19): 2560-72.
16. Grupo de trabajo en hipertensión. Fármacos antihipertensivos y protección orgánica. Índice -Trough- to- peak-.Madrid: Liga Española para la Lucha contra la Hipertensión Arterial; 1994.
17. Jones DW, Appel LJ, Sheps SG, Roccella EJ, Lenfant C. Measuring Blood Pressure Accurately. New and Persistent Challenges. JAMA 2003; 289 (8): 1027-30.
18. Williams GH. Hypertensive Vascular Disease. En: Isselbacher, Braunwald et al. Harrison's principles of internal medicine. 15th ed, New York, McGraw-Hill; 2001.
19. O'Brien E, Beevers G, Lip GYH. ABC of hypertension. Blood pressure measurement. *Part III-Automated sphygmomanometry: ambulatory blood pressure measurement*. BMJ 2001; 322: 1110-4.
20. Carretero OA, Oparil S. Essential Hypertension. Part I: Definition and Etiology. Circulation. 2000; 101: 329-335.
21. Botey A, Revert L. Hipertensión arterial. En: Farreras, Rozman (Editores) Tratado de medicina interna. 14^a ed, Barcelona, Mosby-Doyma; 1996: 667-89.
22. Reeves RA. Does This Patient Have Hypertension? How to Measure Blood Pressure. JAMA 1995; 273 (15): 1211-8.
23. Debs G, La Noval R, Dueñas A, Gozales J. Prevalencia de Factores de riesgo coronario en 10 de octubre. Su evolución a los 5 años. Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. Rev Cubana Cardiología 2001; 15 (1):14-20.
24. Olaiz G, Rivera J, Shamah LT, Rojas R, Villalpando HS, Hernández AM. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública 2006; 80-81.
25. Instituto nacional de estadística geográfica e informática. [en línea], Actualización Lunes, 16 de Octubre de 2006 [citado 4-Marzo-2007]. Disponible en URL: <http://www.inegi.gob.mx/est/contenidos/espanol/rutinas/ept.asp?t=mpob45&c=3222>.

26. Base de datos de defunciones INEGI/Secretaría de Salud. Dirección General de Información en Salud. CONAPO, 2002. Proyecciones de la Población de México, 2000-2005.
27. Velázquez Monroy O *et al.* Hipertensión arterial en México: Resultados de la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000. Arch cardiol Mex 2002; 72 (1): 71-84.
28. Manual de Hipertensión Arterial en la Práctica Clínica de Atención Primaria. Grupo de Hipertensión Arterial. Sociedad Andaluza de Medicina Familiar. Junio 2006.
29. Tunstall-Pedoe H, Connaghan J, Woodward M, Tolonen H, Kuulasmaa K. Pattern of declining blood pressure across replicate population surveys of the WHO MONICA project, mid-198s to mid-199s, and the role of medication. BMJ 2006; 332: 629-635.
30. Psaty BM, Lumley T, Furberg CD, Schellenbaum G, Pahor M, Alderman MH *et al.* Health outcomes associates with various antihypertensive therapies used as first-line agents. A network meta-analysis. JAMA 2003; 289: 2534-2544.
31. Kaplan NM. Treatment of hypertension: drug therapy. En: Kaplan NM, ed. Clinical Hypertension 7th Edition. Baltimore: Williams & Wilkins 1998; 181-263.
32. Sociedad Española de Hipertensión – Liga Española para la Lucha contra la Hipertensión Arterial SEH-LELHA. Guía Española de Hipertensión 2005. Hipertensión. 2005; 22 Supl 2. [en línea], 2005 [citado 30-Junio-2007]. Disponible en URL: <http://www.seh-lelha.org/guiahta05.htm>.
33. Collins R, Peto R, MacMahon S, Hebert P, Fiebach NH, Eberlein KA, *et al.* Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 2, short-term reductions in blood pressure: overview of randomised drug trials in their epidemiological context. Lancet 1990; 335: 827-3.
34. Staessen JA, Wang JG, Thijs L. Cardiovascular prevention and blood pressure reduction: a quantitative overview updated until 1 March 2003. J Hypertens 2003; 21: 1055-76.
35. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, *et al.* Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. JNC 7 – Complete version. Hipertensión 2003; 42: 1206-52.
36. Khan NA, McAlister FA, Lewanczuk RZ, Touvz RM, Padwal R, Rabkin SW, *et al.* The 2005 Canadian Hypertension Education Program recommendations for the management of hypertension: part II therapy. Can J Cardiol 2005; 21(8): 657-72.

37. World Health Organization, International Society of Hypertension writing group. 2003 World Health Organization (WHO) / International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension. *J Hypertens* 2003; 21: 1983-92.
38. Guidelines Committee. 2003 European Society of Hypertension – European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 2003; 21: 1011-53.
39. De Backer G, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, Brotons C, Cifkova R, Dallongeville J, et al. Third Joint Task Force of European and other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. Executive summary. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J* 2003; 24: 1601-10.
40. Comité Español Interdisciplinario para la Prevención Cardiovascular (CEIPC), Brotons C, Royo-Bordonada MA, Álvarez-Sala L, Armario P, Artigao R, Conthe P, et al. Adaptación española de la Guía Europea de Prevención Cardiovascular. *Aten Primaria* 2004; 34: 427-32.
41. Hampton JR. Comparative efficacy of diuretics: benefit versus risk; results of clinical trials. *Eur Heart J* 1992; 13 (Suppl 6): 85-91.
42. Cruickshank JM. The case for beta blockers as first line antihypertensive therapy. *J Hypertens* 1992; 10 (Suppl 3): 21-27.
43. Koch-Weser J. Drug therapy-hydralazine. *N Engl J Med* 1976; 295: 320-323.
44. Pettinger WA. Minoxidil in the treatment of severe hypertension. *N Engl J Med* 1980; 303: 922-926.
45. Yusuf S. Calcium antagonists in Coronary Artery disease and hypertension. Time for reevaluation. *Circulation* 1995; 92: 1079-1082.
46. Dargie HJ, Ball SG, Atkinson AB, Robertson JI. Converting enzyme inhibitors in hypertension and heart failure. *Br Heart J*. 1983 April; 49 (4): 305–308.
47. Weber MA, Byyny RL, Pratt H, Faison EP, Snively DB, Goldberg AI et al. Blood pressure effects of the angiotensin II receptor blocker Losartan. *Arch Intern Med* 1995; 155: 405-411.
48. Johnston CI. Angiotensin receptor antagonists focus on Losartan. *Lancet* 1995; 346: 1403-1407.
49. Israili ZH, Hall WD. Cough and angioneurotic edema associated with angiotensin converting enzyme inhibitor therapy. A review of the literature and pathophysiology. *Ann Intern Med* 1992; 117: 234-242.

50. Gradman AH, Arcuri KE, Goldberg AJ, Ikeda LS, Nelson EB, Snavely DB et al. A randomized placebo-controlled, double blind, parallel study of various doses of losartan potassium compared with enalapril maleate in patients with essential hypertension. *Hypertension* 1995; 25: 1345-1350.
51. Kelly DJ, Wilkinson-Berka JL, Gilbert RE. Renin Inhibition: New Potential for an Old Therapeutic Target. *Hypertension* 2005; 46: 471.
52. Mazón-Ramos P, Bertomeu-Martínez V, Palma-Gámiz JL, Quiles-Granado J, Guindo-Soldevilla J y González-Juanatey JR. Tratamiento global del riesgo cardiovascular en el paciente hipertenso. *Rev Esp Cardiol* 2007; 60 (Supl 1): 79-91.
53. Novartis Pharmaceuticals Corporation. Tekturna® (aliskiren) Tablets 150 mg and 300 mg. Prescribing Information. February 2007. [en línea] [citada 4 de abril de 2007]. Disponible en URL <http://www.fda.gov/cder/foi/label/2007/021985lbl.pdf>.
54. Sistema integrado de información Taxonómica SIIT* MEXICO. [en línea] Última modificación: 3 de julio de 2005 [citada 4-Diciembre-2006]. Disponible en: URL http://pick4.pick.uga.edu/mp/20q?act=x_ant&name=Argemone+mexicana&path=Plantae/Dicotyledoneae/Papaveraceae/Argemone/mexicana&authority=L.&xml=Dicotyledoneae;Guianas_flora;Hawaii_flora;Neotropical_flora;Panama_Dicotyledoneae;Plants_Chicago;Taiwan_Dicotyledoneae;Wildflowers;&btxt=Discover+Life&url=http://www.discoverlife.org.
55. Martínez M. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica, México; 1979. p. 1500
56. Instituto Nacional Indigenista (México). Introducción En: Argueta A, Cano LM Rodante ME Editores. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana; 1994: p. 399-401.
57. Alonso J. Tratado de fitofármacos y nutraceuticos. CORPUS. Argentina: 2004. p. 271-C-C-274.
58. Aguilar A, Camacho J, Chino S, Lopez M. Plantas Medicinales del Herbario. IMMS. Su distribución por enfermedades. México; 1994. p. 61.
59. Códice Florentino. Manuscrito de la Colección palatina de la Biblioteca Medicea Laurenziana, ed. facs., 3 vol., México, Secretaría de Gobernación, Archivo General de la Nación; 1979.
60. Hernandez F. Historia Natural de Nueva España, traducción de José Rojo Navarro, 2 vols. en Francisco Hernández, Obras Completas, vol. II y III, México, UNAM; 1959.
61. Sociedad Mexicana de Historia Natural. Primera serie. México; 1876. p. 3.

62. Cabrera LG. Plantas curativas de México propiedades medicinales de las más conocidas plantas medicinales de México su aplicación correcta y eficaz. 5 ed. México; 1958.
63. Meckes LM, Mellado V. Pharmacological screening of mexican plants popularly used for the treatment of cough. *Fitoterapia*. 1986; 57: 365-370.
64. Bielory L, Heimall J. Review of complementary and alternative medicine in treatment of ocular allergies. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003; 3: 395-9.
65. Martínez M, Nieves G, Luquín S. Algunas especies vegetales de utilidad artesanal y folklórica en Jalisco. *Bol. Inst. Bot. Univ. Guadalajara*. 1992; 1: 70-87.
66. Mendoza M, Cruz A. Exploración etnobotánica y establecimiento de un jardín botánico medicinal en la comunidad de Guadalupe de Cisneros, Tezoatlán, Oaxaca. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. México; 1991. p. 229.
67. Lara F, Márquez C. Plantas medicinales de Mexico I. Composición, usos y actividad biológica. México. Universidad Autónoma de México; 1996. p. 37.
68. Chapman & Hall/CRC, Dictionary of Natural Products on CD-Rom Ver 15.1, 1982-2007.
69. Chang YC, Chang FR, Khalil AT, Hsieh PW, Wu YC. Cytotoxic benzophenanthridine and benzyloisoquinoline alkaloids from *Argemone mexicana* *Zeitschrift fur Naturforschung. Section C. Journal of Biosci* 2003; 58: 521-6.
70. Upreti KK, Das M, Kumar A, Singh GB, Khanna SK. Biochemical toxicology of argemone oil. IV. Short-term oral feeding response in rats. *Toxicology* 1989; 58: 285-98.
71. Magnus KE, Feng PC, Haynes LJ, Plimmer JR, Sherratt HS. A. Pharmacological screening of some west Indian medicinal plants. *J Pharmacol* 1962; 14: 556-561.
72. Dhar ML, Dhar MM, Dhawan BN, Mehrotra BN, Ray C. Screening of Indian plants for biological activity: part I. *IJEB*, 1968; 6: 232-247.
73. Ruiz I. Caracterización química y efectos cardiovasculares producidos por algunas plantas por algunas plantas medicinales en ratas Wistar IV. *Semana científica. UNAH. Honduras*; 1987: p .87
74. Páez SE, Fernández SG, Magos GA. Vasoconstrictor and Vasorelaxant Effects of Methanolic Extract from *Argemone mexicana* Linn (Papaveraceae) in Rat Aortic Rings. *Proc. West. Pharmacol Soc* 2006; 49: 00-00.

75. Carrillo T, Díaz de Ramírez A. Actividad antimalárica de extractos crudos de plantas en ratones infectados con *Plasmodium berghei*. Revista de la Facultad de Farmacia 2005; 47 (1): 2-9.
76. Patel RP, Bhanu M, Trivedi. The in vitro antibacterial activity of some medicinal oils. IJMR 1962; 50: 2: 218-222.
77. Asthana A, Raina MK. Pharmacology of *Withania somnifera*, a review, Indian Drugs 1989; 26 (5): 199-205.
78. Zavala MA, Pérez SG, Pérez RM. Antimicrobial screening of some medicinal plants. Phytotherapy Research 1998; 11 (5): 368-371.
79. Singh S, Singh DK. Effect of molluscocidal components of *abrus precatorius*, *Argemone mexicana* and *Nerium indicum* on certain biochemical parameters of *lymnauen acuminata*. Phytother Res 1999; 13: 210-213.
80. Meléndez PA, Capriles VA. Molluscicidal activity of plants from Puerto Rico. Ann Trop Med Parasitol 2002; 96: 209-18.
81. Chang YC, Chang FR, Hsieh PW, Chang FR, Wu RR, Liaw CC. Two new protopines Argemexicaines A and B and the anti-HIV alkaloids 6-acetyldihydrochererythrine from Formosan. Planta Med 2003; 69: 148-152.
82. Sakthivadivel M, Thilagavathy D. Larvicidal and chemosterilant activity of the acetone fraction of petroleum ether extract from *Argemone mexicana* L. Bioresour Technol 2003; 89: 213-216.
83. Capasso A, Piacente S, Pizza C, De Tomáis N, Jativa C. Isoquinoline alkaloids from *Argemone mexicana* reduce morphine withdrawal in guinea pig isolated ileum, Planta Med 1997; 63: 326-328.
84. Vaidya AD, Pandita N, Godse C, Meshram M. *Argemone mexicana* and epidemic dropsy: phytopharmacology and putative sequelae and therapy. J Assoc Physicians India 2001; 49: 1041-1042.
85. Verma SM., Prasad R, Kudada N. Investigations of anti-viral properties on extract of *Pleurotus sajor Caju*. Ancient Science of Life 2001; 21 (1): 34-37.
86. Sachdev MS, Sood NN, Mohan M, Sachdev HP, Gupta SK. Optic disc vasculitis in epidemic dropsy, Jpn J Ophthalmol 1987; 31 (3): 467-474.
87. Sachdev HP, Sachdev MS, Verma L, Sood NN, Moonis M. Electrophysiological studies of the eye, peripheral nerves and muscles in epidemic dropsy. J Trop Med Hyg 1989; 92: 412-415.

88. Sharma BD, Malhotra S, Bhatia V, Rathee M. Epidemic dropsy in India. *Postgrad Med J* 1999; 75: 657-661.
89. Singh AB, Pawan-Kumar. Common environmental allergens causing respiratory allergy in India. *Indian J Pediatr* 2002; 69 (3): 245-250.
90. Sood NN., Sachdev MS, Mohan M, Gupta SK, Sachdev HP. Epidemic dropsy following transcutaneous absorption of *Argemone mexicana* oil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1985; 79 (4): 510-512.
91. Bose BC, Vijayvargiya R, Saifi AQ, Sharma SK. Chemical and pharmacological studies on *Argemone mexicana* Linn. *J Pharm Sci* 1963; 52 (12): 1172-1175.
92. Bodhankar LL, Garg SK, Mathur VS. Antifertility screening of plants, part IX: effect of five indigenous plants on early pregnancy in female albino rats. *IJMR* 1974; 62 (6): 831-837.
93. Dalvi RR. Sanguinarine: its potential as a liver toxic alkaloid present in the seeds of *Argemone mexicana*. *Experientia* 1985; 41 (1): 77-78.
94. Norton JH, O'Rourke PK. Oedema disease in chickens caused by Mexican poppy (*Argemone mexicana*) seed. *Aust Vet J* 1980; 56 (4):187-189.
95. Upreti KK, Das M, Kumar A, Singh GB, Khanna SK. Biochemical toxicology of argemone oil. IV. Short-term oral feeding response in rats. *Toxicology* 1989; 58 (3): 285-298.
96. Pahwa R, Chatterjee VC. The toxicity of Mexican poppy (*Argemone mexicana*) seeds to rats. *Vet Hum Toxicol* 1989; 31 (6): 555-558.
97. Upreti KK, Das M, Khanna SK. Biochemical toxicology of argemone alkaloids. III. Effect on lipid peroxidation in different subcellular fractions of the liver. *Toxicol Lett* 1988; 42 (3): 301-308.
98. Hebel R, Stromberg M. *Anatomy of the laboratory rat*. Williams & Wilkins, Baltimore: 1976.
99. Lee RM, Forrest JB, Gartfield RE, Daniel EE. Ultrastructural changes in mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats, A morphometric study. *Blood Vessels*: 1983a; 20: 72-91.
100. Lee RM, Garfield RE, Forrest JB, Daniel EE. Morphometric study of structural changes in the mesenteric blood vessels of spontaneously hypertensive rats. *Blood Vessels* 1983b; 20: 57-71.
101. Bohlen HG. Intestinal microvascular adaptation during maturation of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1983; 5: 739-745.

102. Meininger GA, Fehr KL, Yates MB, Borders JL, Granger HJ. Hemodynamic characteristics of the intestinal microcirculation in renal hypertension. *Hypertension*. 1986; 8: 66-75.
103. Fenger-Gron, J, Muivany MJ, Christensen KL. Mesenteric blood pressure profile of conscious, freely moving rats. *J Physiol* 1995; 488: 753-760.
104. Bevan JA, Laher, Pressure and flow-dependent vascular tone. [view]. *FASEB JS*: 1991; 2267-2273.
105. Kawasaki H, Takasaki K, Saito A, Goto K. Calcitonin gene-related peptide acts as a novel vasodilator neurotransmitter in mesenteric resistance vessels of the rat. *Nature* 1988; 335: 164-167.
106. Sowers J. *Endocrinology of the Vasculature*. Humana Press, Toronto; 1996.
107. Bevan JA, Bevan RD, Duckles S. Adrenergic degradation of vascular smooth muscle. *Physiology, Section 2: The cardiovascular System*. Am Physiol Soc; 1980: 515-566.
108. Lynch T. Medication costs as a primary cause of nonadherence in the elderly. *Geriatric Pharmacotherapy Program, Virginia Commonwealth University, School of Pharmacy, Richmond, USA. Consultant Pharmacist* 2006; 21: 143-6.
109. Berlandinelli L, Belloni FL, Rubio R, Berne R. Atrioventricular Conduction. Disturbances during Hypoxia. *Circ Res* 1980; 47 (5): 684-691.
110. Dyke SF, Tiley EP. The synthesis of berberastina. *Tetrahedron* 1975; 31: 561-568
111. Magos GA, Vidrio H, Reynolds WF, Enriquez RG. Pharmacology of *Casimiroa edulis* IV. Hypotensive effects of compounds isolated from methanolic extracts in rats and guinea pigs. *J Ethnopharmacol* 1999; 64: 34-35
112. Abdel-Haq H, Francesca M, Palmery M, Grazia M, Silvestrini B, Saso L. Relaxant effects of *Hidrastis Canadensis* L and its major alkaloids on guinea pig isolated trachea. *Pharmacology & toxicology* 2000; 87: 218-222.
113. Page PP, Curtis MJ, Sutter MC, Walker MJ, Hoffman BR. *Farmacología integrada*. Harcourt. España; 1998. p. 20-24.
114. Rocha AP, Carvalho LC, Sousa MA, Madeira SV, Sousa PJ, Tano T, et al. Endothelium-dependent vasodilator effect of *Euterpe oleracea* Mart. (Acai) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. *Vascul Pharmacol* 2007; 46 (2): 97-104.

115. Fatehi M, Saleh TM, Fatehi-Hassanabad Z, Farrokhfal K, Jafarzadeh M, Davodi S. A pharmacological study on *Berberis vulgaris* fruit extract. *J Ethnopharmacol* 2005; 102 (1): 46-52.
116. Lei XL, Chiou GC. Cardiovascular pharmacology of *Panax notoginseng* (Burk) F.H. Chen and *Salvia miltiorrhiza*. *Am J Chin Med* 1986; 14 (3-4): 145-52.
117. The Merck index. An encyclopedia of chemicals drugs and biologicals, 20 ed, USA: Merck CO. ing; 1996. p. 1316.
118. Intoxicaciones producidas por plantas. [en línea] Actualización 2007 [citado 20-octubre-2007] Disponible en URL: http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/intoxicaciones/66intoxicaciones_producidas_por_plantas.pdf .
119. Anaya R, Vernaza M, Zevallos V. Investigación de la acción de los nitratos y nitritos contenidos en algunos vegetales como causantes de metahemoglobinemia. *Ciencia e investigación* 1999; 2 (1): 81.
120. Hoja de seguridad de Nitrato de potasio [en línea], [citado 21-octubre-2007] Disponible en URL: <http://www.agrovitra.com/ingles/pdf/PolvosSolublesSimples/HS/NitratodePotasio.pdf>.
121. Vapaatalo H, Mervaala E, Nurminen ML. Role of endothelium and nitric oxide in experimental hypertension. *Physiol Res* 2000; 49: 1-10.
122. Chiou WF, Yen MH, Chen CF. Mechanism of vasodilatory effect of berberine in rat mesenteric artery. *European J Pharmacol* 1991; 204 (1): 35-40.
123. Bentley KW. The Isoquinoline Alkaloids, Harwood Academic Publishers, Amsterdam 1998a. p. 219–263.
124. Hamon NW. Goldenseal. *Can. Pharm. J* 1990; 123 (11): 508-510.
125. Blecher MB, Douglass K. Gold in goldenseal. *Hosp & Health Netw* 1997; 71 (20): 50-2.
126. Abidi P, Chen W, Kraemer FB, Li H, Liu J. The medicinal plant goldenseal is a natural LDL-lowering agent with multiple bioactive components and new action mechanisms. *J Lipid Res* 2006; 47 (10): 2134-47.
127. Hwang BY, Roberts SK, Chadwick LR, Wu CD, Kinghorn AD. Antimicrobial constituents from goldenseal (the Rhizomes of *Hydrastis canadensis*) against selected oral pathogens. *Planta Med* 2003; 69 (7): 623-7.
128. Anonymous. Berberine. *Altern Med Rev* 2000; 5 (2):175-7.

129. Ko WH, Yao XQ, Lau CW, Law WI, Chen ZY, Kwok W. Vasorelaxant and antiproliferative effects of berberine. *Eur J Pharmacol* 2000; 399 (2-3): 187-96.
130. Nakanishi K. *Infrared absorption spectroscopy –practical-*. Japon: Nankodo Company Limited; 1969. p. 57.