



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA
Y ANTIINFLAMATORIA DEL LIOFILIZADO DE HOJAS
DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGA

P R E S E N T A
MARÍA DE LOS ANGELES CERVANTES FLORES

DIRECTORA DE TESIS
DRA. MARÍA EUGENIA GARÍN AGUILAR



Los Reyes Iztacala, Estado de México 20 de Junio del 2016

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE

Dr. Gustavo Valencia del Toro

VOCAL

Dr. José Guillermo Ávila Acevedo

SECRETARIO

Dra. María Eugenia Garín Aguilar

SUPLENTE

Dra. Beatriz Vázquez Cruz

SUPLENTE

**M. en C. Leonor Ana María Abundiz
Bonilla**

Este trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Farmacobiología (L-514) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, bajo la dirección de la Dra. María Eugenia Garín Aguilar y con el apoyo de la Unidad de Morfología y Función Proyectos 2013-2015.

El trabajo contó con el apoyo del Laboratorio de Cultivos Celulares y Bioconversiones de la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación de la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología (UPIBI), del Instituto Politécnico Nacional, cuyo responsable es el Dr. Gustavo Valencia del Toro Proyecto IPN-SIP: 20160240. También se contó con el apoyo del Dr. Ramón Marcos Soto Hernández y del M. en C. Rubén San Miguel Chávez del laboratorio de Fitoquímica de la Especialidad de Botánica, Colegio de Postgraduados Campus Montecillo.

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM

Por abrirme sus puertas desde hace ya casi ocho años, desde CCH. Por ser mi segunda casa, donde crecí académicamente y como ser humano. Por permitirme conocer y experimentar que arte (en mi caso la danza) y ciencia no están peleadas. Es un placer formar parte de esta gran casa de estudios.

A mis sujetos experimentales

Sin ellos nada de esto hubiera sido posible.

A la Dra. María Eugenia Garín Aguilar

“Maestra Mara” gracias por el apoyo brindado durante estos años, por confiar en mí, por compartirme su pasión por la ciencia; por enseñarme con el ejemplo que con perseverancia, planeación, responsabilidad y dedicación todo es posible; gracias por su amistad y sus consejos que, llevo guardados en la memoria. Gracias por nutrir mi intelecto académico y humano y por presentarme al sincrodestino ya que no ocurren casualidades en este mundo, cada hecho tiene una razón de ser.

Al Dr. Gustavo Valencia del Toro

Por que su apoyo en el suministro del material requerido, desde el inicio de este proyecto y sus observaciones al trabajo escrito, permitieron que esta investigación saliera adelante, gracias.

Al Dr. Guillermo Ávila Acevedo, a la Dra. Beatriz Vázquez Cruz y a la M en C. Leonor Abundiz Bonilla

Por el tiempo dedicado a la revisión de esta tesis y sus atinadas observaciones, que permitieron mejorarla sustancialmente, gracias.

Al Dr. Marco Soto

Gracias por abrirnos las puertas de su laboratorio y apoyarnos con sus enseñanzas.

A los Chicos de las estancias cortas de verano: Jessica, Axel, Edgar y Fernanda

Con ustedes descubrí mi pasión por enseñar lo aprendido, porque el conocimiento rinde sus frutos al compartirse, gracias por dejarme conocer una parte de ustedes. Jessica, mi alma gemela gracias por tu amistad a pesar de la distancia y el tiempo. Edgar, gracias por los libros, fueron de gran ayuda y por soportar “los chismes Iztacaltecas”

Marco

Gracias por tu apoyo incondicional, por la bella amistad que me brindas día a día, por tus consejos y por las observaciones en una parte del documento.

A mis amigos y compañeros de carrera, especialmente:

Jorge, Miriam, Joss, Moni, Pamela, Emmanuel, Cinthya, Alesita, Antonio Sosa, Viry, Ugalde, Yaz, Beto, Charlie, Andy, Lily, Scarlett, Chris, Ara, Itzel y Agustín (que te nos adelantaste en el camino). Gracias a todos por los momentos vividos y porque su compañía y sus ocurrencias aligeraban los días difíciles.

A mis compañeros del laboratorio:

Clyo, Diego, Fany, Abraham, Alejandrina, Alberto, Mayel, Larissa, Augusto, Josué, Caro y Andrea por su compañerismo y apoyo en todo momento, gracias.

Kevin

Por esos impulsos que le diste a mi vida, sin percatarte de ello, gracias. La más clara señal de que las personas se cruzan en tu vida en el momento exacto.

A mi ser, a mi cuerpo

Por siempre buscar el lado positivo de las cosas y nunca dejarse vencer, porque cada día me permitió llegar y cumplir con los deberes escolares, sin importar las pocas horas de sueño.

A los Dioses del universo

Que me han permitido ser lo que soy y me han puesto en este camino con personas maravillosas, gracias.

DEDICATORIA

A MIS PADRES: Guille y Juan

Con amor, por confiar en mí siempre, este triunfo es de ustedes; no tengo palabras suficientes para agradecer todo lo que día a día hacen por mí y mis hermanos, sin duda han forjado una familia sólida. Gracias por inculcarme la lectura desde pequeña al regalarme esa enciclopedia que cambió mi vida y por los valores que hacen de mí una mujer recta y humilde, que si se cae seguro se levanta.

A mis hermanos: Juan Francisco y Paulina

Ustedes son uno de mis motores en la vida, llegar a casa y encontrarme con sus bromas es muy grato, gracias por confiar, creer en mí y soportar a veces mi mal humor. Saben que siempre voy a estar dispuesta a ayudarlos, este logro también es de ustedes.

A mi familia

Abuelitos, abuelitas, tíos y tías son parte importante de mi vida, gracias por su apoyo y por estar siempre unidos, en las buenas y en las malas.

A mis primos, “los men”, “los gorditos”

Desde el más chico al más grande, hacen que este camino sea muy grato y divertido. Gracias por enseñarme que pese a las obligaciones del trabajo o la escuela siempre hay momentos para compartir. Espero esta unión que tenemos, perdure al pasar de los años.

“No te preguntes qué necesita el mundo, pregúntate qué te hace sentir vivo y después sal y hazlo, porque el mundo necesita gente que esté viva”

Howard Thurman

Í N D I C E

RESUMEN	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. DOLOR E INFLAMACIÓN	3
II.1. Dolor.....	3
II.1.1. Clasificación del dolor.....	3
II.1.2. Mecanismo neurofisiológico del dolor.....	5
II.1.3. Nociceptores.....	6
II.1.4. Mecanismos centrales del dolor.....	7
II.1.5. Vías ascendentes.....	9
II.1.6. Modulación de la transmisión del dolor.....	13
II.2. Inflamación.....	14
II.2.1. Clasificación.....	14
II.2.2. Mecanismo de la inflamación.....	15
II.2.3. Mediadores inflamatorios.....	19
II.3 Tratamiento del dolor.....	25
II.4 Tratamientos farmacológicos para el dolor y la inflamación.....	27
II.4.1. Analgésicos no opioides.....	27
II.4.1.1. Mecanismo de acción.....	28
II.4.1.2. Ventajas de AINEs.....	29
II.4.1.3. Efectos secundarios asociados al uso de AINEs.....	30
II.4.2. Analgésicos opioides.....	30
II.4.2.1. Sistema opioide endógeno.....	30
II.4.2.2. Clasificación.....	31
II.4.2.3. Mecanismo de acción.....	32
II.4.2.4. Ventajas de los opioides.....	33
II.4.2.5. Efectos secundarios asociados al uso de opioides.....	33
II.5. Alternativas para el tratamiento del dolor y la inflamación.....	34
II.5.1. Plantas usadas en el tratamiento del dolor y la inflamación.....	35
II.5.2. Usos del género <i>Erythrina</i>	35
II.5.3. <i>Erythrina americana</i> Miller.....	37
II.5.3.1. Usos medicinales.....	38
II.5.3.2. Componentes químicos.....	38
III. ANTECEDENTES	40
III.1. Antecedentes experimentales con el género <i>Erythrina</i>	40
III.2. Antecedentes experimentales con <i>Erythrina americana</i>	41
IV. JUSTIFICACIÓN	43
V. HIPÓTESIS	43
VI. OBJETIVOS	44
VI.1. Objetivos generales.....	44
VI.2. Objetivos particulares.....	44
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	45

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DE
Erythrina americana MILLER (COLORÍN)**

VII.1. Material vegetal.....	45
VII.2. Preparación del extracto.....	45
VII.3. Animales.....	45
VII.4. Toxicidad aguda.....	45
VII.5. Modelos de nocicepción.....	46
a) Modelo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético.....	46
b) Modelo de placa caliente.....	46
c) Modelo de la formalina.....	46
VII.6. Modelo de inflamación.....	47
a) Edema auricular por TPA.....	47
VII.7. Detección cualitativa de metabolitos secundarios.....	47
VII.8. Cromatografía en capa fina.....	48
VII.9. Cuantificación de ácidos fenólicos y flavonoides totales.....	48
VII.10. Identificación de ácidos fenólicos y flavonoides por HPLC.....	49
VII.11. Análisis estadístico.....	49
VIII. RESULTADOS.....	50
VIII.1. Material vegetal.....	50
VIII.2. Toxicidad aguda LD ₅₀	50
VIII.3. Modelo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético.....	50
VIII.4. Placa caliente.....	51
VIII.5. Formalina.....	54
VIII.6. Edema auricular en ratón inducido por TPA.....	55
VIII.7. Detección cualitativa de metabolitos secundarios.....	57
VIII.8. Cromatografía en capa fina.....	59
VIII.9. Cuantificación de ácidos fenólicos y flavonoides totales.....	59
VIII.10. Identificación de ácidos fenólicos y flavonoides por HPLC.....	59
IX. DISCUSIÓN.....	62
IX.1. Toxicidad aguda LD ₅₀	62
IX.2. Contorsiones abdominales inducidas por ácido acético.....	62
IX.3. Placa caliente.....	64
IX.4. Formalina.....	65
IX.5. Edema auricular inducido por TPA.....	67
IX.6. Análisis Preliminar fitoquímico.....	68
IX.7. Cuantificación de ácidos fenólicos y flavonoides totales.....	69
IX.8. Análisis con HPLC.....	69
X. CONCLUSIONES.....	72
XI. PERSPECTIVAS DEL ESTUDIO.....	73
XII. GLOSARIO.....	74
XIII. LITERATURA CITADA.....	76
XIV. ANEXO 1.....	88

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Principales tipos de dolor, según su mecanismo fisiopatológico.....	5
Figura 2.	Clasificación de nociceptores en función de su localización.....	7
Figura 3.	Representación de los diferentes láminas de la sustancia gris.....	8
Figura 4.	Esquema de la teoría de la compuerta del dolor.....	9
Figura 5.	Tracto espinotalámico.....	11
Figura 6.	Corteza somatosensorial primaria y área de asociación somatosensorial.....	12
Figura 7.	Fase vascular del proceso inflamatorio.....	15
Figura 8.	Fase celular del proceso inflamatorio.....	17
Figura 9.	Fagocitosis y destrucción celular.....	18
Figura 10.	Mecanismos de acción de la inflamación aguda y crónica.....	20
Figura 11.	Mediadores de la inflamación aguda derivados del plasma y de células.....	21
Figura 12.	Mecanismo de acción de los AINEs.....	29
Figura 13.	Mecanismo de acción de los analgésicos opioides.....	33
Figura 14.	Mapa de distribución del género <i>Erythrina</i>	35
Figura 15.	Diversos usos del género <i>Erythrina</i>	36
Figura 16.	Media \pm EEM del número de contorciones inducidas por la administración de ácido acético.....	51
Figura 17.	Media \pm EEM de la latencia de retirada en el modelo de placa caliente a los 30 minutos de administrados los tratamientos.....	52
Figura 18.	Media \pm EEM de la latencia de retirada en el modelo de placa caliente a los 60 minutos de administrados los tratamientos.....	53
Figura 19.	Media \pm EEM de la latencia de retirada en el modelo de placa caliente a los 90 minutos de administrados los tratamientos.....	53
Figura 20.	Media \pm EEM del tiempo acumulado de lamidas a la pata en la primera fase (0-5 min) del modelo de la formalina.....	54
Figura 21.	Media \pm EEM del tiempo acumulado de lamidas a la pata en la segunda fase (5-30 min) del modelo de la formalina.....	55
Figura 22.	Media \pm EEM del porcentaje de inflamación en el modelo de edema auricular inducido con TPA	56
Figura 23.	Media \pm EEM del porcentaje de inhibición en el modelo de edema auricular inducido con TPA	57
Figura 24.	Cromatografía en capa fina para flavonoides y b. Cromatografía en capa fina para compuestos fenólicos	59
Figura 25.	HPLC de ácidos fenólicos (280 nm) presentes en el liofilizado de hojas de <i>E. americana</i>	60
Figura 26.	HPLC de flavonoides (a: 316 nm, b: 365 nm c: 254 nm) presentes en el liofilizado de hojas de <i>E. americana</i>	61

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Escalera analgésica de la OMS.....	3
Cuadro 2.	Usos medicinales de diferentes especies del género <i>Erythrina</i>	27
Cuadro 3.	Usos medicinales tradicionales de diferentes especies del género <i>Erythrina</i>	37
Cuadro 4.	Porcentaje de inhibición en el modelo de contorsiones abdominales...	51
Cuadro 5.	Porcentaje de inhibición en el modelo de formalina.....	55
Cuadro 6.	Preliminar fitoquímico del liofilizado de hojas de <i>E. americana</i>	58

RESUMEN

Tanto el dolor como el proceso inflamatorio están destinados a activar una señal de alarma en el organismo ante agresiones que afecten su integridad, aunado a esto son de las razones más frecuentes de consulta médica y representan un problema grave para la población. Los fármacos para aliviarlos poseen alta eficacia, pero graves efectos secundarios; lo que hace necesaria la búsqueda de nuevos componentes activos teniendo como fuente principal las plantas. *Erythrina americana* Miller (colorín) es una especie mexicana que cuenta con reportes en la medicina tradicional de su uso para tratar la inflamación y el dolor. En este estudio con el liofilizado de hojas de *E. americana* se evaluó el efecto tóxico (Lorke *et al.*, 1983), la actividad antinociceptiva empleando los modelos de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético, placa caliente y formalina con dosis de 100, 200 y 400 mg/kg y la actividad antiinflamatoria con el modelo de edema auricular inducido por TPA. Al liofilizado se le realizó un análisis preliminar fitoquímico, se cuantificaron ácidos fenólicos y flavonoides totales así como la identificación de los mismos por HPLC. Las dosis de 1600, 1900 y 5000 mg/kg del liofilizado de hojas de *Erythrina americana* no fueron tóxicas. El liofilizado presentó actividad antinociceptiva en los tres modelos empleados y en el ensayo antiinflamatorio la aplicación tópica de 1 y 2 mg/oreja redujo significativamente el edema. El estudio presenta las primeras evidencias experimentales que corroboran el uso tradicional de *Erythrina americana* como antinociceptivo y antiinflamatorio. El análisis preliminar fitoquímico y los resultados de HPLC permiten proponer que probablemente los flavonoides y los ácidos fenólicos presentes en el liofilizado de hojas de *E. americana*, son algunos de los compuestos responsables de la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria encontrada. Sin embargo, deben realizarse los estudios para descartar si saponinas y taninos también contribuyen o no con la actividad estudiada.

I. INTRODUCCIÓN

El dolor es un síntoma que se ha convertido en un problema de salud pública, dado que está asociado a padecimientos que son la principal causa de morbimortalidad en el país tales como diabetes mellitus, cáncer, accidentes y enfermedades del corazón; por lo que tratarlo es una necesidad primordial (Covarrubias-Gómez, 2008). El dolor se produce cuando a través de un sistema aferente normalmente inactivo, llegan a distintas áreas corticales del sistema nervioso central (SNC) estímulos, que producen una respuesta refleja, desagradable y emocional, encaminada a la protección del organismo, el dolor que experimenta cada individuo es el resultado de una interacción de múltiples variables biológicas, psicológicas, sociales y culturales (López, 1996).

El mecanismo de la percepción del dolor es inseparable del mecanismo mediante el cual se inicia el proceso inflamatorio ya que las alteraciones tisulares producidas por una lesión, liberan sustancias químicas con capacidad algógena que sensibilizan o activan a los nociceptores (Cervero & Laird, 2002). Así mismo el dolor es uno de los 4 signos de la inflamación, siendo los otros calor, rubor y edema (Murphy, 2012).

Los fármacos para aliviar el dolor y la inflamación poseen alta eficacia, sin embargo su uso por largos periodos de tiempo, resulta inconveniente debido a los efectos secundarios que se presentan; razón por la que grupos de investigación han continuado con la búsqueda de nuevos compuestos con propiedades analgésica y antiinflamatoria. Un recurso principal lo constituyen las plantas medicinales, por ejemplo, se ha reportado que una infusión de *Oenothera rosea* (hierba del golpe) es utilizada para aliviar el dolor de estómago, de anginas y el dolor muscular; por otro lado, aplicada de manera externa en cataplasma se usa en todo tipo de inflamaciones. *Aristolochia foetida* Kunthy (hierba del indio) es freída en manteca y se aplica como cataplasma para alivia cualquier dolor. *Erythrina americana* es una planta mexicana que también ha sido empleada para curar el dolor y la inflamación. En los estados de Guerrero, Michoacán, Morelos y

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)

Puebla, se hierva un trozo de la corteza y se aplican vaporizaciones en la mejilla o la semilla molida, sola o con sebo para aliviar el dolor de muelas (Atlas de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009). En el estado de Veracruz las hojas son utilizadas para úlceras o abscesos y para curar enfermedades causadas por las picaduras de insectos; también los frutos son aplicados en inflamación de brazos, piernas, cabeza y ojos (Amo, 1979 en Hastings, 1990).

El género *Erythrina* ha sido objeto de investigación en otras partes del mundo evaluando sus propiedades antinociceptivas y antiinflamatorias destacando los estudios de Saidu *et al.* (2000) quienes evidenciaron dichas propiedades utilizando el extracto acuoso de corteza fresca de *Erythrina senegalensis*, Miño *et al.* (2002) administrando el extracto acuoso de hojas de *Erythrina crista-galli*, De Oliveira *et al.* (2012) empleando extractos hidroalcohólicos de raíz, corteza de raíz y tallo así como de la fracción clorofórmica y de acetato de etilo de *Erythrina mulungu*. Y Muragalakshmi *et al.* (2014) utilizando el extracto acuoso, etanólico y de acetato de etilo de hojas de *Erythrina variegata*.

Hasta el momento, no hay estudios que evalúen experimentalmente las propiedades antinociceptiva y antiinflamatoria de especies de *Erythrina* que crecen en nuestro país, a pesar de que existen reportes del uso de *Erythrina americana* para aliviar el dolor y la inflamación (Atlas de la Medicina Tradicional Mexicana). Por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria del liofilizado de hojas de *Erythrina americana*.

II. DOLOR E INFLAMACIÓN

II.1. Dolor

El **dolor** es un síntoma universalmente asociado al concepto de enfermedad y constituye una experiencia desagradable que afecta el equilibrio en la vida de la persona a nivel psicológico, fisiológico, social y económico, lo sufren miles de personas en todo el mundo por lo cual controlarlo es una necesidad primordial. De acuerdo con la Asociación internacional para el Estudio del Dolor (IASP por sus siglas en inglés) el dolor se ha definido como: “una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial, o descrita en términos de ese daño” (Bilbeny & Paeile, 2005).

II.1.1. Clasificación del dolor

El dolor puede clasificarse de acuerdo a su evolución en **agudo** o **crónico** (Cuadro 1). El primero está asociado a una lesión tisular inmediata y su duración es limitada; este tipo de dolor desencadena una respuesta de alarma en la persona, encaminada a evitar una lesión mayor mediante la activación del sistema nervioso simpático (Twaddle & Cooke, 2006); es de naturaleza nociceptiva y aparece por la estimulación química, mecánica o térmica de nociceptores específicos (Otermin, 2003). El dolor crónico se perpetúa después de que la lesión tisular se haya curado, teniendo una duración de meses perdiendo su función de alarma (Paeile & Bilbeny, 2005).

DOLOR AGUDO	DOLOR CRÓNICO
Desencadenado por una lesión inmediata	Se perpetúa tras la resolución o curación de la lesión tisular
Protege frente a lesiones más intensas	No tiene función útil
Activa nociceptores	Conlleva la sensibilización central y anomalías estructurales permanentes del sistema nervioso central
Duración limitada	Duración prolongada
Remite con la resolución y curación de la lesión	Persiste mucho después de la resolución y curación de la lesión
Directamente asociado con lesiones, trastornos postoperatorios y procesos patológicos	Asociado remotamente con lesiones, problemas quirúrgicos y procesos patológicos
Responde al tratamiento	Persiste al tratamiento

Cuadro 1. Características que diferencian el dolor agudo y crónico. Tomado de Twaddle & Cooke, 2007.

En función de los mecanismos fisiopatológicos, el dolor puede diferenciarse en **nociceptivo**, **neuropático** o **inflamatorio** (Figura 1).

El dolor nociceptivo es la consecuencia de una lesión somática, el estímulo es potencialmente dañino para la integridad física, los nociceptores estimulados se localizan en la piel, músculos o articulaciones (Marhuenda, 2005). Incluye los dolores somático y visceral. En general el dolor somático está bien localizado en estructuras cutáneas superficiales u osteomusculares más profundas (p. ej., heridas quirúrgicas en el postoperatorio inmediato, metástasis ósea, distensión muscular). El dolor visceral suele estar mal localizado y, a menudo referido desde estructuras más profundas, como los intestinos (p. ej., estreñimiento, apendicitis incipiente) (Twaddle & Cooke, 2006).

El dolor neuropático es el resultado de una lesión y alteración de la transmisión de la información nociceptiva a nivel del sistema nervioso central o periférico; una de sus características es la aparición de **alodinia**, dolor frente a estímulos que habitualmente no son dolorosos (Otermin, 2003), de manera característica, el síntoma se presenta como una sensación basal dolorosa o quemante (**disestesia**) y aparece el fenómeno conocido como **hiperalgesia**, el cual ocurre cuando el dolor puede persistir en el tiempo más que el estímulo (Marhuenda, 2005).

El dolor inflamatorio se transmite por nervios normales y vías como las del dolor nociceptivo. Sin embargo, el grado de daño tisular conduce a la activación de mediadores inflamatorios agudos y crónicos que potencian el dolor, disminuyen los umbrales de conducción y sensibilizan el sistema nervioso central al estímulo entrante. Algunos ejemplos son los trastornos inflamatorios crónicos como las artropatías y artritis, las vasculopatías isquémicas, las heridas postoperatorias evolucionadas y las quemaduras (Twaddle y Cooke, 2006).

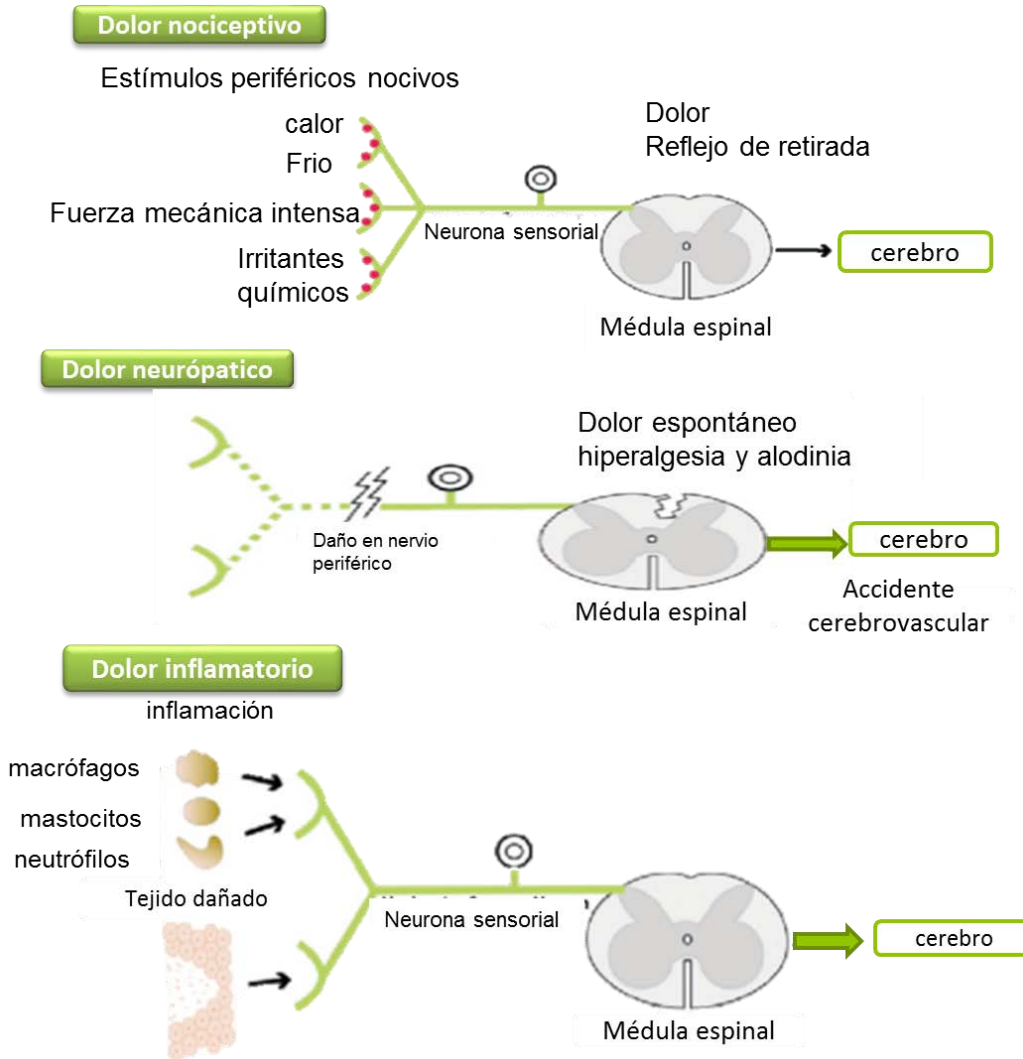


Figura 1. Los tres principales tipos de dolor, según su mecanismo fisiopatológico. Modificado de Woolf, 2004.

II.1.2. Mecanismo neurofisiológico del dolor

Como esquema inicial, se puede decir que para percibir un dolor es necesario: **a)** una estructura periférica que actúe como receptor; **b)** una sinapsis en la médula espinal; **c)** vías de conducción desde la médula espinal hasta los centros superiores como bulbo, diencefalo y corteza; **d)** vías descendentes desde los centros superiores: corteza, tálamo y núcleos reticulares, a la médula, que actúan como mecanismos principalmente inhibitorios (Paeile & Bilbeny, 2005).

II.1.3. Nociceptores

Los nociceptores son un grupo especial de receptores sensoriales capaces de diferenciar entre estímulos inocuos y nocivos. Constituyen las terminaciones periféricas de las fibras aferentes sensoriales primarias. Reciben y transforman los estímulos locales (químicos, mecánicos o térmicos) en potenciales de acción que son transmitidos hacia el sistema nervioso central (Otermin, 2003).

En función de su localización los nociceptores pueden clasificarse en **cutáneos**, **musculo-articulares** y **viscerales** (Figura 2) y en función del tipo de fibra que lo construyen, en fibras **A δ** o en **fibras C** (Muriel & García, 2007).

Las **fibras A δ** tienen una capa de mielina delgada de 2 a 5 μm de diámetro, conducen los impulsos a velocidades de 12 a 35 m/s y las **fibras C** no mielinizadas (de 0.4 a 1.2 μm de diámetro) que conducen impulsos a bajas velocidades de 0.5 a 2 m/s (Barrett *et al.*, 2013). La diferencia de velocidad es lo que explica la doble percepción de un estímulo doloroso; uno inicial breve, bien localizado de tipo picazón o punzante transmitido por las fibras A δ y otro profundo de tipo “quemadura”, difuso, generalmente mal tolerado por el paciente, transmitido por las fibras C (Paeile & Bilbeny, 2005).

Es interesante destacar que existe un grupo especial de receptores, los denominados **silentes** o dormidos, que se encuentran en diferentes tejidos y se vuelven activos durante la inflamación, despolarizándose ante estímulos que normalmente no ocasionan dolor, como por ejemplo el mover una articulación inflamada, este fenómeno puede contribuir a la hiperalgesia (Muriel & García, 2007).

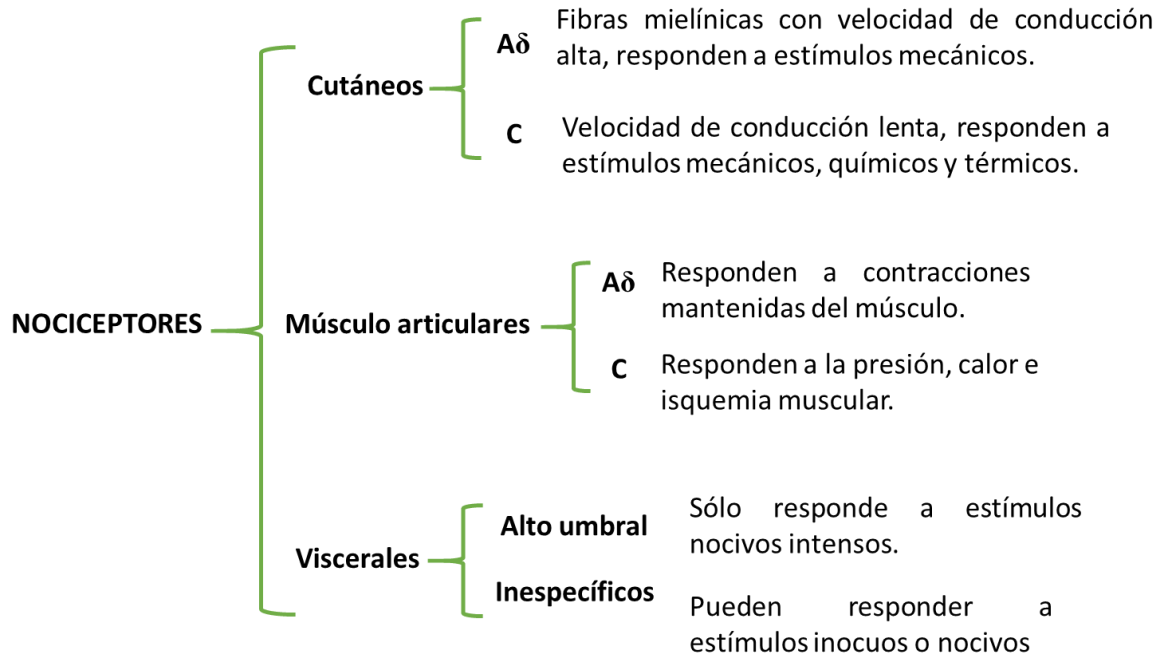


Figura 2. Clasificación de nociceptores en función de su localización. Modificado de Paeile & Bilbeny, 2005.

II.1.4. Mecanismos centrales del dolor

Las fibras aferentes de los nociceptores tienen sus cuerpos celulares en los ganglios raquídeos o de la raíz dorsal, alcanzando la médula espinal a través de las raíces dorsales y terminando en la sustancia gris del asta dorsal medular. Este recorrido es el correspondiente a las neuronas de primer orden (Otermin, 2003).

La porción central de los axones A δ y C que transportan información de dolor y temperatura desde el cuerpo, finaliza en el asta dorsal de la médula espinal (Rubinson & Lang, 2009). Las fibras A δ y C hacen sinapsis con una segunda neurona, que puede ser fundamentalmente de dos tipos: **a)** una que es activada específicamente por estímulos nociceptivos, llamada neurona específica (NE) y **b)** otra que no presenta esta especificidad, llamada neurona de amplio rango dinámico (ARD) o multirreceptiva. En esta zona también se encuentran neuronas no nociceptivas (NN) las que hacen sinapsis con las fibras A β .

La sinapsis de la neurona periférica y de las neuronas cuyo soma se encuentra en el asta posterior es específica en distintas láminas de Rexed (Paeile & Bilbeny, 2005). Las fibras A δ alcanzan las láminas I y V de la sustancia gris, mientras que las fibras C finalizan en las láminas I y II (figura 3). Los patrones diferentes de terminación de las fibras A δ y C en la médula espinal sugieren que los mensajes que transportan al sistema nervioso central se mantienen separados (Rubinson & Lang, 2009).

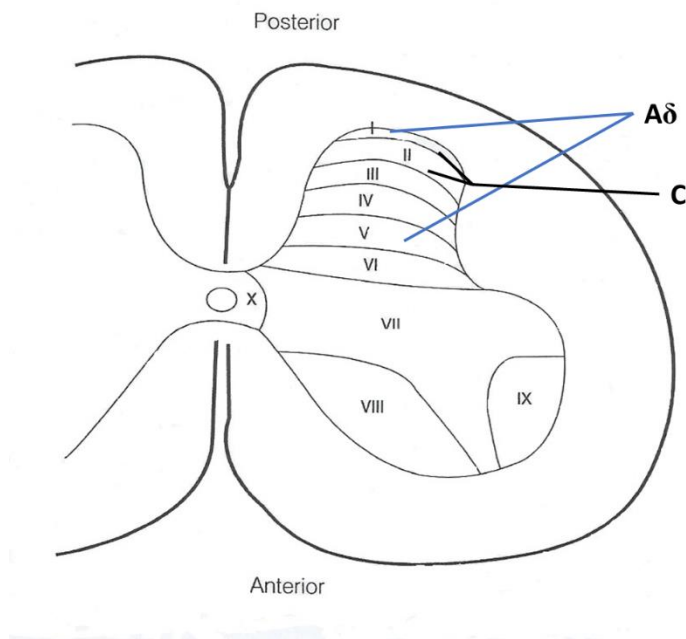


Figura 3. Representación de las diferentes láminas de la sustancia gris, basada en la división propuesta por Rexed. Modificado de Paeile & Bilbeny 2005.

Teoría de la compuerta del dolor. La teoría de la compuerta (Figura 4) menciona que ocurre una modulación que se da en la lámina II de Rexed también llamada sustancia gelatinosa (SG), en esta lámina hay células de transmisión (células T). La teoría sostiene que la sensación dolorosa transmitida por fibras lentas (A δ y C) y originada por un estímulo nocivo, activa a las células T y sigue adelante hacia el sistema talámico para que, esa señal sea registrada e interpretada como dolor. Las fibras A β no nociceptivas que responden al tacto ligero cierran esta puerta (Calliet *et al.*, 1990; Coren, 2001). De esta manera los estímulos inocuos, como

frotar un área herida pueden bloquear o reducir sensaciones dolorosas (Rubinson & Lang, 2005).

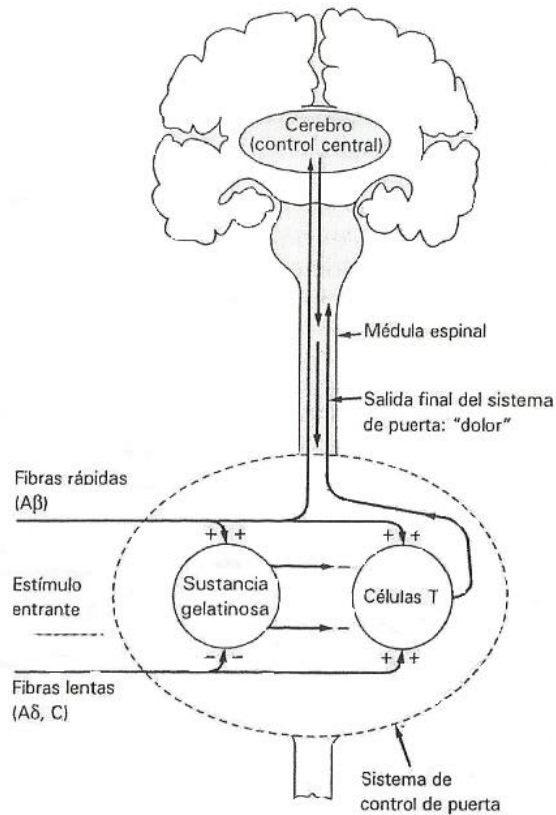


Figura 4. Esquema de la teoría de la compuerta del dolor. Tomado de Coren, 2001.

II.1.5. Vías ascendentes

Los axones sensitivos que entran en la médula espinal a través de las raíces dorsales de los nervios raquídeos se separan, de forma que se constituyen vías sensitivas del dolor (Barr, 2009), donde se incluyen el tracto espinotalámico, espinorreticular y espinomesencefálico (Rubinson & Lang, 2009).

Tracto espinotalámico (Figura 5) también conocido como sistema ventrolateral o vía del dolor y la temperatura (Barr, 2009). Es considerada como la vía más importante para la transmisión de impulsos nociceptivos en el humano. Está compuesta de dos haces: **el lateral** que conduce los estímulos nociceptivos más rápidamente, procesa en forma discriminativa la información referente a

estímulos periféricos en tiempo y espacio y el **haz medio** que está involucrado en respuestas reflejas suprasegmentarias relacionadas con la circulación, ventilación y función endócrina. Asimismo, provoca el poderoso impulso motivacional (Aldrete *et al.*, 2000).

El tracto espinotalámico se origina de neuronas de segundo orden localizadas en la médula espinal (principalmente, láminas I y de la IV a la VI). Los axones de estas células cruzan al lado opuesto de la médula en o cerca de su nivel de origen. Después, ascienden hacia el encéfalo por la parte ventral del funículo lateral y, a continuación, a través del tronco encefálico hacia el tálamo, donde finalizan sobre neuronas de tercer orden. Las células espinotalámicas que transportan dolor y temperatura alcanzan la porción correspondiente al núcleo ventral inferior (NVI) en el complejo ventroposterior (aunque algunas terminan también en el núcleo ventral lateral), el núcleo posterior y los núcleos intralaminares del tálamo. Las señales nociceptivas se reenvían después hacia varias áreas corticales, incluyendo no sólo la corteza somatosensorial sino también áreas corticales que están implicadas en respuestas afectivas, como la circunvolución cingular y la ínsula, que tienen funciones del sistema límbico (Rubinson & Lang, 2009).

Las células del tracto espinotalámico poseen campos receptores inhibidores nociceptivos. Los neurotransmisores que pueden inhibir las células del tracto espinotalámico incluyen los aminoácidos inhibidores GABA y glicina, así como monoaminas y los péptidos opioides endógenos (Rubinson & Lang, 2009).

Tracto espinoreticular y espinomesencefálico. Estos tractos se originan en neuronas del asta dorsal de la médula espinal al igual que el tracto espinotalámico, aunque el tracto espinoreticular tiene una mayor proporción de neuronas situadas en la zona intermedia ventral medular (laminas VII/VIII). Las fibras espinoreticulares y espinomesencefálicas se decusan en la médula espinal y acompañan al tracto espinotalámico en su trayecto ascendente por el sector anterolateral (Prats & Molina, 2006), pero las fibras del tracto espinoreticular terminan estableciendo sinapsis con neuronas de la formación reticular en el bulbo

raquídeo, la protuberancia y el mesencéfalo. Este tracto proporciona una vía aferente para la formación reticular que desempeña un papel importante para su influencia en los niveles de conciencia. La formación reticular, que se proyecta hacia el complejo intralaminar del tálamo y después a amplias áreas de la corteza cerebral, está implicada en mecanismos de atención. La formación reticular, además, da lugar a proyecciones reticuloespinales descendentes que contribuyen a los sistemas descendentes que controlan la transmisión del dolor (Rubinson & Lang, 2009).

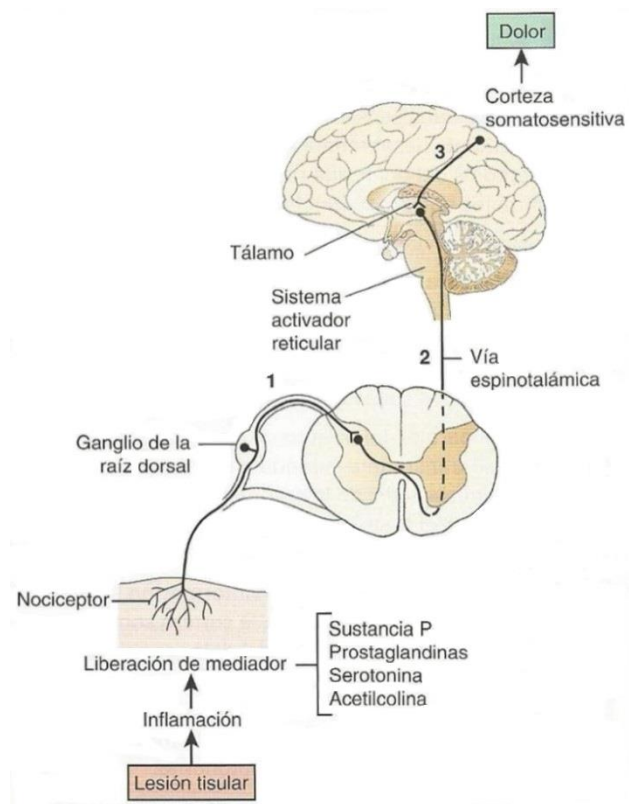


Figura 5. Tracto espinotalámico. Tomado de Noble & Litwack, 2011.

El tracto **espinomesencefálico** termina principalmente en la *formación reticular mesencefálica*, la cual forma parte del sistema reticular activador ascendente que participa en los núcleos intralaminares del tálamo, en los mecanismos de alerta y activación cortical; *la sustancia gris periacueductal* formada por diferentes grupos neuronales organizados en columnas longitudinales que rodean el acueducto cerebral, recibe proyecciones del hipotálamo y de la

amígdala, considerándose un gran centro de integración somato visceral que interviene en las reacciones defensivas y en mecanismos analgésicos (Prats & Molina, 2006), la estimulación en la sustancia gris periacueductal puede provocar vocalización y comportamiento de evitación del estímulo nocivo y el *colicuo superior* que es una estructura del techo del mesencéfalo importante en la coordinación de reflejos motores, tiene entradas somatosensoriales, visuales, y auditivas y envía proyecciones directas a los núcleos motores. Algunos axones de este tracto alcanzan incluso directamente el hipotálamo (Prats & Molina, 2006).

El tracto espinomesencefálico proporciona una de las diferentes vías por las que los estímulos nocivos pueden disparar respuestas emocionales (Rubinson & Lang, 2009).

La percepción, o procesamiento final de la información somatosensitiva, implica estar consciente de los estímulos, localización y discriminación de sus características e interpretación de su significado, estos procesos se dan hasta que la información llega a la corteza somatosensitiva; ya que en el tálamo la información sensorial se localiza de forma poco ordenada y se percibe como un sentido general. La corteza somatosensitiva (Figura 6) se localiza en el lóbulo parietal, que yace detrás del surco central y por encima del surco lateral (Noble & Litwack, 2011).

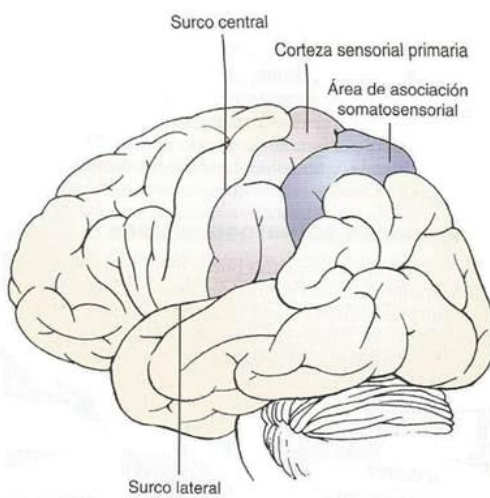


Figura 6. Corteza somatosensitiva primaria y área de asociación somatosensitiva. Tomada de Noble & Litwack, 2011.

II.1.6. Modulación de la transmisión del dolor

Paralelamente a las vías de conducción del dolor, se ha establecido la existencia de un conjunto de vías descendentes que modulan la transmisión ascendente de la información nociceptiva. Ejercen su acción sobre los diferentes relevos sinápticos principalmente a nivel del asta dorsal medular, del tálamo o de la corteza cerebral. Entre las vías mejor estudiadas destacan: la sustancia gris periacueductal-núcleo magno del rafe-asta dorsal medular (Prats & Molina, 2006).

La estimulación en la sustancia gris periacueductal mesencefálica (SGP), el *locus coeruleus* o los núcleos raquídeos del rafe inhiben las neuronas nociceptivas a nivel de la médula espinal y del tronco encefálico, incluyendo las células de los tractos espinotalámico y trigeminotalámico. Otras vías inhibitoras se originan en la corteza sensoriomotora, el hipotálamo y la formación reticular (Rubison & Lang, 2009).

La SGP es una parte de una vía descendente que modula la transmisión del dolor mediante la inhibición de la transmisión de fibras aferentes primarias en el asta dorsal. Estas neuronas de la SGP se proyectan directamente a dos grupos de neuronas en el tronco del encéfalo y las activan: las neuronas serotoninérgicas presentes en el núcleo del rafe magno y las neuronas catecolaminérgicas en el bulbo ventromedial rostral. Las neuronas presentes en estas dos regiones se proyectan al asta dorsal de la médula espinal donde la serotonina y la noradrenalina liberadas inhiben la actividad de las neuronas del asta dorsal que reciben impulsos de fibras aferentes nociceptivas. Esta inhibición ocurre, al menos en parte, por la activación de las interneuronas que contienen encefalina y que están presentes en el asta dorsal. Asimismo, hay un grupo de neuronas catecolaminérgicas en el tronco del encéfalo ubicadas en el *locus coeruleus* que son elementos de esta vía moduladora del dolor descendente. Estas neuronas de la protuberancia anular también ejercen su efecto anestésico mediante la liberación de noradrenalina en el asta dorsal (Barrett *et al.*, 2013).

II.2. INFLAMACIÓN

El mecanismo de la percepción del dolor es inseparable del mecanismo mediante el cual se inicia el proceso inflamatorio, que es la respuesta de defensa del tejido vascularizado ante un estímulo agresor. Las células afectadas liberan varias sustancias conocidas como mediadores químicos de la inflamación, que actúan sobre las vénulas y las terminaciones nerviosas (Barr, 2009). Así mismo el **dolor**, es uno de los cuatro signos cardinales de la inflamación, siendo los otros **calor**, **rubor** (enrojecimiento) y **tumor** (edema). La respuesta inflamatoria es una reacción sistémica y local, de los tejidos y la microcirculación frente a un estímulo, se caracteriza por la producción de mediadores inflamatorios y movimiento de líquido vascular y leucocitos desde la sangre a los tejidos lesionados. Esta respuesta localiza y elimina el estímulo o agente causal del proceso inflamatorio y repara el tejido lesionado para el retorno de la normalidad estructural y funcional (Murphy, 2012).

II.2.1. Clasificación

El proceso inflamatorio puede ser agudo o crónico. La **inflamación aguda** tiene un comienzo rápido y corta duración, que va de pocos minutos a varios días, y se caracteriza por exudación de líquidos y proteínas plasmáticas y acumulación predominantemente de leucocitos polimorfonucleares. (Kumar *et al.*, 2008), puede desencadenarse por diversos estímulos, como infecciones, reacciones inmunitarias, traumatismos contusos o penetrantes, agentes físicos o químicos (p. ej., quemaduras, congelamiento, radiación, productos cáusticos) y necrosis tisular por cualquier causa (Merkle, 2011). **La inflamación crónica** es más insidiosa que la inflamación aguda, tiene una mayor duración (de días a años) y queda tipificada por el flujo de linfocitos y macrófagos con proliferación vascular y fibrosis (cicatrización) (Kumar *et al.*, 2008).

II.2.2. Mecanismo

La inflamación aguda tiene dos etapas: la etapa vascular y la etapa celular. La **fase vascular** (Figura 7) se caracteriza por cambios en los vasos sanguíneos, en la zona de la lesión. Comienza con vasoconstricción momentánea, seguida poco después por vasodilatación, la cual afecta las arteriolas y vénulas, con el aumento consecuente del flujo sanguíneo capilar; esto causa calor y enrojecimiento, dos de los signos cardinales de la inflamación. Posteriormente se presentan cambios estructurales (aumento de la permeabilidad vascular) que hacen posible la salida de proteínas plasmáticas de la circulación (exudado) hacia el espacio extravascular. La pérdida de proteínas reduce la presión osmótica capilar y eleva la presión osmótica intersticial; esto junto al incremento de la presión capilar, permite la salida de abundante líquido que se acumula en los espacios tisulares, lo que da lugar al aumento de volumen, dolor y alteración funcional, que son los otros signos cardinales de la inflamación. Conforme el líquido sale de los vasos, el flujo sanguíneo experimenta estasis y la sangre se coagula. Esto ayuda a localizar la extensión de los microorganismos infectantes (Merkle, 2011; Murphy, 2012).

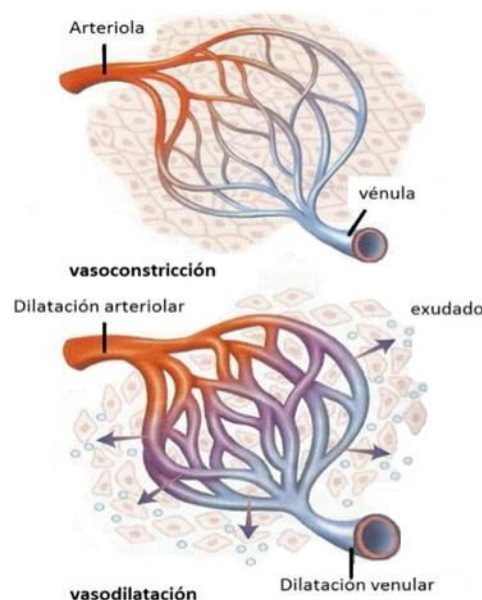


Figura 7. Fase vascular del proceso inflamatorio. Tomada de Merkle, 2011.

La **fase celular** (Figura 8) implica la llegada de leucocitos (sobre todo neutrófilos) al lugar de la lesión de manera que puedan ejercer sus funciones normales para defensa del hospedero. Posteriormente se da el fenómeno de **marginación y adhesión leucocitaria**, o unión de los leucocitos a las paredes de los vasos, para que esto ocurra es necesaria la presencia de moléculas de adhesión celular. Primero se establecen uniones laxas que se deshacen con facilidad (mediada por las selectinas), tras despegarse, los leucocitos se desplazan para unirse otra vez más adelante en una unión más firme (mediada por las integrinas; CD17/CD18 presentes en leucocitos y de miembros de la superfamilia de las inmunoglobulina; ICAM presentes en las células endoteliales) (González & Fariñas, 2004).

La adhesión leucocitaria provoca que las células endoteliales se separen, lo que posibilita que los leucocitos extiendan sus pseudópodos y **transmigren** por la pared vascular y, bajo la influencia de los factores quimiotácticos, migren en los tejidos hacia la lesión por **quimiotaxis** o locomoción, orientada en favor de un gradiente químico (Merkle, 2011). Tanto sustancias exógenas como endógenas pueden ser quimiotácticas para los leucocitos, como son 1) productos bacterianos, sobre todo péptidos con terminales N-formilmetionina; 2) citocinas, especialmente las de la familia quimiocinas; 3) componentes del sistema del complemento y 4) productos de la vía metabólica de la lipooxigenasa del ácido araquidónico (AA), sobre todo leucotrieno B4 (LTB4), estos mediadores se producen en respuesta a infecciones y daño tisular y durante las reacciones inmunológicas (Kumar *et al.*, 2008).

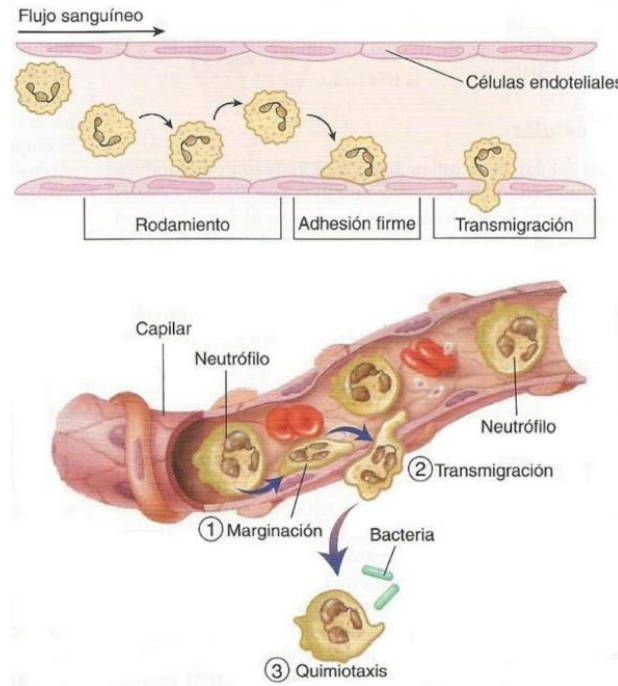


Figura 8. Fase celular del proceso inflamatorio. Tomada de Merkle, 2011.

Finalmente, tras llegar al foco de la lesión los leucocitos desarrollan su función defensiva, que se establece fundamentalmente gracias a la **fagocitosis** y a la producción de sustancias con capacidad destructora. En la fagocitosis (figura 8) el fagocito hace que pasen a su interior diversos tipos de materias particuladas, como las bacterias. Este fenómeno es facilitado por la **opsonización** o recubrimiento de la materia a fagocitar (González & Fariñas, 2004). La opsonización de los microbios mediante el factor C3b del complemento y anticuerpos facilita la identificación del patógeno por los receptores C3b y Fc para anticuerpos en los neutrófilos. La activación del receptor inicia la señalización intracelular y el acoplamiento de actina en el neutrófilo, lo que conduce a la formación de pseudópodos que rodean al microbio formando un fagosoma, el cual se fusiona con un lisosoma intracelular para formar un fagolisosoma al cual se liberan enzimas lisosómicas y radicales de oxígeno para destruir y degradar el microbio (Merkle, 2011).

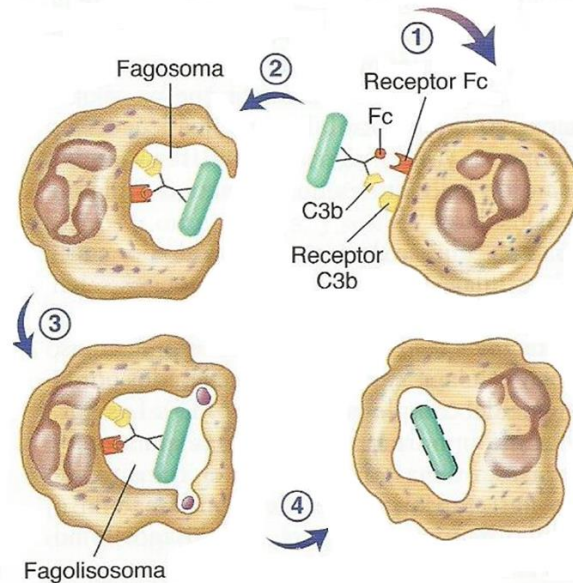


Figura 9. Fagocitosis y destrucción celular. Tomada de Merkle, 2011.

Tras finalizar esta fase de destrucción, comienza una fase de **reparación** caracterizada por la emigración y proliferación de las células del tejido conectivo. Las células endoteliales dan lugar a los vasos y los fibroblastos al tejido intersticial (González & Fariñas, 2004).

Desenlaces de la inflamación aguda.- Aunque las consecuencias de la inflamación aguda se modifican por la naturaleza e intensidad de la lesión, el sitio y tejido afectados, y la capacidad de huésped para organizar una respuesta, la inflamación aguda tiene, generalmente uno de estos tres desenlaces:

- 1) **Resolución completa:** cuando la lesión es de duración breve, la destrucción de tejido es pequeña y el tejido es capaz de regenerarse implica la neutralización o eliminación de mediadores químicos, eliminación de líquido de edema y eliminación de macrófagos.
- 2) **Cicatrización o fibrosis:** ocurre cuando la inflamación tiene lugar en tejidos que no se regeneran o después de una destrucción sustancial de tejidos, entonces los extensos exudados fibrinosos que no se absorben por completo se organizan por crecimiento hacia dentro formando una masa de tejido fibrinoso.

3) Evolución hacia la inflamación crónica (Figura 10).

Inflamación crónica.- Cuando la inflamación aguda no resuelve el problema o se trastorna, sobreviene la inflamación crónica. Las células inflamatorias persisten, el estroma responde mediante hiperplasia y la destrucción hística y la cicatrización llevan a la disfunción orgánica. El proceso puede localizarse, pero es más frecuente que progrese hasta causar enfermedades incapacitantes como una enfermedad pulmonar crónica, artritis reumatoide, asma, colitis ulcerativa, enfermedades granulomatosas, enfermedades autoinmunitarias y dermatitis crónica (Murphy, 2012).

En contraste con la inflamación aguda, que se distingue por los cambios vasculares, edema y un infiltrado predominantemente de neutrófilos, la inflamación crónica se caracteriza por:

- Infiltración con células mononucleares, incluidos macrófagos, linfocitos, y células plasmáticas.
- Destrucción tisular, en gran medida inducida por los productos de las células inflamatorias.
- Reparación, que implica la proliferación de nuevos vasos (angiogénesis) y fibrosis (Kumar *et al.*, 2008).

II.2.3. Mediadores inflamatorios

Los mediadores se caracterizan por: poder ser producidos localmente por células en el sitio de la inflamación, o pueden estar circulando en el plasma, la mayoría induce sus efectos al unirse a receptores específicos en las células diana, pueden estimular las células diana para liberar moléculas efectoras secundarias y las acciones de la mayoría de los mediadores se hallan reguladas (Kumar *et al.*, 2008).

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)

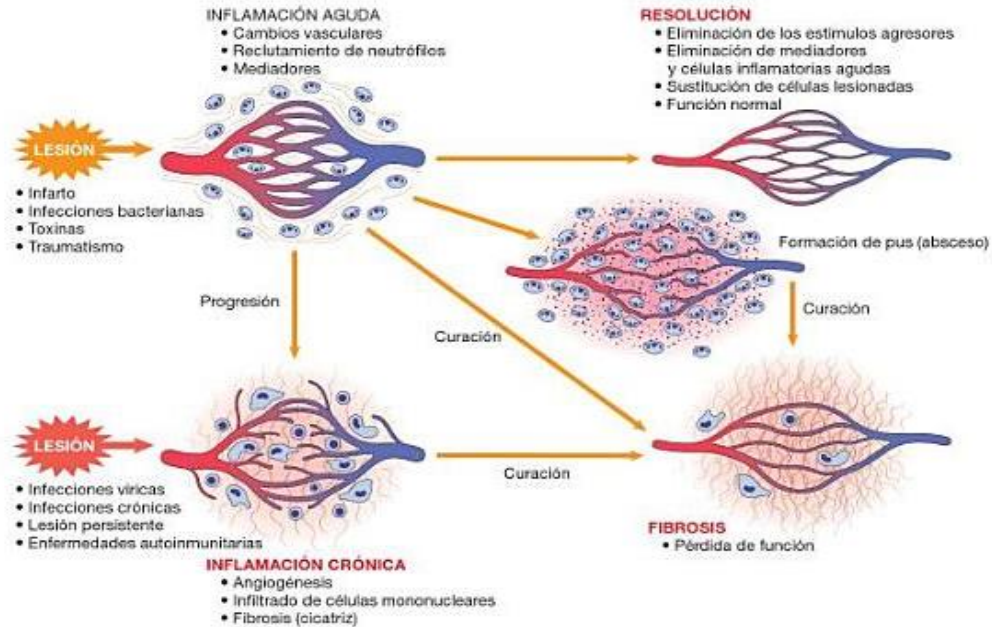


Figura 10. Esquema de los mecanismos de acción aguda y crónica.
Tomado de Kumar *et al.* 2008.

Muchos mediadores químicos son parte integral de la iniciación, amplificación, y finalización del proceso inflamatorio. Los mediadores derivados del plasma y de las células actúan armónicamente en la activación de las células al unirse a receptores específicos, activando células, reclutándolas para lugares dañados y estimulando la liberación de mediadores solubles adicionales. En sí mismos, estos mediadores son de vida relativamente corta, o bien los inhiben mecanismos intrínsecos que desactivan la respuesta de manera efectiva y permiten que el proceso se resuelva (Murphy, 2012).

Los mediadores inflamatorios (Figura 11) provienen del plasma o se producen en las propias células del punto de inflamación. Los **mediadores derivados del plasma**, que se sintetizan en el hígado, incluyen las proteínas de fase aguda, factores de coagulación y proteínas del complemento; estos mediadores se encuentran en el plasma en forma de precursores que deben activarse mediante una serie de procesos proteolíticos para adquirir sus propiedades biológicas. Los **mediadores derivados de células** están apresados

en gránulos intracelulares que deben secretarse o sintetizarse como productos nuevos en respuesta a un estímulo (Merkle, 2011).

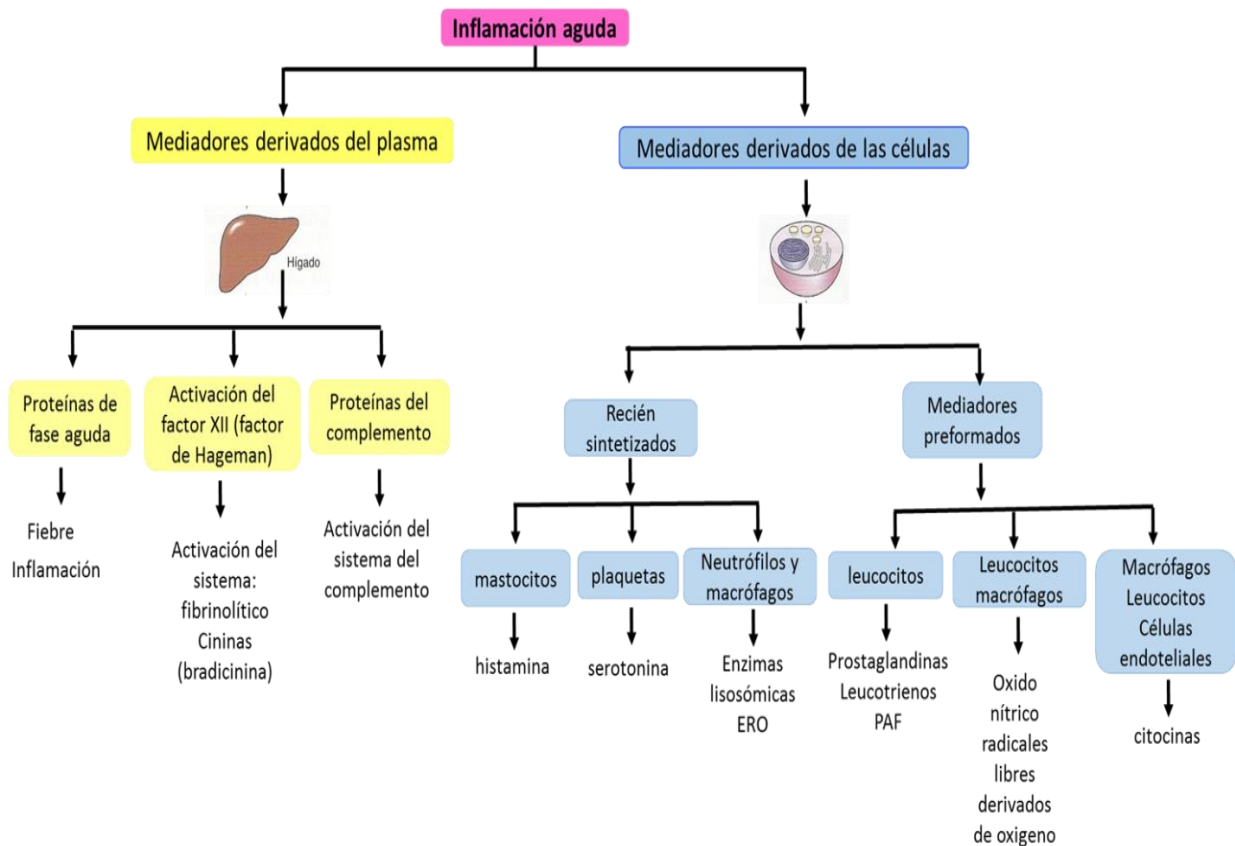


Figura 11. Mediadores de la inflamación aguda derivados del plasma y de células.
Modificado de Merkle, 2011

Mediadores derivados del plasma

- **Factor de coagulación**

La finalidad de su activación es la formación de coágulos de fibrina, que forma una malla para aislar el foco inflamatorio del resto del organismo. Por otra parte, troma los vasos en el foco inflamatorio, evitando la hemorragia en esta región (González & Fariñas, 2004).

- *Proteínas de complemento*

Los componentes del complemento (numerados C1a C9) se hallan en el plasma en forma inactiva, y muchos de ellos se activan por proteólisis adquiriendo ellos mismos actividad proteolítica y formando una cascada enzimática. Los factores derivados del complemento que se producen a lo largo de la vía influyen en los efectos vasculares (C3 y C5 aumentan la permeabilidad vascular y causan vasodilatación al inducir la liberación de histamina de las células cebadas), activación, adhesión y quimiotaxis de los leucocitos y fagocitosis. La activación del complemento se halla controladas por proteínas reguladoras circundantes y asociadas a las células (Kumar *et al.*, 2008).

- *Cininas*

Las cininas son agentes inflamatorios potentes que se forman en el plasma por la acción de las calicreínas proteasas de serina sobre glucoproteínas plasmáticas específicas denominadas cininógenos. La **bradicina** y los péptidos relacionados regulan múltiples procesos biológicos como la presión sanguínea, la contracción y relajación del musculo liso, la extravasación del plasma, la migración celular, la activación de células inflamatorias y las respuestas al dolor de origen inflamatorio (Murphy, 2012).

Mediadores derivados de células

- *Aminas vasoactivas*

La histamina y serotonina se clasifican como aminas vasoactivas (proviene de aminoácidos) actuando en la generación de cambios en el tono vascular y son de los primeros mediadores en liberarse durante las reacciones inflamatorias agudas. La **histamina** produce dilatación de las arteriolas y aumenta la permeabilidad de las vénulas. La **serotonina** tiene efectos similares a la histamina (Merkle, 2011).

- *Metabolitos del ácido araquidónico AA* (prostaglandinas, leucotrienos y lipoxinas)

Los metabolitos de AA también denominados eicosanoides pueden mediar en, virtualmente, todas las etapas de la inflamación. Los leucocitos, las células cebadas, las células endoteliales y las plaquetas son las fuentes principales de los metabolitos de AA en la inflamación (Kumar *et al.*, 2008). El AA es un ácido graso insaturado de 20 carbonos que se encuentra en los fosfolípidos de las membranas celulares, su liberación por acción de las fosfolipasas inicia una serie de reacciones complejas que conduce a la producción de la familia eicosanoide. La síntesis de eicosanoides sigue una de las vías: la vía de la ciclooxigenasa, que culmina con la síntesis de prostaglandinas y la vía de la lipooxigenasa que termina con la síntesis de leucotrienos. Las **prostaglandinas** (p. ej., PGD₂, PGE₂, PGF₂ α y PGI₂) causan inflamación y potencian los efectos de la histamina y otros mediadores inflamatorios. Los leucotrienos afectan a la permeabilidad de las vénulas, a las propiedades de adhesión de las células endoteliales, y a la extravasación y quimiotaxis de neutrófilos, eosinófilos y monocitos (Merkle, 2011).

- Citocinas

Las citocinas son productos polipeptídicos de muchos tipos celulares que funcionan como mediadores de la inflamación y de las respuestas inmunitarias. Algunas citosinas estimulan los precursores de la médula ósea para producir los leucocitos, remplazando así los que se consumen durante la inflamación. Las principales citocinas en la inflamación aguda son el TNF (factor de necrosis tumoral) y la IL-1 (interleucina 1), así como un grupo de quimiocinas (citocinas quimioatrayentes) (Kumar *et al.*, 2004). El TNF- α y la IL-1 activan las células endoteliales para que expresen moléculas de adhesión y liberen además citosinas, quimiocinas y especies reactivas de oxígeno. El TNF- α induce la estimulación y agregación de los neutrófilos, lo que incrementa las respuestas de estos a otros mediadores. Las quimiocinas generan un gradiente quimiotáctico mediante la unión con proteoglucanos sobre la superficie de las células endoteliales o en la matriz extracelular (Merkle, 2011).

- **Especies Reactivas de Oxígeno (ROS)**

Cuando se producen las ROS en el interior de los lisosomas, destruyen los microbios fagocitados y las células necróticas. Cuando se secreta a niveles bajos, pueden aumentar la expresión de quimiocinas, citosinas y moléculas de adhesión, amplificando así la cascada de los mediadores inflamatorios. A mayores niveles, estos mediadores son responsables de la lesión tisular por varios mecanismos que incluyen: 1) daño endotelial, con trombosis y aumento de la permeabilidad; 2) lesión directa sobre otros tipos celulares. Afortunadamente se hallan varios mecanismos protectores antioxidantes (p. ej., catalasa, superóxido dismutasa y glutatión) en los tejidos y la sangre para reducir al mínimo la toxicidad de los metabolitos del oxígeno (Kumar *et al.*, 2008).
- **Óxido nítrico (NO)**

Existe una forma de NO sintasa constitutiva, que da lugar a una producción basal de NO, y otra inducible, que produce mayores cantidades. Las células endoteliales poseen la forma constitutiva, y el NO que sintetizan actúa sobre la fibra muscular lisa, relajándola y promoviendo vasodilatación. Los macrófagos y los neutrófilos poseen la forma inducible; cuando se activan (inflamación), el NO producido contribuye al efecto bactericida y tumoricida de estas células. En grandes cantidades el NO es tóxico, y parece ser responsable del daño endotelial que determinan algunas citocinas (TNF) cuando se encuentran en exceso (González & Fariñas, 2004).
- **Neuropeptidos**

Al igual que las aminas vasoactivas, los neuropeptidos pueden comenzar respuestas inflamatorias; son proteínas pequeñas, como la sustancia P que transmiten señales de dolor, regulan el tono vascular y modulan la permeabilidad vascular. Las fibras nerviosas que secretan neuropeptidos son especialmente prominentes en el pulmón y en el tracto gastrointestinal (Kumar *et al.*, 2008).

II.3. Tratamiento del dolor

Cuando los sistemas de modulación actúan y aun así los estímulos llegan a la corteza somatosensorial, se manifiesta el dolor, causando un desequilibrio en la vida del individuo a nivel económico, biológico y social. El dolor es comúnmente considerado un problema de salud pública en la población mexicana y con el fin de controlarlo Aldrete *et al.*, (2000) menciona diferentes alternativas para su tratamiento:

- **Clínicas del dolor.-** Dado que el dolor es un síntoma frecuentemente observado en la población mexicana y en la actualidad es considerado un problema de salud pública, en la década de los 70's diversos médicos mexicanos se dieron a la tarea de consolidar clínicas del dolor. De acuerdo a la definición propuesta por la Asociación internacional Para el Estudio del Dolor (IASP), una clínica del dolor es servicio hospitalario que se enfoca al diagnóstico y manejo de pacientes con dolor crónico, su misión es la de brindar alivio no solamente del dolor, sino también de síntomas que se asocian a éste o a su terapéutica. Para lograrlo, proporciona una atención integral que mejorará la calidad de vida del paciente, cubriendo sus principales necesidades como un ser bio-psico-social. Estos centros actualmente se encuentran distribuidos en el territorio nacional y son formadores de especialistas en el manejo del dolor. Para lograr sus objetivos, las clínicas del dolor cuentan con el apoyo de enfermeras, trabajadores sociales, psicólogos y de diversos especialistas (Covarrubias-Gómez 2008).
- **Psicoterapia.-** La psicoterapia se comenzó a considerar a partir de los años 70'. Los psicólogos y psiquiatras contribuyen de forma importante a clasificar los síndromes dolorosos, desarrollando modelos teóricos para comprender las interacciones de los factores cognoscitivos, emocionales, de personalidad, sociales y biológicos, de esta manera proveen los tratamientos psicológicos adecuados. La psicoterapia debe empezar por aclarar las ideas de culpa y agresividad, posteriormente debe tratar de

desviar la atención que pone el paciente en el dolor físico hacia las causas emocionales, mismas que hacen más terrible el sufrimiento. Después se intenta solucionar los sentimientos de culpa y hostilidad, recuperar la estimación y confianza en sí mismo. Dentro de los procedimientos de control psicológico del dolor está el acondicionamiento operante, mediante el cual se refuerza positivamente el ambiente circundante al paciente.

- **Acupuntura.**- La acupuntura es una opción terapéutica en pacientes con dolor agudo o crónico. Para obtener algún efecto, es necesaria la estimulación continua, moderadamente intensa, de los tejidos por las aguja, ya que no basta la inserción de estas en los tejidos, si no que la estimulación debe mantenerse a base de rotar las agujas sobre sí misma, con los dedos del acupunturista, además, se necesita puncionar los puntos clásicos y no al azar, siendo la estimulación y el sitio donde se practica, factores primordiales para el éxito analgésico. La analgesia no comienza de inmediato, ya que debe mantenerse la estimulación de 20-30 minutos al cabo de los cuales la analgesia podría prolongarse hasta por horas.
- **Terapia física.**- Técnica que incluye la frotación simple o con sustancias químicas, masaje simple, o aplicando sustancias oleosas o medicamentos antiálgicos y fricciones. También en esta clasificación entran las bolsas de hielo y las pulverizaciones con líquidos helados en dolor en tejidos blandos o en articulaciones superficiales. Todos estos métodos pueden aplicarse sobre los puntos “gatillo” que se presentan en las estructuras miofasciales, pero que existen en todos los tejidos. En este punto con frecuencia se encuentran pequeñas nodulaciones que corresponden a una agrupación de nervios o fibras nerviosas, las cuales al ser activadas producen un estímulo continuo, de moderada intensidad, a través de los aferentes medulares, cerrando la compuerta del dolor. Para detectar estos puntos gatillo se requiere de paciencia y localizarlos con objetos romos, finos o con la presión suave de un solo dedo.
- **Farmacológica.**- El tratamiento más utilizado entre la población para el alivio del dolor, es sin duda el tratamiento farmacológico, dentro del cual

dependiendo del grado y tipo del dolor es el fármaco que se debe utilizar, en dolor leves y moderados el tratamiento por excelencia es con AINEs y para dolores intensos el tratamiento es con opioides (Brunton *et al.*, 2007).

II.4. Tratamientos farmacológicos para el dolor y la inflamación

Las estrategias terapéuticas para el tratamiento del dolor se articula alrededor de la escalera analgésica de la Organización Mundial de la Salud (OMS) aplicable a cualquier tipo del dolor, esta se divide en tres peldaños en función de la intensidad del dolor (Cuadro 2). El primer escalón está formado por los llamados analgésicos menores, periféricos o no opioides; en este grupo se incluyen fármacos como el ácido acetil salicílico, salicilatos, paracetamol, metamizol y el resto de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). El segundo escalón lo constituyen los analgésicos opioides débiles (codeína, dihidrocodeína, tramadol); están especialmente indicados a pacientes con dolor leve a moderado que no se controlan con analgésicos menores, no presentan “techo analgésico” por lo que su uso está limitado a la aparición de efectos secundarios. El tercer escalón está compuesto por los analgésicos opioides potentes, entre los que se encuentran la morfina, metadona, meperidina (Torneró *et al.*, 2003).

Escalón 1	Dolor leve-moderado	Analgésicos no opioides: paracetamol, AINE
Escalón 2	Dolor moderado-intenso	Analgésicos opioides débiles: codeína, tramadol etc.
Escalón 3	Dolor intenso-muy intenso	Analgésicos opioides mayores: morfina, fentanila etc.

Cuadro 2. Escalera analgésica propuesta por la Organización Mundial de la Salud (OMS)

II.4.1. Analgésicos no opioides

Forman un grupo muy heterogéneo de fármacos entre los que se incluye a los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Los AINEs Producen alivio sintomático del dolor y la inflamación en las artropatías crónicas, como ocurre en la artrosis y la artritis reumatoide, así como en enfermedades inflamatorias agudas: fracturas, esguinces, lesiones deportivas, y otras lesiones en tejidos blando. También son útiles para el tratamiento del dolor postoperatorio, dental y menstrual, y de las cefaleas y la migraña (Rang *et al.*, 2012).

Estos fármacos ejercen su acción analgésica a través de mecanismos centrales y periféricos. Caracterizados por no poseer actividad sobre los receptores opioides, no inducir tolerancia o dependencia y por tener un efecto techo para la analgesia (Torneró *et al.*, 2003).

Entre los principales grupos químicos de los AINEs (Hall *et al.* 2001) se encuentran los *salicilatos* (**ácido acetilsalicílico**), *derivados pirazolónicos* (aminofenazona, fenilbutazona), *derivados del para-aminofenol* (paracetamol), *derivados del ácido acético* (**indometacina**, glucametacina), *derivados carboxílicos pirrolpirrólicos* (etodolaco, ketorolaco), *derivados del ácido fenilacético* (diclofenaco, aclofenaco), *derivados del ácido propiónico* (ibuprofeno, naproxen, ketoprofeno) y *derivados enólicos* (piroxican, meloxican).

II.4.1.1. Mecanismo de acción

Aunque hay diferencias entre los distintos AINEs, su mecanismo de acción se relaciona con su capacidad común de inhibir la enzima COX de ácidos grasos, impidiendo de esta forma la producción de prostaglandinas y tromboxanos (Rang *et al.*, 2012) e impidiendo la sensibilización de los nociceptores aferentes primarios y de las neuronas medulares y supramedulares, permitiendo la modulación (inhibición) central del dolor, ver Figura 12 (Rivera-Ordoñez, 2006).

Hay dos isoformas de la enzima ciclooxigenasa (COX): COX-1 y COX-2; la COX-1 es una enzima **constitutiva** que existe en la mayoría de los tejidos incluidas las plaquetas sanguíneas. Tiene una función de mantenimiento en el cuerpo, de modo que participa en la homeostasis de los tejidos y es responsable de la producción de prostaglandinas que participan, por ejemplo en la citoprotección gástrica, la agregación plaquetaria, la autorregulación del flujo sanguíneo renal y el inicio del parto. Por el contrario la COX-2 es **inducida** en células inflamatorias cuando son lesionadas, infectadas o activadas, por ejemplo por las citosinas inflamatorias, como la interleucina y el factor de necrosis tumoral (TNF) α . Así la isoforma COX-2 es responsable, principalmente de la producción de los mediadores de la inflamación de la familia de los prostanoides (Rang *et al.*, 2012).

Los AINEs inhiben COX-2 mediando efectos no deseados de la inflamación y la simultánea inhibición de COX-1 en los tejidos gastrointestinales y renal ocasiona los efectos indeseables de estos fármacos (Pérez, López & Grau, 2002).

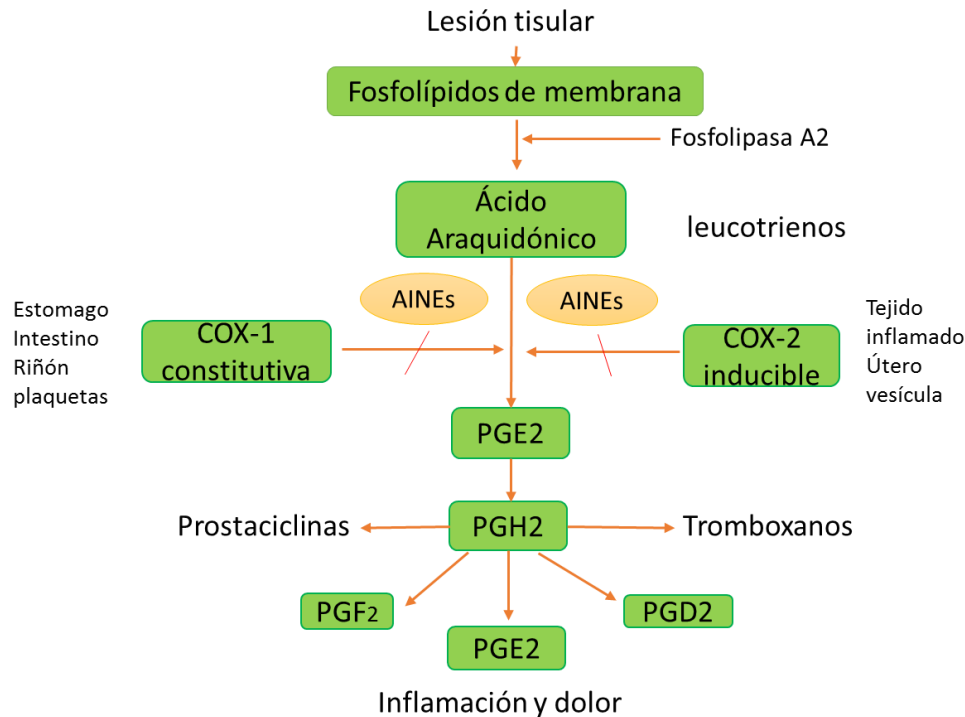


Figura 12. Mecanismo de acción de los AINEs. Modificado de Rivera-Ordoñez, 2002.

II.4.1.2. Ventajas de AINEs

Los AINEs se encuentran entre los fármacos más utilizados, actualmente hay más de 50 en el mercado mundial. Sus ventajas radican en parte a su actividad, ya que producen alivio sintomático del dolor y la inflamación en las artropatías crónicas, como ocurre en la artrosis, y la artritis reumatoide, así como en enfermedades inflamatorias agudas: fracturas, esguinces, lesiones deportivas y otras lesiones de tejidos blandos, también son útiles para el tratamiento del dolor postoperatorio, dental y menstrual y de las cefaleas y la migraña, también en que hay varios AINEs de venta sin receta (utilizados para otros tipos de molestias y dolores leves) y que se dispone de muchas formulaciones de AINEs diferentes, como comprimidos, inyecciones y geles (Rang *et al.*, 2012).

II.4.1.3. Efectos secundarios asociados con el uso de los AINEs

Los efectos secundarios más frecuentes asociados con el uso de los AINEs son disturbios **gastrointestinales** que, por lo general son moderados y reversibles, aunque algunos pacientes evolucionan hacia úlcera péptica o a un sangrado intestinal severo. Estos efectos a nivel del tracto gastrointestinal se asocian con la inhibición de la forma COX-1 que conduce a una disminución en la producción y liberación de las prostaglandinas que ejercen un efecto protector de la mucosa gastrointestinal debido a que en el estómago estas sustancias tienen un rol protector (Hall *et al.*, 2001). También los efectos adversos pueden ser **renales** tales como: Insuficiencia renal, necrosis papilar, síndrome nefrótico y nefritis intersticial, **cardiovasculares** como: hipertensión arterial y secundariamente, infartos de miocardio y accidentes vasculares encefálicos, **hematológicos** tales como: hemorragias, neutropenia y otras citopenias por fallo medular, principalmente con indometacina y fenilbutazona y **respiratorios** causando asma, rinitis, anafilaxia (Pérez, López & Grau, 2002).

II.4.2. Analgésicos opioides

Los analgésicos opioides constituyen un grupo de fármacos que se caracterizan por poseer afinidad selectiva por los receptores opioides. Como consecuencia de la activación de estos receptores causan analgesia de elevada intensidad, producida principalmente sobre el SNC, así como otros efectos subjetivos que tienden a favorecer la instauración de una conducta de autoadministración denominada farmacodependencia. Su representante principal es la morfina, alcaloide pentacíclico existente en el opio, jugo extraído de la adormidera *Papaver somniferum* (Flores, 1999).

II.4.2.1. Sistema opioide endógeno

Para poder comprender el gran espectro de acciones que exhiben los analgésicos opioides se debe considerar la existencia de un sistema opioide endógeno, con representación anatómica y funcional en el organismo, gobernado por las acciones de péptidos opioides endógenos (agrupados en 4 familias:

endorfinas, nociceptinas, dinorfinas y encefalinas) sobre receptores opioides específicos (Álamo, 2005). Estos receptores están acoplados a proteínas G y se clasifican en tres tipos primarios, aunque existen subfamilias dentro de cada tipo: mu (μ) producen analgesia, miosis, depresión respiratoria, bradicardia, hipotermia, e indiferencia a los estímulos ambientales, el receptor kappa (κ) produce analgesia, miosis, sedación general, depresión de los reflejos flexores, disforia y alucinaciones y el receptor delta (δ) provoca analgesia, depresión respiratoria, tolerancia e hipotensión (Nogués *et al.*, 2008).

Este sistema opioide endógeno juega un papel fundamental y complejo en la modulación sensitiva, motivacional, emotiva y cognitiva. En este sentido, los opioides exógenos actuarían sobre este sistema, imitando, en muchos casos superando, sus efectos (Álamo, 2005).

II.4.2.2. Clasificación

Una clasificación farmacológica para los analgésicos opioides propuesta en Fernández-Vallín (2003) y Rang *et al.* (2012) es la siguiente:

- **Agonistas puros:** Son los opioides que se comportan como agonistas muy preferentes y, en ocasiones, selectivos sobre los receptores μ . Así mismo, muestran la máxima actividad intrínseca. Como ejemplos de los agonistas puros están la morfina, heroína, petidina, metadona, fentanilo y sufentanilo.
- **Agonistas- antagonistas mixtos.** Son los opioides capaces de actuar sobre más de un tipo de receptor opioide, concretamente el μ y el κ , pero sobre el κ se portan como agonistas, mientras que sobre el receptor μ lo hacen como agonistas parciales o incluso como antagonistas. La analgesia se consigue mediante la actividad de ambos receptores. Por ejemplo: nalorfina, pentazocina, butorfanol y nalbufina.
- **Agonistas parciales.** actúan sobre receptores alfa con actividad intrínseca inferior a la de los agonistas puros, por lo que en presencia de uno de estos últimos pueden comportarse también como antagonistas. Algunos autores colocan a estos fármacos en el grupo agonistas-antagonistas mixtos.

- **Antagonistas puros.** Son opiáceos que muestran afinidad por los receptores opioides pero carecen de actividad intrínseca; su afinidad se extiende a los tres tipos de receptores opioides principales, si bien es mayor por μ que por κ y δ . Entre antagonistas puros están la naloxona, naltrexona y diprenorfina.

II.4.2.3. Mecanismo de acción

Los receptores opioides están acoplados a proteínas Gi/Go, así los opioides ejercen potentes efectos sobre los canales iónicos de las membranas neuronales a través del acoplamiento directo de las proteínas G al canal. Los opioides facilitan la apertura de un tipo específico de canales de potasio (canal de potasio rectificador de entrada) e inhiben la apertura de canales de calcio controlados por el voltaje. Estos efectos de membrana reducen la excitabilidad neuronal (debido a que el aumento de la conductancia de potasio induce hiperpolarización de la membrana haciendo que la probabilidad de activar potenciales de acción sea menor) y disminuye la liberación de neurotransmisores (por la inhibición de la entrada de calcio. El efecto celular global es, por siguiente, inhibitorio (Rang *et al.*, 2012).

Los opioides inhiben la transmisión nerviosa disminuyendo la liberación de neurotransmisores como la sustancia P desde la terminal presináptica y provocando la hiperpolarización de la neurona postsináptica. Actúan sobre los receptores opioides localizados principalmente en el sistema nervioso central. Los receptores están acoplados a proteínas G reguladoras y estas a su vez interactúan con tres efectores celulares: canales de calcio, canales de potasio y el sistema adenililciclase. En la neurona presináptica la proteína G inhibe la apertura de los canales de calcio, evitando la liberación de neurotransmisores; en la neurona postsináptica la proteína G abre los canales de potasio causando la hiperpolarización; y la inhibición de la adenililciclase disminuye el AMPc que regula la liberación de neurotransmisores y la despolarización celular (Figura 13) (Nogués *et al.*, 2008).

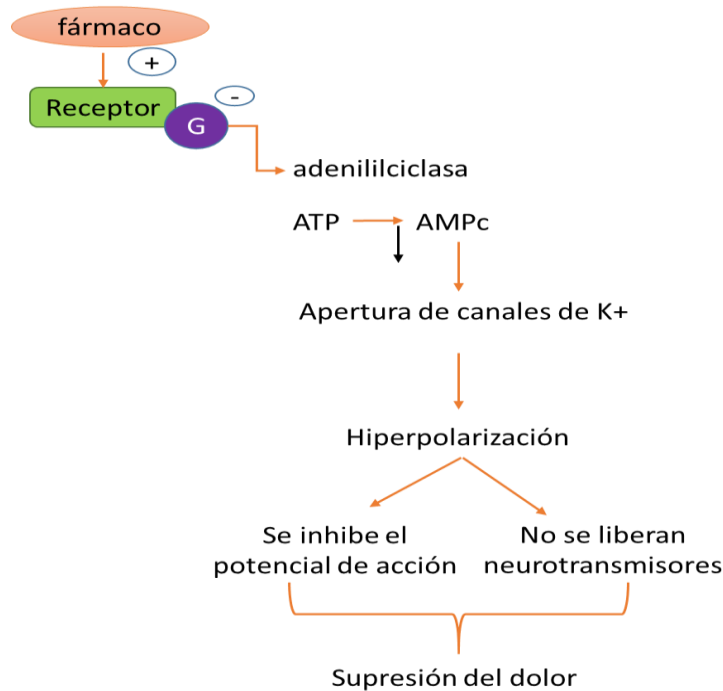


Figura 13. Mecanismo de acción de los analgésicos opioides modificado de Nogués *et al.* 2008.

Los opioides tienen dos acciones directas bien establecidas acopladas a la proteína G sobre las neuronas: 1) cierran canales de calcio dependientes de voltaje en las terminaciones nerviosas presinápticas y, por lo tanto, aminoran la emisión de transmisores, y 2) hiperpolarizan, y así, inhiben neuronas postsinápticas por apertura de los canales de potasio (Gandhi, Heitz & Viscusi 2010).

II.4.2.4. Ventajas de los opioides

Las ventajas del uso de opioides como analgésicos radican en su actividad para suprimir el dolor intenso. Los opioides son usados para el tratamiento del dolor oncológico, no oncológico, agudo, neuropático, en niños, adultos y adultos mayores (Bonilla *et al.*, 2011).

II.4.2.4. Efectos secundarios asociados con el uso de opioides

Entre las reacciones adversas derivadas del uso de los opioides se encuentra la depresión respiratoria, seguida de la hipotensión, la bradicardia, el estreñimiento, la sudoración, los vómitos y la retención urinaria. También produce

tolerancia y dependencia física y psíquica. Cuando se suspende el tratamiento aparece el síndrome de abstinencia caracterizado por lagrimeo, rinorrea y sudor; a las 20-24 horas hay dilatación de la pupila, agitación y temblor; a las 48-72 horas aparece el insomnio, vómitos, diarrea, taquicardia, dolor abdominal y lumbar; en esta fase la agitación es extrema. Si los vómitos y la diarrea continúan puede aparecer shock hipovolémico que, si no se trata, puede ser mortal. Después de 7-12 días los síntomas mejoran. La sobredosis se trata con naloxona (Nogués *et al.*, 2008).

II.5. Alternativas para el tratamiento del dolor y la inflamación

Debido a los efectos adversos de los fármacos analgésicos y/o antiinflamatorios existe interés en el desarrollo de nuevos tratamientos posiblemente con menos efectos adversos. Una opción en dicha búsqueda es indagar en la ***Medicina Tradicional*** la cual es definida como el conjunto de conocimientos, creencias, prácticas y recursos provenientes de la cultura popular, de los que hace uso la población del país para resolver, en forma empírica, algunos de sus problemas de salud, al margen o a pesar de la existencia de una medicina oficial e institucionalizada por el Estado (Lozoya, 1989).

Los antiguos pobladores de nuestro territorio desarrollaron una de las herbolarias más complejas del mundo, gracias a la riqueza biológica y cultural del país (Ocegueda *et al.*, 2005). México tiene un registro de 4,500 plantas medicinales (Muñeton, 2009). El éxito de las plantas medicinales para la cura de diversos padecimientos se encuentra en sus **metabolitos secundarios** o **productos** naturales, los cuales se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos y tienen funciones ecológicas específicas (Ávalos & Pérez-Urria, 2009) y en virtud de su estructura son químicamente reactivos; es decir, son aptos para ingresar en los sistemas vivos, interactuar y cambiar la estructura de un receptor o blanco molecular y penetrar en las células afectando varios procesos fisiológicos (Anaya & Espinosa, 2006).

II.5.1. Plantas usadas en el tratamiento del dolor y la inflamación

En el Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana (2009) se reporta que las siguientes plantas son útiles para aliviar el dolor: Trompetilla (*Bouvardia ternifolia*), Hierba del golpe (*Oenothera rosea*), Campanilla (*Thevetia gaumeri* Hemsley), Cempasúchil o flor de muerto (*Tagetes erecta* L.) y Laurel (*Litsea glaucescens* Kunth) Hierba del indio (*Aristolochia foetida* Kunth). Mientras que para aliviar la inflamación se reportan: Árnica (*Heterotheca inuloides* Cass) y Hierba del zorrillo (*Dyssodia porophylla* Cav), entre otras.

Adicionalmente, otras plantas que merecen interés son las pertenecientes al género *Erythrina*, que comprende alrededor de 115 especies distribuidas en los trópicos y subtrópicos (Neill, 1993) (Figura 14).



Figura 14. Mapa de distribución del género *Erythrina*. Modificado de Neill, 1993.

II.5.2. Usos del género *Erythrina*

Los pueblos le han dado un importante uso al género *Erythrina*; como cerca viva (para delimitar potreros, cafetales, otros campos cultivados y propiedades rurales) donde abundan las especies de *E. berteroana*, *E. costaricensis*, *E. fusca* y *Erythrina* spp (Budowski, 1998). En nuestro país, los árboles de este género se han usado para proporcionar sombra, como ornato, por el bello colorido en las flores. Las semillas vistosas de color rojo brillante comúnmente se usan en la

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)

fabricación de artesanías como collares y pulseras, las flores se cocinan y se comen en México y se cree que actúan como hipnótico débil (Hastings, 1990). Ver Figura 15.



Figura 15. Diversos usos del género *Erythrina*. a) hornato, b) alimenticio, c) y d) artesanal (Fotos Garín-Aguilar).

En cuanto al uso medicinal Domínguez y Alcorn (1985) reportaron que en la Huasteca la corteza de *Erythrina* es usada como anticonceptivo, las flores son usadas para el insomnio, la corteza y las hojas son usadas en el parto, la raíz en hemorragia nasal y el dolor de muelas. Hastings (1990) reportaron los usos medicinales de las diferentes especies de *Erythrina* y algunos de ellos se presentan a continuación:

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL
LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)**

ESPECIE	USO MEDICINAL TRADICIONAL (Hastings, 1990).
<i>Erythrina berteroana</i>	En Guatemala la decocción de los brotes jóvenes se bebe como narcótico, mientras la decocción de las flores es sedante y un remedio para el nerviosismo, las hemorragias y la disentería. En Panamá la planta se usa para enfermedades femeninas, las semillas que son venenosas, se usan en la fabricación de collares y las ramas trituradas se han utilizado para envenenar a los peces.
<i>Erythrina coralloides</i> A.DC.	Se usa un collar de semillas para protegerse contra el sarampión y las flores son comestibles.
<i>Erythrina flabelliformis</i> Kearney	En Durango las semillas se usan como remedio para el dolor de muelas. En Chihuahua la semilla se usa como anticonceptivo, un té hecho con la cocción de las hojas es usado por los indios Seri de Sonora para curar la diarrea; la especie es muy conocida por sus efectos tóxicos.
<i>Erythrina folkersii</i>	Las semillas se han empleado en Colombia como diurético, las flores causan somnolencia, las raíces son empleadas como sudoríficas y la planta alivia la apendicitis.
<i>Erythrina herbacea</i> L.	Las hojas jóvenes y las flores se pueden cocinar y comer en forma segura y en San Luis Potosí las semillas son utilizadas para envenenar a ratas y perros.

Cuadro 3. Usos medicinales tradicionales de diferentes especies del género *Erythrina*.

II.5.3. *Erythrina americana* Miller

Árbol perteneciente a la familia Fabaceae de hasta de 9 m de altura con ramas espinosas; hojas alternadas con tres anchos folíolos, glabro, inflorescencia en racimo, con flores rojas; el fruto es una vaina con pocas o muchas semillas rojas (Aguilar, & Zolla, 1982). Distribuido en los estados de México, Puebla, Veracruz, Tabasco, Chiapas y Yucatán (Niembro, 1990).

II.5.3.1. Usos medicinales

En México, diversos usos medicinales empíricos se han atribuido a la especie *Erythrina americana* entre los que se encuentran su uso contra el dolor y la inflamación. Su uso más popular en los estados de Guerrero, Michoacán, Morelos y Puebla, es para aliviar el **dolor de muelas**. Se hierve un trozo de la corteza y se aplica en forma de vaporizaciones en la mejilla, o se aplica dos o tres veces la semilla molida, sola o con sebo. Cuando hay hemorragia vaginal, a la decocción de la corteza se le agrega un trozo de raíz de raspa y se bebe como agua de tiempo. La cocción de la corteza, junto con raíz de zapote prieto, flores de azahar y lima real, se administra vía oral contra el insomnio. Se menciona útil en el tratamiento del descriado, ataques; afecciones de los riñones, mal de orín, oguio (bronquitis en Veracruz), mal de ojo y se suministra a la mujer que "no puede comprar familia" es decir esterilidad femenina (Atlas de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).

En el estado de Veracruz las hojas son aplicadas para el tratamiento de úlceras o abscesos, también son utilizadas de manera interna para curar enfermedades causadas por las picaduras de insectos, los frutos son aplicados en la **inflamación** en brazos, piernas, cabeza y ojos (Amo, 1979 en Hastings, 1990); además en la región de la Huasteca del noreste de México, la corteza es hervida y tomada 40 días después del nacimiento de los niños como anticonceptivo y también se usa la infusión de las flores inmaduras contra el insomnio (Domínguez & Alcorn, 1985). En el estado de Guerrero se considera a la planta como antimalárico (Hastings, 1990).

II.5.3.2. Componentes químicos

Los estudios fitoquímicos han permitido aislar diversas sustancias, las cuales posiblemente son responsables de las actividades medicinales atribuidas a la planta.

Algunos de los **alcaloides** que se han aislado de *Erythrina americana* son: erisovina, erisodina, erisotrina, eritralina, glucoerisopina erisotiovina, α y β

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL
LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)**

eritroidina, eritrocoraloidina, hipaforina, eritratina, eritramina, erisotiopina, coraloidina, etc. De los alcaloides erisotiovina, α y β eritroidina se ha comprobado experimentalmente que tienen un efecto semejante al del curare (paralizante de los músculos esqueléticos e inhibidor en la transmisión de los impulsos nerviosos). También se ha detectado la presencia de una saponina no caracterizada que actúa dilatando la pupila y provocando trastornos visuales. En las hojas, el tallo, la raíz y los frutos se han detectado concentraciones bajas de ácido cianhídrico (Aguilar & Zolla, 1982).

De otras especies del género se han aislado **flavonoides** (Hedge *et al.*, 1997; Yadava & Reddy 1999; Yenesew *et al.*, 2005; Bedane *et al.*, 2015; Bedane *et al.*, 2016), **isoflavonoides** (Cornelius *et al.*, 2000; Talla *et al.*, 2003 y Tanaka *et al.* 2004), **pterocarpanos** (Innok *et al.*, 2010) y **saponinas triterpenoides** (Kouam *et al.*, 1991 y Pérez *et al.*, 2015).

III. ANTECEDENTES

III.1. Antecedentes experimentales con el género *Erythrina*

Diversos grupos de investigación en el mundo han evaluado la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de los extractos de diversas partes de plantas del género *Erythrina*, entre dichos reportes se encuentran los siguientes:

Saidu *et al.* (2000) evidenciaron la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria del extracto acuoso de corteza fresca de *Erythrina senegalensis*. La administración intraperitoneal (i.p.) del extracto acuoso en dosis de 50 y 100 mg/kg redujo el número de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético en un 71.20 y 80.20 % respectivamente. Así como una disminución del edema inducido por albumina de huevo, con las mismas dosis (i.p.) de 72.2 y 80.2%.

Pillay *et al.* (2001) evidenciaron que el extracto etanólico y de acetato de etilo de las hojas y de la corteza de *Erythrina caffra* y *Erythrina lysistemon* mostraron buena inhibición en el ensayo *in vitro* de la ciclooxigenasa.

Miño *et al.* 2002 reportaron la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de las hojas de *Erythrina crista-galli*. La administración vía oral (v.o.) del extracto acuoso de hojas en dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg redujo el número de contorsiones inducidas por ácido acético (21.6, 36.69 y 53.05% respectivamente) y en el modelo de la formalina la dosis más alta (1000 mg/kg) inhibió la segunda fase de la prueba. La administración del extracto de diclorometano de hojas (300 mg/kg v.o.) redujo el edema plantar inducido por carragenina (51%) a las 3h y la aplicación tópica (1mg/oreja) del extracto de diclorometano y metanólico redujo el edema auricular, 72.5 y 40. 2% respectivamente.

Talla *et al.* 2003 reportaron que la administración de 5 mg/kg (i.p.) de warangalon, un isoflavonoide aislado de la corteza de tallo de *Erythrina addisoniae* inhibió el edema plantar inducido por fosfolipasa A₂. También se observó que la aplicación aguda del isoflavonoide (0.25 mg/oreja) inhibió el edema auricular

inducido por TPA (78%); mientras que con la aplicación crónica, el efecto de warangalon fue moderado.

De Oliveira *et al.* (2012) evidenciaron la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de extractos hidroalcohólicos y fracciones de diferentes partes de *Erythrina mulungu*. Para el modelo del ácido acético la administración de 100 mg/kg de los extractos hidroalcohólicos de raíz, corteza de raíz y tallo así como la fracción clorofórmica y de acetato de etilo de raíz presentaron actividad (66.78, 68.17, 65.39, 55.72 y 60.90% de inhibición del número de contorsiones, respectivamente). En la prueba de la formalina todos los extractos y fracciones (100 mg/kg) presentaron actividad en la segunda fase, los porcentajes fueron: 55.25% (tallo), 76.52% (corteza de tallo), 45.75% (corteza de raíz), 80.76% (raíz), 75.63% (fracción clorofórmica) y 64.96 (fracción de acetato de etilo). En el test de placa caliente no hubo efecto. En cuanto a la actividad antiinflamatoria, en el ensayo de peritonitis inducida por zymosan todos los grupos tuvieron efecto, excepto la fracción de raíz de acetato de etilo. Los porcentajes de migración celular por la cavidad peritoneal fueron de: 43.80% (tallo), 14.72% (corteza de tallo), 38.76% (corteza de raíz), 56.78% (corteza) y 40.19% (fracción clorofórmica).

Muragalakshmi *et al.* (2014) reportaron la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria del extracto acuoso, extracto etanólico y extracto de acetato de etilo de hojas de *Erythrina variegata*. En el modelo de la inmersión de la cola dosis de 200 y 400 mg/kg (i.p.) del extracto metanólico y acetato de etilo presentaron efecto que se incrementa al paso del tiempo y en el modelo de edema plantar inducido por carragenina se presentó Inhibición de edema 96.42 y 92.14% a la 3h (200mg/kg) del extracto acuoso y extracto etanólico y efecto dosis dependiente del extracto acetato de etilo en ambas dosis.

III.2. Antecedentes experimentales con *Erythrina americana* en México

Entre los trabajos realizados se encuentra que la administración de 3 mg/kg a ratas, de tres fracciones alcaloideas (alcaloides libres en hexano, alcaloides

libres en metanol y alcaloides liberados) de semillas de *Erythrina americana* disminuyó la conducta agresiva (Garín-Aguilar *et al.*, 2000) y la administración del alcaloide β -eritroidina y su derivado dihidro- β -eritroidina obtenidos de semillas de *Erythrina americana* también disminuyeron el efecto de la conducta agresiva (García-Mateos *et al.*, 2000).

Se han reportado investigaciones que involucran el uso de alcaloides aislados de *Erythrina americana* como antagonistas de receptores nicotínicos involucrados en aprendizaje y memoria. Garín-Aguilar *et al.* (2009) evidenciaron que el bloqueo de los receptores nicotínicos $\alpha 4\beta 2$ y $\alpha 7$ del hipocampo dorsal con los antagonistas erisodina y dihidro- β -eritroidina deterioro la consolidación de la memoria de la tarea aversiva, García, (2010) reportó que los alcaloides dihidro- β -eritroidina y erisodina deterioraron el aprendizaje de evitación interfiriendo con la memoria a corto y largo plazo, el deterioro fue mayor con erisodina, Ruiz, (2012) evidencia que la fracción de alcaloides liberados por hidrolisis (FALH) y erisopina deterioraron la memoria de la evitación al brazo abierto en una tarea de laberinto T levado, lo que permitió a la autora proponerlos como antagonistas de receptores nicotínicos que modulan los procesos de memoria.

Ibarra *et al.*, 2011 evaluaron la actividad antioxidante de fracciones de alcaloides libres hexánicos, libres metanólicos, liberados metanólicos y de erisodina, obtenidas de semillas de *Erythrina americana*. Encontrando que la fracción de alcaloides liberados presentó mayor actividad antioxidante aunque las tres fracciones crudas inhibieron más de 50 % y Erisodina causó una fuerte inhibición (94%).

Se ha evaluado la actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de diferente polaridad obtenidos de hojas, tallos y flores de *E. americana*, evidenciándose el potencial antibacteriano del extracto de acetato de etilo de tallo siendo *S. aureus* la bacteria más sensible a este extracto. Mientras que los extractos de acetato de etilo de tallo y de acetato de etilo de flores inhibieron más del 50% de crecimiento de 4 hongos del género *Fusarium* (Mata, 2015).

IV. JUSTIFICACIÓN

Lo arriba descrito muestra cómo diversos grupos de investigación en el mundo han evaluado la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de extractos de diversas partes de plantas del género *Erythrina*, sin embargo en México, a pesar de los reportes del uso tradicional de este género, no se han explorado experimentalmente sus propiedades analgésica y antiinflamatoria. En los estados de Guerrero, Michoacán, Morelos y Puebla, ***Erythrina americana*** es usada para aliviar el **dolor de muelas** (Atlas de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009), en el estado de Veracruz las hojas son aplicadas para **úlceras** o **abscesos**, también son utilizadas de manera interna para curar enfermedades causadas por las picaduras de insectos, los frutos son aplicados en **inflamación** en brazos, piernas, cabeza y ojos (Amo, 1979 en Hastings, 1990).

V. HIPÓTESIS

Hallazgos experimentales han mostrado la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de extractos de plantas del género *Erythrina* de diversas regiones del mundo, por lo que es probable que el extracto hidroalcohólico liofilizado de *Erythrina americana* planta mexicana tenga actividad antinociceptiva y antiinflamatoria.

VI. OBJETIVOS

V.1. Objetivo general

- Evaluar la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de *Erythrina americana* Miller.

V.2. Objetivos particulares

- Determinar la toxicidad aguda (LD₅₀) del liofilizado de hojas frescas de *Erythrina americana*.
- Evaluar la actividad antinociceptiva del liofilizado de hojas frescas de *Erythrina americana* utilizando los modelos de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético, plato caliente y formalina.
- Evaluar la actividad antiinflamatoria del liofilizado de hojas frescas de *Erythrina americana* utilizando el modelo de edema auricular en ratón inducido por acetato de tetradecanoil forbol (TPA).
- Realizar el análisis preliminar fitoquímico, contenido de ácidos fenólicos y flavonoides totales y HPLC para ácidos fenólicos y flavonoides al liofilizado de hojas de *Erythrina americana*.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

VII.1. Material vegetal

Las hojas de *Erythrina americana* fueron colectadas en la Delegación Gustavo A. Madero de la Ciudad de México. La determinación taxonómica de los ejemplares se realizó en el Herbario IZTA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

VII.2. Preparación del extracto

Las hojas de los ejemplares se lavaron, trituraron y ya secas se maceraron en una mezcla etanol-agua 30:70. Posteriormente, el exceso de disolvente se retiró concentrando a presión reducida en un rotavapor BUCHI R-205. Finalmente el extracto hidroalcohólico de hojas de *Erythrina americana* fue liofilizado (**LiofH**).

VII.3. Animales

En los bioensayos se utilizaron ratones macho CD1 (25- 30 g) procedentes del Bioterio de la FES Iztacala UNAM alojados en cajas individuales con agua y alimento *ad libitum*. Los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM 062-ZOO-1999 y los lineamientos éticos para la investigación del dolor experimental en animales conscientes (Zimmerman, 1983).

VII.4. Toxicidad aguda (LD₅₀)

Se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Lorke *et al.* (1983). Fase 1: grupos independientes de ratones (n=3) fueron administrados vía oral con dosis de 10,100 ó 1000 mg/kg del LiofH realizándose registro de mortalidad por 24 horas. Fase 2: La selección de las dosis fue establecida según los resultados obtenidos en la primera etapa; las dosis fueron de 1600, 1900 y 5000 mg/kg, se requiere únicamente un sujeto por dosis, las observaciones se llevaron a cabo por 24 horas. El cálculo de la LD₅₀ se obtiene a partir de la media geométrica entre la dosis máxima administrada con sobrevivencia y la dosis mínima que produjo mortalidad.

VII.4. Modelos de Nocicepción

a) Contorsiones abdominales inducidas por ácido acético.-Para esta evaluación se siguió con ligeras modificaciones el método propuesto por Koster *et al.* (1959). Brevemente, a grupos independientes de animales (ratón macho CD-1 de 20-40 g, n=6) se les administró por vía intragástrica uno de los siguientes tratamientos: LiofH 100, 200 y 400 mg/kg; indometacina 10 mg/kg o vehículo (10 mL/kg). Una hora después a cada sujeto se le inyectó (i.p) ácido acético al 1% (10 mL/kg). Inmediatamente, se contaron el número de contorsiones abdominales durante un período de 20 minutos. El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente fórmula:

$$\%Inhibición = \frac{\text{Control negativo} - \text{Tratamiento}}{\text{Control negativo}} \times 100$$

b) Modelo de placa caliente.- Se llevó a cabo siguiendo con ligeras modificaciones, el método descrito por Menéndez *et al.* (2002). Los animales (ratón macho CD-1 de 20-40 g, n=6) recibieron vía intragástrica LiofH en dosis de 100, 200 y 400 mg/kg, indometacina (10 mg/kg) o vehículo. Treinta minutos después, cada animal se colocó sobre una placa caliente (T = 55 ±1 °C) y se registró el tiempo de reacción (saltar, lamida de patas, rascado e intento de escape); los registros se realizaron a los 30, 60 y 90 min después de la administración de los tratamientos.

c) Modelo de la formalina.- Se usó el método descrito por Dubuisson y Dennis (1967) con ligeras modificaciones. Los animales (ratón macho CD-1 20-40 g n=6) recibieron vía intragástrica LiofH en dosis de 400, 200 y 400 mg/kg, indometacina (10 mg/kg) o vehículo. Una hora después se les inyectó 20 µL de formalina al 1% en la cara dorsal de la pata trasera izquierda, inmediatamente después de la inyección se midió el tiempo en segundos de lamidas a la pata en la primer fase (0-5 min) y en la segunda fase (6-30 min). Se determinó el porcentaje de inhibición de los grupos tratados con el extracto respecto al grupo control (vehículo).

VII.6. Modelo de Inflamación

a) Edema auricular con TPA.- La evaluación de la actividad antiinflamatoria se realizó mediante el ensayo de edema inducido en oreja de ratón por la aplicación de 13-acetato de 12-O-tetradecailforbol TPA (De Young *et al.*, 1989). Ratones (CD-1 30-40g n=5) fueron anestesiados con 50.4 mg/kg (i.p.) de pentobarbital sódico. 10 minutos después a todos los grupos se les aplicó en la oreja derecha 10 µL de solución de TPA (250 mg/mL), transcurridos 5 minutos se aplicó tópicamente en la oreja derecha LiofH en dosis de 1 y 2 mg/oreja y el fármaco indometacina (0.8 mg/oreja); la oreja izquierda utilizada como control recibió el vehículo. Después de 4 horas los animales fueron sacrificados por dislocación cervical y se extrajeron biopsias (7mm) de cada oreja para determinar su peso. La diferencia de peso entre las orejas derecha e izquierda se tomó como expresión del edema.

VII.7. Detección cualitativa de metabolitos secundarios

Para la detección de compuestos presentes en el LiofH, se realizó el análisis preliminar fitoquímico de acuerdo con el método descrito en Valencia & Garín, 2010.

- Test de alcaloides: Dragendorff.
- Flavonoides: reacción de Shinoda y reacción con hidróxido de sodio al 10%.
- Glucósidos cianogénicos: Reactivo de Grignard.
- Azúcares reductores: Reacción de Fehling y reacción de Benedict.
- Saponinas: prueba de altura y estabilidad de espuma.
- Taninos: Reacción con gelatina, reacción de Cloruro férrico y Ferricianuro de potasio al 1%.
- Quinonas: Reacción de hidróxido de amonio y reacción con ácido sulfúrico.
- Cumarinas. Reacción de Erlich y reacción con hidróxido de amonio.
- Glucósidos Cardiacos: Reacción de Legal y reacción de Baljet.
- Sesquiterpenlactonas: Reacción con Hidroximato férrico.

VII.8. Cromatografía en capa fina

a) Compuestos fenólicos

Se tomó una pequeña parte de la muestra de LiofH y se disolvió en metanol, se aplicó con un capilar en la placa cromatografía, la cromatografía se desarrolló con Acetato de etilo: Metanol (7:3). Posteriormente se observó bajo luz ultravioleta y fue revelada con Reactivo de Folin Ciocalteu: Agua (1:1) seguido de solución básica.

b) Flavonoides

Se tomó una pequeña parte de la muestra del LiofH y se disolvió en metanol, se aplicó con un capilar en la placa cromatografía, la placa se corrió con Acetato de etilo: Metanol (7:3). Se dejó secar y se observó en luz ultravioleta, posteriormente fue revelada con 2-aminoetil difenil borinato (NP) al 1% en NaOH y se observó con luz ultravioleta.

c) Taninos

Se tomó una pequeña parte de la muestra del LiofH y se disolvió en metanol, se aplicó con un capilar en la placa cromatografía, la placa se corrió con Acetato de etilo: Metanol (7:3). Se dejó secar y se observó bajo luz ultravioleta, posteriormente se reveló con cloruro férrico al 5%.

VII.9. Cuantificación de ácidos fenólicos y flavonoides totales

Preparación de la muestra

Se pesaron 0.2685g del LiofH, se mezclaron con 3 mL de metanol al 80% esta mezcla se sonicó durante 20 minutos (con descanso de 5 min a la mitad del tiempo total). El extracto se centrifugó a 5000 rpm durante 10 minutos. Esta muestra se utilizó para la cuantificación de ácido fenólicos y de flavonoides totales y se filtró en papel filtro de 0.45mm para el HPLC.

El contenido de **polifenoles totales** en el liofilizado de hojas de *E. americana* fue determinado por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu

(Kumazawa *et al.*, 2002; Singleton *et al.*, 1999). Se realizó una curva patrón preparada con ácido gálico. Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de ácido gálico por g del extracto.

El **contenido total de flavonoides** se determinó por el método de Woisky & Salatino, (1998), con ligeras modificaciones. Se realizó una curva patrón preparada con quercetina (Chang *et al.*, 2002). Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de quercetina por g del extracto.

VII.10. Identificación de ácidos fenólicos y flavonoides por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Para los **ácidos fenólicos** la cromatografía se realizó en una columna nucleosil 100A de 125x4 mm, ajustada a 30°. El sistema se operó con elusión en gradiente con solución A: H₂O (pH 2.5) y solución B: ACN, con un flujo de 1ml/min. Inicialmente 85% de solución A y 15% de solución B, 20 minutos 65% de solución A y 35% de solución B y 23 minutos 65% de solución A y 35% de solución B. volumen de inyección: 5µL.

Para los **flavonoides** la cromatografía se realizó en una columna hypersil ODS 100 Å de 125x4 mm, ajustada a 30°. El sistema se operó con elusión en gradiente con solución A: H₂O (pH 2.5) con TFA y solución B: ACN, con un flujo de 1ml/min. Inicialmente 85% de solución A y 15% de solución B, 20 minutos 65% de solución A y 35% de solución B y 25 minutos 65% de solución A y 35% de solución B. volumen de inyección: 5µL.

VII.11. Análisis estadístico

Los resultados de las pruebas de analgesia y antiinflamatoria fueron analizados estadísticamente con ANOVA de una vía. Se usó la prueba post-hoc de Duncan $p \leq 0.05$ para determinar entre qué grupos se encuentran las diferencias significativas.

VIII. RESULTADOS

VIII.1. Material vegetal

El ejemplar de *Erythrina americana* Miller fue determinado en el Herbario IZTA de la Fes-Iztacala y quedó registrado en la colección con el número 2142-IZTA.

VIII.2. Toxicidad aguda (LD₅₀)

Los animales a los que se les administró el liofilizado de hojas de *Erythrina americana* no manifestaron signos o síntomas de toxicidad, aún en las dosis más altas (1600, 2900 ó 5000 mg/kg) propuestas por Lorke (Lorke, *et al.*, 1983). El peso se comportó de acuerdo a la curva de crecimiento para esta especie.

VIII.3. Contorsiones abdominales inducidas por ácido acético

En la prueba de contorsiones inducidas por ácido acético la administración del LiofH en dosis de 100, 200 y 400 mg /kg redujo el número de contorsiones en ratones, presentando diferencias significativas entre los grupos $F_{(4,29)} = 9.12$, $p = 0.0001$ y la prueba post-hoc de Duncan $p \leq 0.05$ formó dos grupos: el grupo **a)** constituido por los animales tratados con el vehículo y el LiofH 100 mg/kg y **b)** integrado por los animales tratados con 10 mg/kg de indometacina y por los animales que recibieron LiofH en la dosis de 200 y 400 mg/kg (Figura 16). En cuanto al porcentaje de inhibición para indometacina fue de 28.13 % y para el LiofH 12.5, 28.12 y 39.06% para las dosis de 100, 200 y 400 mg/kg respectivamente (Cuadro 4).

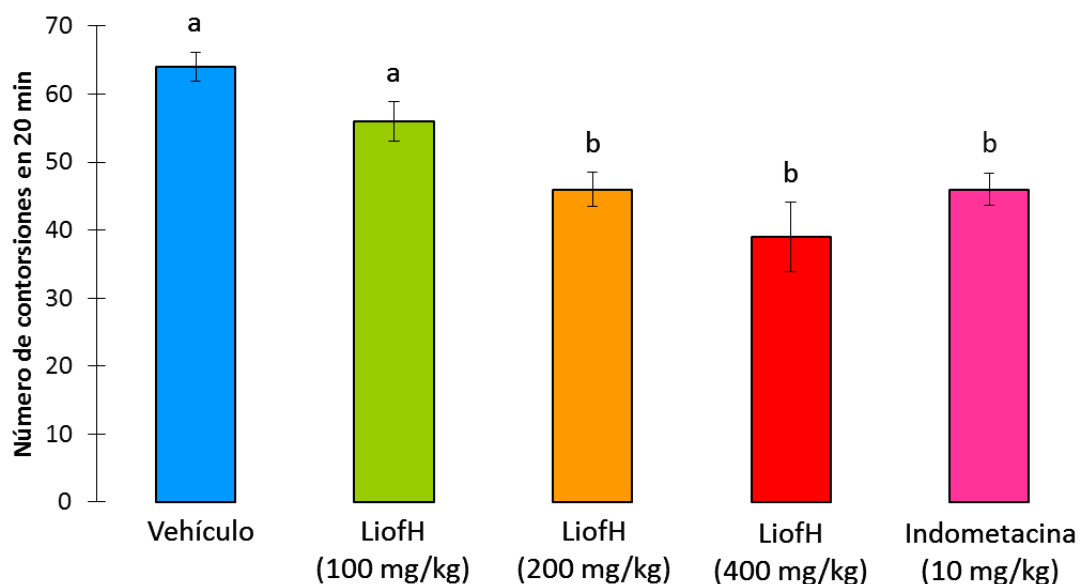


Figura 16. Media \pm EEM del número de contorsiones inducidas por la administración intraperitoneal de ácido acético (n=6). Las dosis de LiofH de 200 ó 400 mg/kg presentaron efecto antinociceptivo similar al de Indometacina, fármaco de referencia.

Grupo	Número de contorsiones	Porcentaje de inhibición
Vehículo	64	-
Indometacina 10 mg/kg	46	28.125
Liofilizado 100 mg/kg	56	12.5
Liofilizado 200 mg/kg	46	28.125
Liofilizado 400 mg/kg	39	39.0625

Cuadro 4. Porcentaje de inhibición en el test de contorsiones abdominales.

VIII.4. Placa caliente

En este modelo el ANOVA de una vía indicó que a los **30 minutos** (Figura 17) se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos $F_{(4, 29)} = 10.88$, $p = 0.0001$ y la prueba post-hoc de Duncan ($p \leq 0.05$) formó tres grupos: **a)** integrado por vehículo, **b)** integrado por indometacina (10 mg/kg) y LiofH en la dosis de 100 y 200mg/kg y el grupo **c)** formado por LiofH (400mg/kg). **A los 60 minutos** (Figura 18) se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos $F_{(4, 29)} = 71.41$,

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)

$p=0.0001$ y la prueba post-hoc de Duncan ($p\leq 0.05$) formó cuatro grupos: **a**) integrado por vehículo y LiofH en la dosis de 100 mg/kg, **b**) integrado por el LiofH de 200 mg/kg, el grupo **c**) formado por LiofH en la dosis de 400 mg/kg y el grupo **d**) integrado por indometacina (10 mg/kg) y a los **90 minutos** (Figura 19) también se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, $F_{(4,29)} = 40.84$, $p=0.0001$, y la prueba post-hoc de Duncan ($p\leq 0.05$) formó tres grupos: **a**) integrado por vehículo, **b**) integrado por LiofH en la dosis de 100 mg/kg e indometacina (10 mg/kg) y el grupo **c**) integrado por el LiofH en las dosis de 200 y 400 mg/kg.

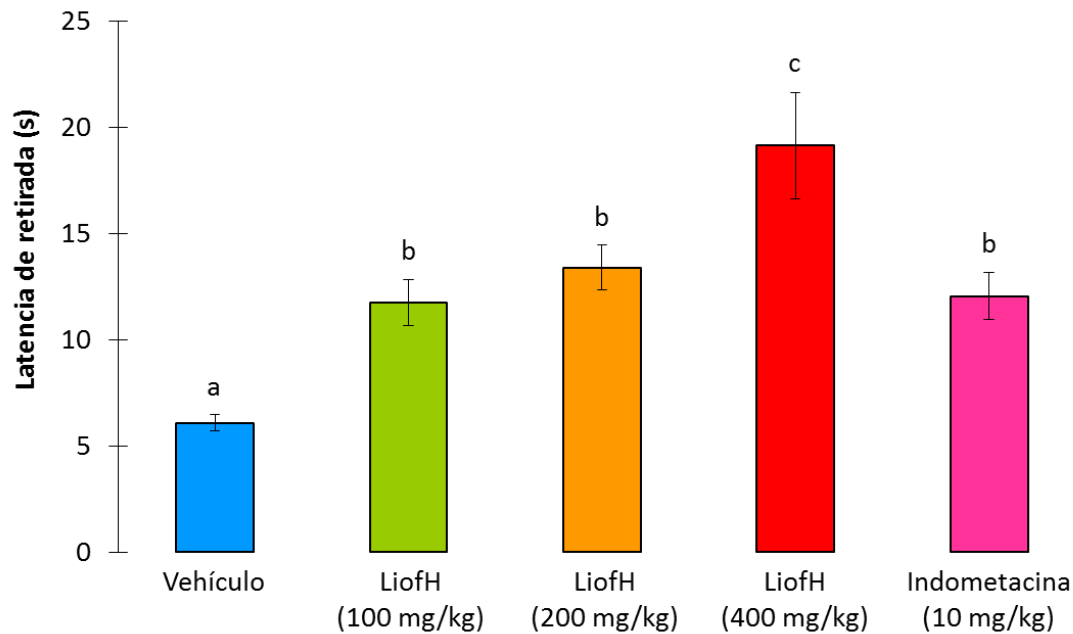


Figura 17. Media \pm EEM de la latencia de retirada en el modelo de placa caliente a los 30 minutos de administrados los tratamientos ($n=6$). Todas las dosis de LiofH (100, 200 ó 400 mg/kg) presentaron efecto antinociceptivo, incluso la dosis más alta superó el efecto del fármaco de referencia Indometacina

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)

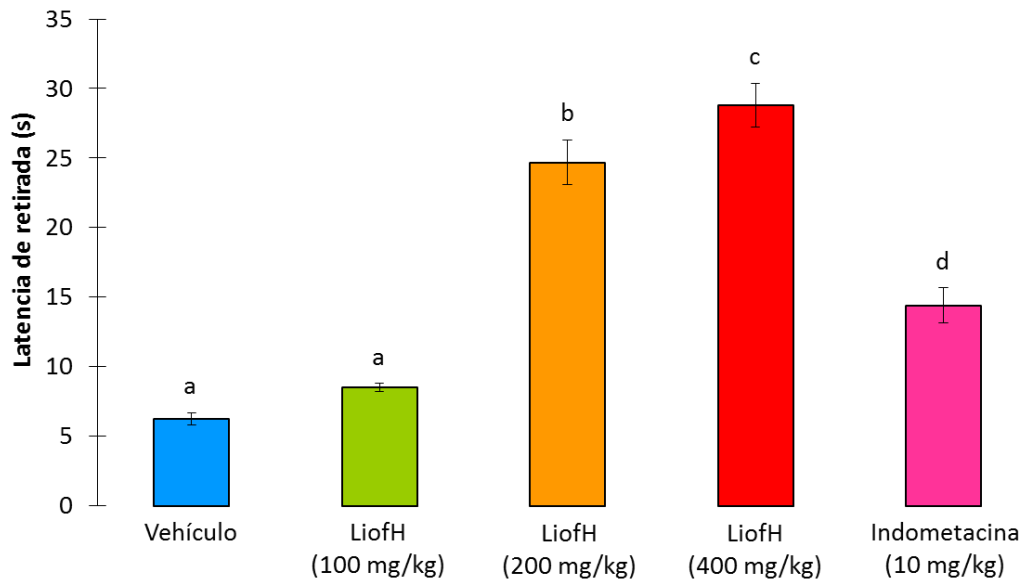


Figura 18. . Media \pm EEM de la latencia de retirada en el modelo de placa caliente a los 60 minutos de administrados los tratamientos (n=6). Sólo las dosis de LiofH de 200 ó 400 mg/kg presentaron efecto antinociceptivo, mismas que superaron el efecto del fármaco de referencia Indometacina.

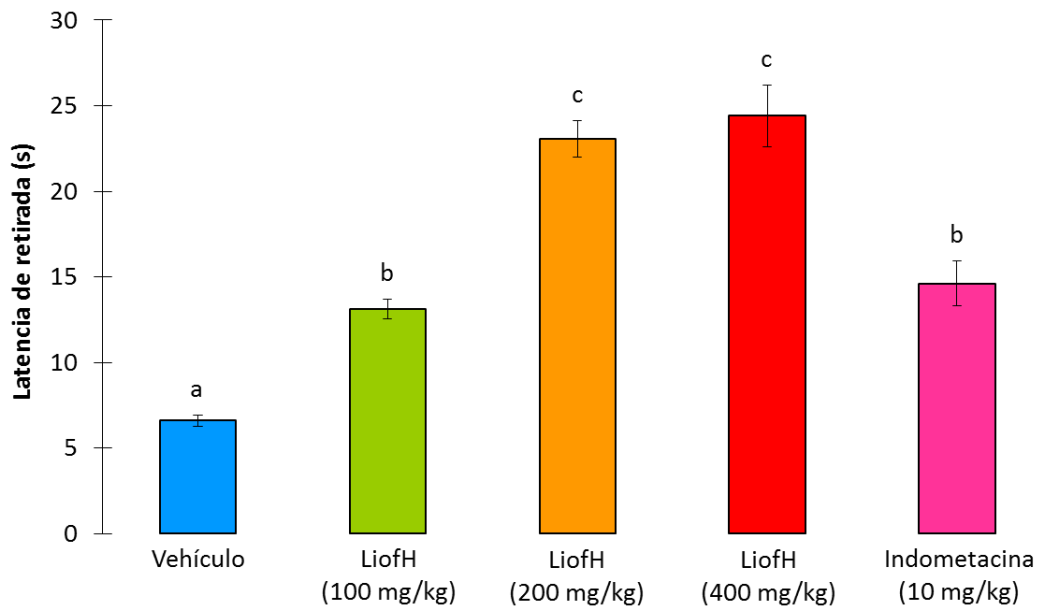


Figura 19. Media \pm EEM de la latencia de retirada en el modelo de placa caliente a los 90 minutos de administrados los tratamientos (n=6). Las dosis de LiofH de 200 y 400 mg/kg presentaron el mismo efecto antinociceptivo que fue superior al de Indometacina, el cual no fue diferente del efecto de la dosis de 100 mg/kg.

VIII.5. Formalina

Para este modelo en la **primera fase** el ANOVA de una vía indicó diferencias significativas entre los tratamientos $F_{(4,29)} = 12.57$, $p = 0.0001$. La prueba post-hoc de Duncan ($p \leq 0.05$) formó dos grupos: **a**) integrado por vehículo y el grupo **b**) integrado indometacina (10 mg/kg) y LiofH de 100, 200 y 400 mg/kg (Figura 20). En la **segunda fase** el ANOVA de una vía mostró diferencias significativas entre los tratamientos $F_{(4,9)} = 9.60$, $p = 0.0001$ y la prueba de Duncan ($p < 0.05$) formó tres grupos: **a**) integrado por vehículo, **b**) integrado indometacina (10 mg/kg) y LiofH en las dosis de 100 y 200 mg/kg y **c**) integrado por los animales tratados con LiofH en la dosis de 400 mg/kg (Figura 21). Por otro lado los porcentajes de inhibición fueron en la primera fase de 49.84% para indometacina, 39.39, 51.21 y 58.62% para el LiofH en las dosis de 100, 20 y 400 mg/kg respectivamente y en la segunda la administración de indometacina presentó un porcentaje de inhibición de 36.33% y del LiofH en dosis de 100, 200 y 400 mg/kg de 31.54, 39.7 y 55.37% respectivamente (Cuadro 5).

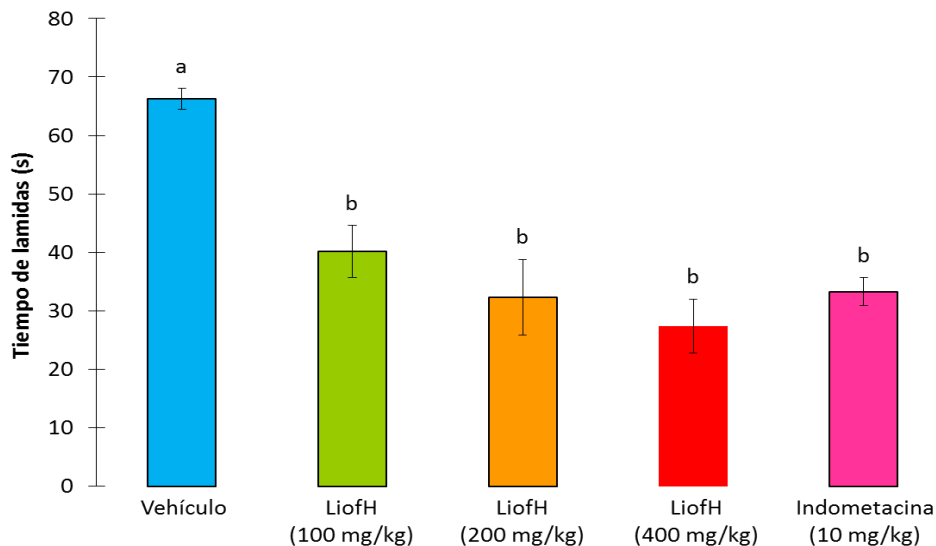


Figura 20. Media \pm EEM del tiempo acumulado de lamidas a la pata en la primera fase (0-5 min) del modelo de la formalina ($n=6$). Se observa que las tres dosis de LiofH (100, 200 y 400 mg/kg) redujeron el tiempo de lamidas, presentando el mismo efecto antinociceptivo que el de Indometacina.

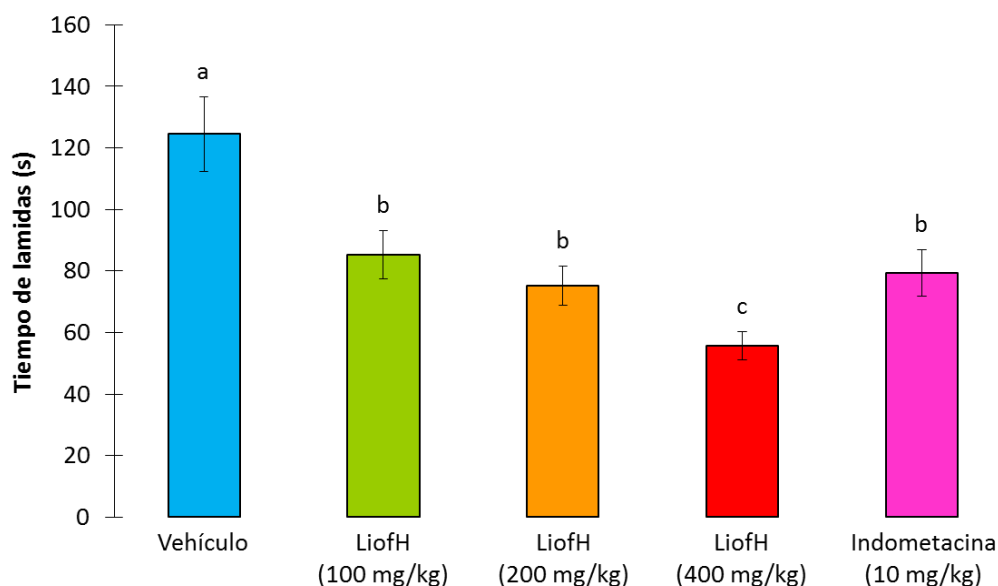


Figura 21. Media \pm EEM del tiempo acumulado de lamidas a la pata en la segunda fase (5-30 min) del modelo de la formalina (n=6). Se observa que las tres dosis de LiofH (100, 200 y 400 mg/kg) presentaron efecto antinociceptivo. El efecto de la dosis de 400 mg/kg fue superior al de Indometacina

Grupo	Tiempo de lamidas (segundos)		Porcentaje de inhibición	
	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2
Vehículo	66.27	124.65	-	-
indometacina 10 mg/kg	33.24	79.36	49.84	36.33
Liofilizado 100 mg/kg	40.16	85.28	39.39	31.54
Liofilizado 200 mg/kg	32.33	75.16	51.21	39.70
Liofilizado 400 mg/kg	27.42	55.63	58.62	55.37

Cuadro 5. Porcentaje de inhibición para el test de la formalina

VIII.6. Edema auricular en ratón inducido por TPA

En el bioensayo de edema inducido en oreja de ratón por TPA, el ANOVA de una vía indicó la presencia de diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos $F_{(3,35)} = 9.84$, $p=0.0001$ y la prueba post-hoc de Duncan ($p<0.05$) formó dos grupos: **a**) integrado por indometacina y LiofH en ambas dosis (1 y 2

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)

mg/oreja) y grupo **b**) integrado únicamente por los animales tratados con TPA (Figura 22). En cuanto al porcentaje de inhibición indometacina presentó 53.66%, el LiofH en la dosis de 1 mg/oreja presentó inhibición de 45.04% y el LiofH en la dosis de 2 mg/oreja presentó inhibición de 62.62% (Figura 23). Los datos evidencian la presencia de actividad antiinflamatoria con ambas dosis, pero el mayor porcentaje lo presentó la dosis alta del LiofH (2mg/oreja) incluso supera al porcentaje de indometacina.

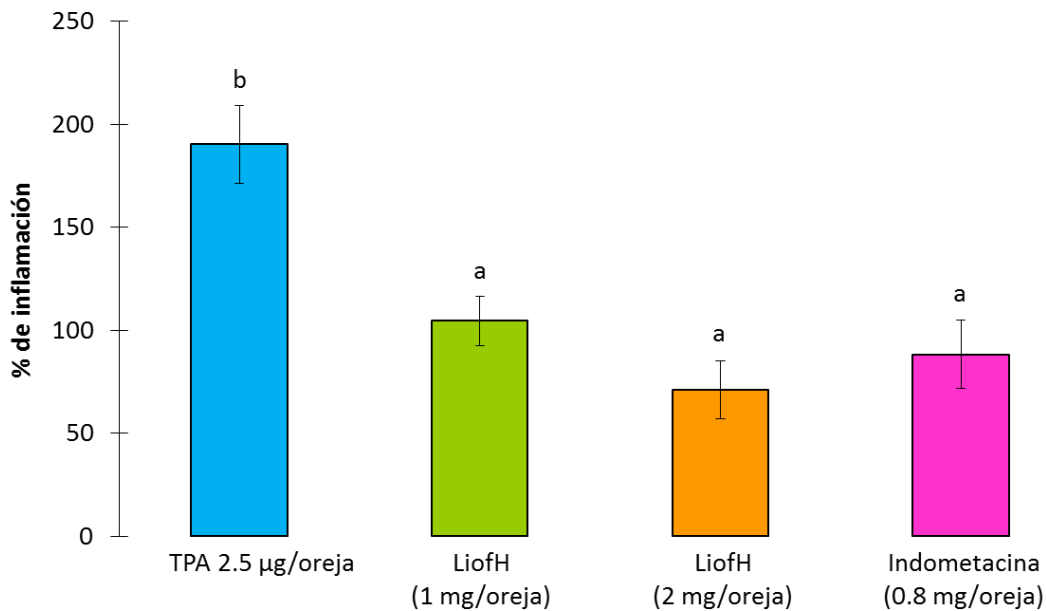


Figura 22. Media \pm EEM del porcentaje de inflamación en el modelo de edema auricular inducido con TPA (n=5). Se observa que la aplicación de LiofH (1 y 2 mg/oreja) redujo el edema de forma similar a lo sucedido con la aplicación de Indometacina.

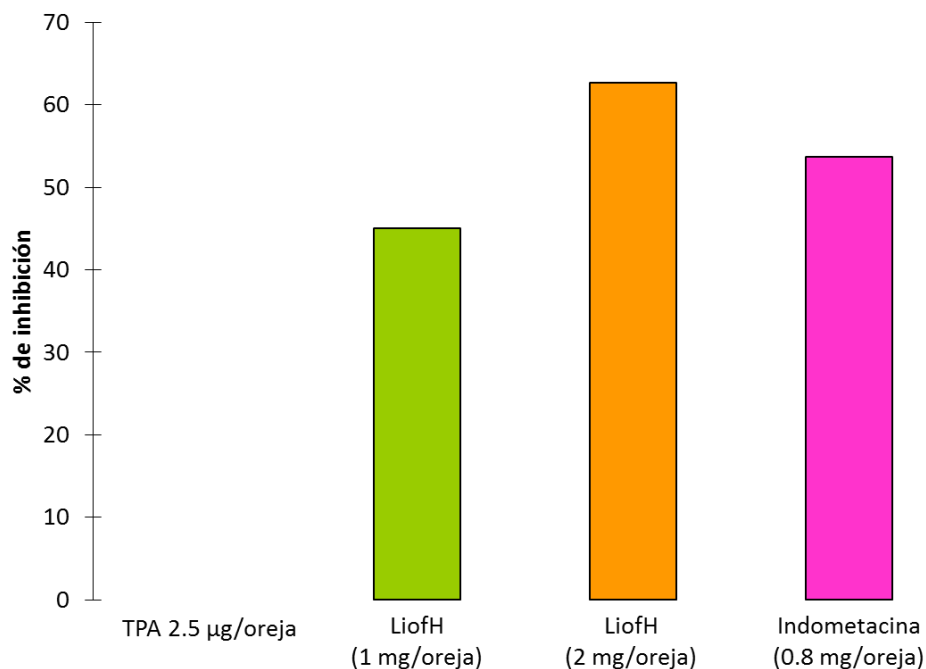


Figura 23. Media \pm EEM del porcentaje de inhibición de la inflamación en el modelo de edema auricular inducido con TPA (n=5). Se observa que desde la aplicación mínima de LiofH (1 mg/oreja) se incrementó el porcentaje de inhibición del edema.

VIII.7. Detección cualitativa de metabolitos secundarios

El análisis preliminar fitoquímico al LiofH reveló la presencia de flavonoides (xantonas y flavonas), azúcares reductores, saponinas esteroidales, taninos derivados de ácido gálico, quinonas, cumarinas y glicósidos cardíacos (Cuadro 4).

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL
LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)**

METABOLITO	PRESENCIA/AUSENCIA
Alcaloides (Reactivo de Dragendorff)	–
Flavonoides- Auronas (Reactivo de Shinoda)	–
Flavonoides- xantonas y flavonas (Reacción con Hidróxido de sodio)	++
Glicósidos cianogénicos (Reactivo de Grignard)	–
Azúcares reductores (Reactivo de Benedict)	++
Saponinas esteroideas (Reactivo de Lieberman Bouchard)	+
Taninos (Reactivo de gelatina)	+
Taninos- Derivados de ácido gálico (Reacción con Cloruro férrico)	+
Taninos- Derivados de catecol	–
Taninos- Compuestos fenólicos	–
Quinonas- Antraquinonas (Reacción de Hidróxido de amonio)	+
Coumarinas (Reacción de Erlich)	+
Glicósidos cardíacos (Reactivo de Pridina)	–
Glicósidos cardíacos (Reactivo de Baljet)	++
Sesquiterpenlactonas	–

Cuadro 6. Preliminar fitoquímico del liofilizado de hojas de *E. americana*. **Nota:** + Presencia escasa, ++ Presencia relativamente abundante, +++ Presencia abundante, - No detectado.

VIII.8. Cromatografía en capa fina

Las cromatografías en capa fina evidenciaron la presencia de flavonoides (Figura 16a) y compuestos fenólicos (Figura 16b).

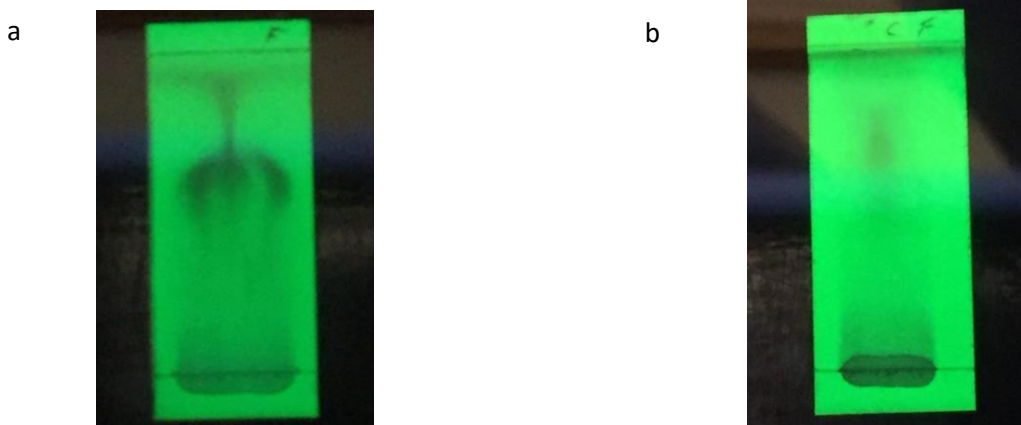


Figura 24a. Cromatografía en capa fina para flavonoides y **Figura 24b.** Cromatografía en capa fina para compuestos fenólicos.

Cuantificación de ácidos fenólicos y flavonoides totales

El contenido de ácidos fenólicos se expresó en mg equivalentes de ácido gálico (GAL) por gramo de muestra y el contenido de flavonoides en mg equivalentes de quercetina (QE) por gramo de muestra. Los resultados mostraron que en el liofilizado de hojas de *Erythrina americana* hay 25.1162 ± 0.14 mg eq de GAL/g de muestra y 14.4154 ± 0.28 mg eq de QE/g de muestra.

VIII.10. Identificación de ácidos fenólicos y flavonoides por HPLC

El análisis con HPLC detectó en el liofilizado de hojas de *E. americana* los siguientes **ácidos fenólicos** (Figura 25): ácido clorogénico, ácido siríngico, ácido vainillínico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido cafeico, ácido p-coumárico y ácido gálico con base a estándares desarrollados. Los **flavonoides** detectados (Figura 26) fueron: apigenina, rutina, florizidina, mirecetina, quercetina y galanginina

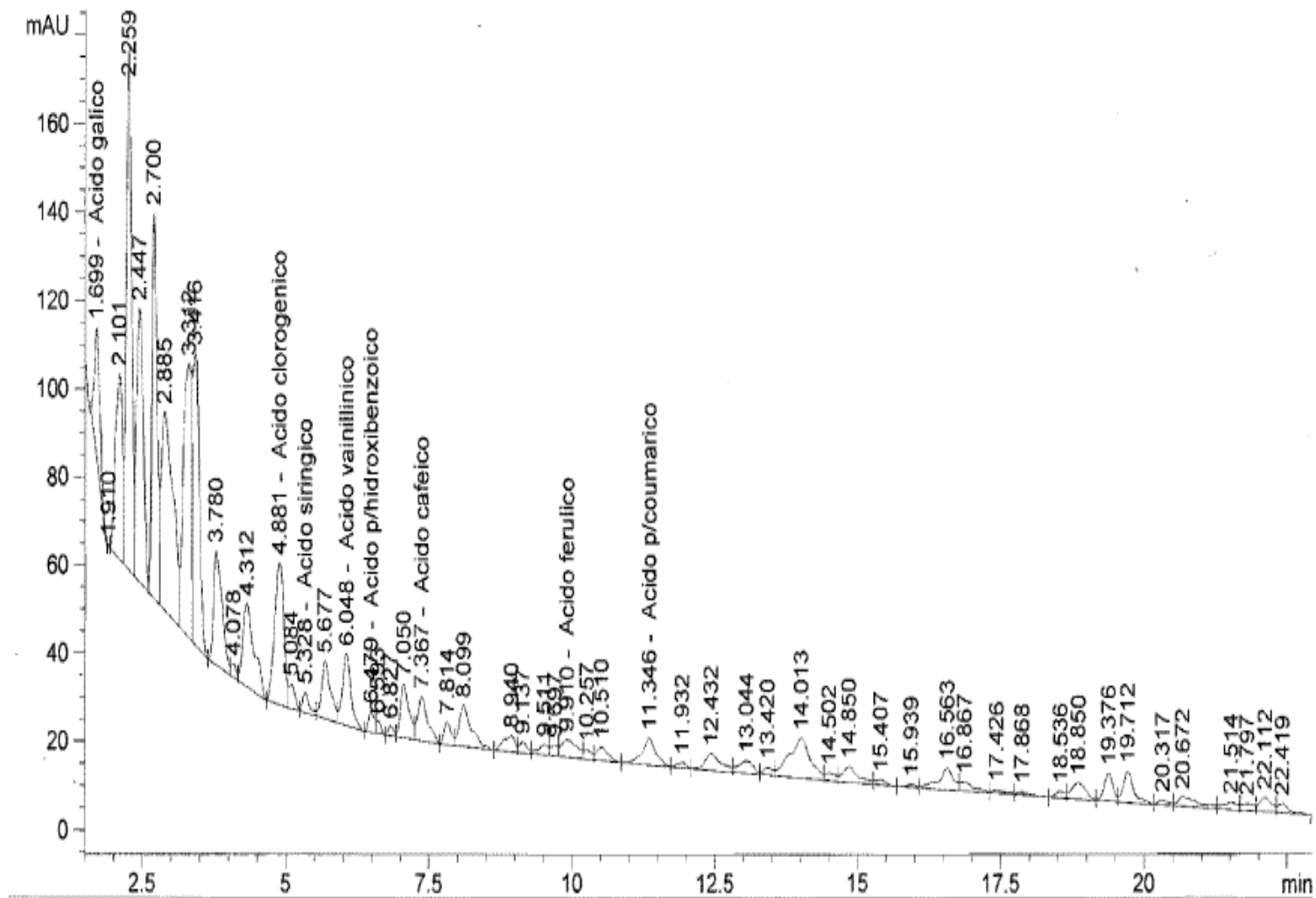


Figura 25. HPLC de ácidos fenólicos (280 nm) presentes en el liofilizado de hojas de *E. americana*.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)

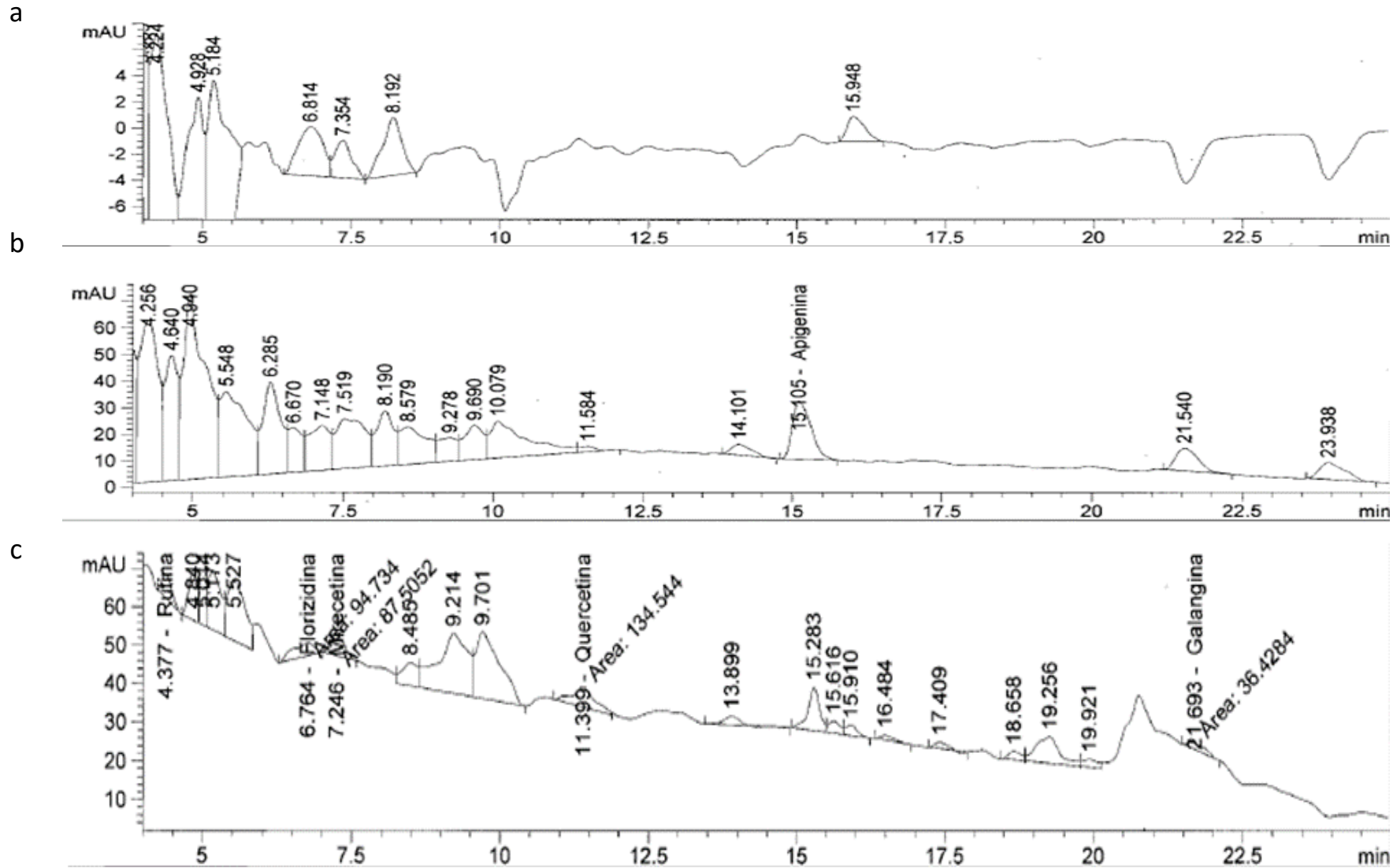


Figura 26. HPLC de flavonoides (a: 316 nm, b: 365 nm c: 254 nm) presentes en el liofilizado de hojas de *E. americana*.

IX. DISCUSIÓN

Erythrina americana es una planta mexicana a la que se le han atribuido propiedades antinociceptivas y antiinflamatorias; sin embargo, hasta el momento esta especie carece de investigaciones experimentales que avalen dichas propiedades por la que en la presente investigación se evaluó la actividad antinociceptiva del liofilizado de hojas de *E. americana* con el modelo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético, placa caliente y la prueba de la formalina también se evaluó la actividad antiinflamatoria con el modelo de TPA.

IX.1 Toxicidad aguda (LD₅₀)

Los animales a los que se les administró LiofH no manifestaron signos o síntomas de toxicidad, aún en la dosis más alta (5000 mg/kg). Kennedy *et al.* (1986) clasificó a las sustancias en cinco categorías conforme a una LD₅₀ aproximada por vía oral. La categoría I “extremadamente tóxica” LD₅₀ menor a 5 mg/kg, categoría II “altamente tóxica” LD₅₀ de 5-50 mg/kg, categoría III “moderadamente tóxica” LD₅₀ de 50-500 mg/kg, categoría IV “ligeramente tóxica” LD₅₀ de 500-5,000 mg/kg y categoría V “sin toxicidad” LD₅₀ mayor a 5,000 mg/kg. Considerando estos criterios el LiofH se encuentra en la categoría V sin toxicidad aguda (pero sin prejuzgar efectos crónicos, carcinogénesis etc.). Esta planta podría ser una buena fuente de agentes antinociceptivos y antiinflamatorios debido a su nula toxicidad.

IX.2 Contorsiones abdominales inducidas por ácido acético

Esta prueba es un modelo clásico de nocicepción aguda periférica (Negus *et al.*, 2006), y se ha considerado un método estándar en la evaluación inicial de analgésicos (Álvarez & Paeile 2005). Los resultados en este estudio, mostraron que sólo a partir de la administración de 200 mg/kg de LiofH, el % de inhibición fue similar al del analgésico de referencia indometacina. Estos hallazgos son consistentes con lo reportado por Miño *et al.* 2002 quienes encontraron que la administración (v.o) del extracto acuoso de hojas de *Erythrina crista-galli* en dosis

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL
LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)**

de 250, 500 y 1000 mg/kg redujo el número de contorsiones en un 21.6, 36.69 y 53.05% respectivamente. Es evidente que con dosis menores del LiofH (400 mg/kg) la inhibición (38.09 %) de las contorsiones fue ligeramente superior a la alcanzada con 500 mg/kg de extracto acuoso de *E. cristagalli* que fue de 36.69%. En contraste, la inhibición reportada por Vasconcelos *et al.* (2003) con la administración de 200 mg/kg del extracto hidroalcohólico de corteza de tallo de *E. Velutina* y *E. mulungu* fue del 88.6 y 86.8% respectivamente y con 400 mg/kg la inhibición alcanzó valores de 95.5 y 83. 5% respectivamente, cifras muy por arriba de lo alcanzado con el LiofH En otro estudio, la administración (v.o.) del extracto acuoso (liofilizado) de la decocción de las hojas de *Erythrina velutina* inhibió las contorsiones abdominales en un 88 y 96% con dosis de 300 y 600 mg/kg respectivamente (Marchioro *et al.* 2003), cifra superiores a las de este estudio. También los extractos hidroalcohólicos de raíz, corteza de raíz y tallo así como la fracción clorofórmica y de acetato de etilo de raíz de *E. mulungu* (100 mg/kg), inhibieron más el número de contorsiones con porcentajes de 66.78, 68.17, 65.39, 55.72 y 60.90% respectivamente (De Oliveira *et al.*, 2012).

Es importante señalar que si bien este experimento evidenció el efecto antinociceptivo del LiofH, las diferencias en el % de inhibición del número de contorsiones, con respecto al de los trabajos mencionados, se pueden explicar en términos de la especie de *Erythrina* trabajada, la parte del vegetal analizado así como a las diferencias en el método de extracción, entre otros.

De acuerdo con Collier *et al.* (1968) el ácido acético actúa indirectamente mediante la liberación de mediadores endógenos (histamina, serotonina, bradiquinina), que estimulan los nociceptores viscerales que son sensibles a los opioides y a los anti-inflamatorios no esteroideos. Deraedt *et al.* (1980) reportaron que este modelo causa una reacción inflamatoria aguda relacionada con el aumento en los fluidos peritoneales de PGE₂ y PGE_{2α} así como productos de lipooxigenasa.

Dado que el LiofH presentó un efecto antinociceptivo semejante al de indometacina y este fármaco actúa a través de la inhibición de la síntesis de

prostaglandinas (Rang *et al.*, 2012) es probable que el mecanismo del efecto antinociceptivo del LiofH sea similar al producido por indometacina. Sin embargo, es necesario diseñar estudios tendientes a determinar el principio(s) activo(s) del liofilizado de hojas de *Erythrina americana* responsables de la actividad antinociceptiva.

IX.3 Placa caliente

Los resultados obtenidos en el presente estudio con el modelo de placa caliente evidencian que las dosis de 200 y 400 mg/kg del LiofH exhibieron actividad antinociceptiva, presentándose un efecto máximo a los 60 minutos de administrados los tratamientos con latencias de retirada de 24.69 y 28.81 segundos para la dosis de 200 y 400 mg/kg del LiofH respectivamente y 14.41 segundos de retirada para indometacina.

Estos resultados se correlacionan con los resultados de Vasconcelos *et al.* (2003), quienes evidenciaron que 400 mg/kg del extracto hidroalcohólico de corteza de *Erythrina velutina* y *Erythrina mulungu* incrementaron la latencia de retirada a los 60 minutos y a los 90 minutos.

Es importante mencionar que el grupo de Marchioro *et al.* (2005), no encontró efecto antinociceptivo con el modelo de placa caliente cuando administraron v.o. el extracto acuoso de hojas de *E. velutina* (300 y 600 mg/kg). Tampoco los extractos hidroalcohólicos de corteza de tallo, tallo, corteza de raíz, raíz, fracción clorofórmica y fracción de acetato de etilo (100 mg/kg) obtenidos de *E. mulungu* tuvieron efecto antinociceptivo (De Oliveira *et al.*, 2012). Esto significa que la actividad antinociceptiva depende de la especie usada, el método de extracción y de la dosis administrada.

La prueba de placa caliente representa un modelo de dolor central ante estímulos nocivos térmicos (Baños, 2002) y se sabe que es selectivo para los analgésicos de acción central como los opioides (Le Bars *et al.*, 2001). Se ha reportado que el mecanismo analgésico de los AINEs se basa en el bloqueo de la producción de prostaglandinas y a nivel central impiden la sensibilización de las

neuronas medulares y supramedulares, permitiendo la modulación (inhibición) central del dolor (Rivera-Ordoñez, 2006). En esta prueba, el LiofH presentó un efecto antinociceptivo superior al de indometacina (AINE) a los 60 minutos de aplicados los tratamientos; los resultados nos sugieren que la actividad antinociceptiva del liofilizado posiblemente ocurre a nivel central. Es conveniente someter a prueba experimental esta propuesta utilizando fármacos antagonistas (naloxona, o naltrexona) y agonistas (morfina, petidina o metadona) que actúen a nivel central.

IX.4. Formalina

Esta prueba es un modelo del dolor somático agudo que arroja una respuesta bifásica; la primera fase inicia inmediatamente después de la inyección y tiene una duración de 3-5 minutos. Esta fase se debe a la acción directa del formol y está mediada por la actividad de las fibras C (nociceptores que responden a estímulos mecánicos, químicos y térmicos) con velocidad de conducción lenta. Los resultados en esta investigación con la prueba de la formalina muestran que en la primera fase el % de inhibición del tiempo acumulado de lamidas de las 3 dosis de LiofH (100, 200 y 400 mg/kg) fue similar al del fármaco indometacina (10 mg/kg).

La segunda fase en este modelo, se produce tras una latencia de unos 10-15 minutos y se debe al desarrollo de un proceso inflamatorio local con liberación de sustancias algógenas (que producen dolor) así como a la puesta en marcha de mecanismos a nivel medular inducidos en la primera fase (Baños, 2002). En este estudio, durante la segunda fase, la inhibición con indometacina (10 mg/kg) fue de 36.33% y con el LiofH (100, 200 y 400 mg/kg) fue de 31.54%, 39.70% y 55.37% respectivamente. Es importante señalar que con 400 mg/kg del LiofH, el tiempo acumulado de lamidas se redujo significativamente con respecto al fármaco indometacina. Los resultados muestran que el LiofH fue efectivo para inhibir el tiempo acumulado de lamidas en las dos fases de la prueba de la formalina.

Los resultados en esta investigación son consistentes con lo reportado por Vasconcelos *et al.* (2003), quienes en la primera fase de este modelo el efecto

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL
LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)**

antinociceptivo del extracto hidroalcohólico de corteza de *Erythrina velutina* y *Erythrina mulungu* (200 y 400 mg/kg), un tiempo acumulado de lamidas de 43.1 y 12.1 segundos con *E. velutina* y de 51.1 y 26.7 segundos con *E. mulungu*. En la segunda fase el tiempo fue de 2.2 y 0.9 segundos con *E. velutina* y con *E. mulungu* de 9.0 y 1.2 segundos. Los autores descartaron la participación del sistema opioide debido a que el efecto no se revirtió con naloxona. Sin embargo, Marchioro *et al.* (2005) atribuyeron la participación del sistema opioide en el efecto antinociceptivo del extracto acuoso de hojas de *Erythrina velutina* (300 y 600 mg/kg con 61.66 y 96.03% de inhibición). En contraste, la administración (v.o.) de 1000 mg/kg del extracto acuoso de hojas de *Erythrina crista-galli* sólo inhibió la segunda fase del test (64.58%) (Miño *et al.* 2002). Lo mismo ocurrió con la administración de 100 mg/kg de extractos hidroalcohólicos de tallo, corteza de tallo, corteza de raíz y la fracción clorofórmica y de acetato de etilo de raíz de *Erythrina mulungu* (De Oliveira *et al.* (2012).

Con respecto al posible mecanismo del efecto antinociceptivo del LiofH observamos que esta actividad se presentó en las dos fases de la prueba de la formalina, siendo el efecto predominante en la segunda fase. Considerando que ambas fases son sensibles a los fármacos de acción central como los opioides, y fármacos de acción periférica como la aspirina, oxifenbutazona, hidrocloridato de morfina, indometacina y dexametasona que sólo inhiben la segunda fase (Shibata, *et al.*, 1989), y tomando en cuenta que el liofilizado también tuvo efecto antinociceptivo en el modelo de placa caliente, el cual es selectivo para fármacos de acción central, se sugiere que el LiofH podría producir una influencia modulada a nivel espinal ya sea dependiente o independiente del sistema opioide o por el mecanismo de acción central de algunos AINEs (vía óxido nítrico, mecanismos serotoninérgicos etc.). Sin embargo es necesario someter estas propuestas a prueba experimental.

Los resultados obtenidos con el modelo de la formalina se suman a los de placa caliente y contorsiones abdominales para evidenciar el potencial del liofilizado de hojas de *Erythrina americana* como antinociceptivo.

IX.5. Edema auricular inducido por TPA

En cuanto a la actividad antiinflamatoria, el edema en oreja de ratón inducido por TPA es un modelo de inflamación aguda tópica que permite evaluar sustancias con actividad antiinflamatoria. El TPA (13-acetato de 12-O-tetradecailforbol), sustancia presente en el aceite de crotón (*Croton tiglium* L.), es un potente agente promotor de tumores. La administración tópica de TPA provoca un edema agudo con infiltración leucocitaria que actúa a través de la activación de la proteincinasa C (PKC) y fosfolípidos. La PKC desempeña un papel importante en la transducción de señales de una gran variedad de sustancias que activan funciones celulares y de proliferación. La PKC activada actúa a diferentes niveles, incluyendo la liberación de ácido araquidónico (AA), la formación de prostanoïdes, el incremento de radicales libres y la síntesis de diversas proteínas proinflamatorias (Young & De Young, 1989 citado en Yueqin, 2007). Los fármacos de referencia más adecuados para este modelo son los inhibidores de la síntesis de prostaglandinas AINEs como indometacina los cuales actúan inhibiendo la actividad de la ciclooxigenasa proximal y por lo tanto inhiben también la síntesis de todas las prostaglandinas (Yueqin, 2007).

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que se presentó una reducción significativa del edema (45.04% y 62.62% de inhibición) con la administración tópica del liofilizado del LiofH en las dosis de 1 y 2 mg/oreja, respectivamente. El porcentaje de inhibición de 2 mg/oreja del LiofH superó al de indometacina que fue de 53.66%. Los resultados en esta investigación concuerdan con lo reportado por Miño *et al.* (2002) quienes reportaron que la aplicación tópica (1mg/oreja) del extracto de diclorometano y metanol de hojas de *Erythrina crista-galli* redujeron el edema auricular (72.5% y 40.2% respectivamente). Otros investigadores han trabajado con compuestos aislados de extractos provenientes de especies del género *Erythrina*, tal es el caso de Talla *et al.* 2003 quienes reportaron que la aplicación aguda del isoflavonoide warangalon aislado de la corteza de tallo de *Erythrina addisoniae* (0.25 mg/oreja) inhibió el edema auricular inducido por TPA (78%); mientras que con la aplicación crónica,

el efecto de warangalon fue moderado. En otro estudio la administración (2.5, 5 y 10 mg/kg v.o.) del flavonoide abyssinona V-4-metil éter, aislado de corteza de *Erythrina drooamasiana* inhibió (22.45, 36.73 y 62.65% respectivamente) el edema auricular inducido con la aplicación de xileno (Sokeng *et al.*, 2013).

Los hallazgos del experimento de inflamación con el modelo de edema auricular muestran que el LiofH (1 y 2 mg/oreja) redujo el edema producido con TPA, lo cual es consistente con reportes en la literatura con otras especies del género. Hasta este momento los resultados en este estudio evidencian el efecto antinociceptivo y antiinflamatorio del liofilizado de hojas de *Erythrina americana*.

Ya se ha señalado que existe una relación estrecha entre el mecanismo del dolor y la inflamación ya que las alteraciones tisulares producidas por una lesión, inflamación o enfermedad liberan sustancias químicas con capacidad algógena (iones H⁺, K⁺, bradicinina, prostaglandinas, citocinas, sustancia P, CGRP entre otros) que sensibilizan o activan a los nociceptores (Verdú *et al.*, 2002). En este estudio el liofilizado de hojas de *Erythrina americana* también tuvo actividad antinociceptiva, por lo que se presentan evidencias de la relación entre la inflamación y del dolor.

IX.6. Análisis Preliminar fitoquímico

Con respecto a la composición química, en el género *Erythrina* se ha evidenciado la presencia de diferentes metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, lectinas, pterocarpanos entre otros, mismos que le confieren actividad biológica por lo que diferentes especies son usadas en la medicina tradicional de diversas regiones del mundo para el tratamiento de numerosas patologías (Pino-Rodríguez *et al.*, 2004).

El análisis preliminar fitoquímico realizado al LiofH permitió identificar cualitativamente la presencia de flavonoides (xantonas y flavonas), azúcares reductores, saponinas esteroidales, taninos derivados de ácido gálico, quinonas, cumarinas y glicósidos cardíacos. De estos compuestos se ha reportado que los flavonoides tienen propiedades antidiabéticas, (Keshari *et al.*, 2002), efecto

hepatoprotector (Tong *et al.*, 2015), actividad antioxidante (Chun-Feng *et al.*, 2014) y actividad antinociceptiva y antiinflamatoria (Toker *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2014). Las saponinas cuentan con actividad antiviral, hemolítica, molusquicida (Apers *et al.*, 2001), antibacteriana (Killeen *et al.*, 1998), antiinflamatoria (Just *et al.*, 1998; Kwak *et al.*, 2003) y tres propiedades: antinociceptiva, antiinflamatoria y antioxidante fueron reportadas por Speroni *et al.*, 2005. A los taninos se les encontró actividad emulsificante y antioxidante (Figueroa-Espinosa *et al.*, 2015), efecto gastroprotector (Vasconcelos *et al.*, 2010) y también actividad antiinflamatoria (Mota *et al.*, 1985). Por otro lado, a las cumarinas se les han encontrado propiedades antibacteriana (Yasunaka *et al.*, 2005), antifúngica (Stein *et al.*, 2006) y antiartrítica (Xian Luo *et al.*, 2011). Finalmente a los glicósidos cardiacos se les ha atribuido principalmente actividad antiproliferativa (El-seedi *et al.*, 2013; Rascon-Valenzuela *et al.*, 2015).

IX.7. Cuantificación de ácidos fenólicos y flavonoides totales

Los resultados de la cuantificación indicaron que en el LiofH la concentración de ácidos fenólicos fue mayor (25.1162 ± 0.14 mg eq de GAL/g de muestra) que la concentración de flavonoides (14.4154 ± 0.28 mg eq de QE/g de muestra). Mata (2015) realizó únicamente la cuantificación de flavonoides totales, encontrando 21.51 ± 0.35 mg QE/g de muestra en el extracto acuoso-liofilizado de hojas de *Erythrina coralloides*, valor mayor al encontrado en este estudio. Es importante considerar que las variaciones pueden deberse a que las plantas responden a cambios ambientales causados por la época del año, la fertilización, daños causados por plagas y enfermedades; lo cual influye en la producción de metabolitos secundarios (Pérez-Pérez *et al.* 2014) y que en su investigación trabajó con una especie distinta a la nuestra.

IX.8. Análisis con HPLC

El análisis con HPLC del LiofH evidenció la presencia de los siguientes ácidos fenólicos: ácido clorogénico, ácido siríngico, ácido vainillínico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido cafeico, ácido p-coumárico y ácido gálico. Estudios científicos han reportado que el ácido clorogénico tiene propiedades antioxidantes,

antiinflamatorias (inhibiendo niveles de óxido nítrico y COX-2), antiobesidad, antimicrobianas y efecto hepatoprotector (Francisco *et al.*, 2013; Shi *et al.*, 2013), También hay reportes que sustentan la actividad antibacteriana, antidiabética, así como la supresión de fibrosis hepática del ácido siríngico (Shi *et al.*, 2016; Srinivasan *et al.*, 2014). En cuanto a las propiedades del ácido p-hidroxibenzoico se ha señalado su actividad antioxidante, antifúngica y antimicrobiana (Heleno *et al.*, 2013; Farhoosh *et al.*, 2016). El ácido cafeico cuenta con reportes que sostienen su actividad antitumoral, antiinflamatoria y antioxidante; este polifenol actúa inhibiendo la producción de óxido nítrico y de lipopolisacaridos que inducen la producción de mediadores proinflamatorios (Búfalo *et al.*, 2013; Cai *et al.*, 2016). Del ácido p-coumárico se ha evaluado su actividad antitumoral (Peng *et al.*, 2015) y del ácido gálico se ha evidenciado su actividad antioxidante, antitumoral y antiinflamatoria; este ácido actúa regulando la producción de citocinas, interleucinas, COX-2 y quimiocinas; también se ha reportado su capacidad neuroprotectora, hepatoprotectora y gastroprotectora (Alves *et al.*, 2016; Chon-Hyeon *et al.*, 2012).

El análisis con HPLC del LiofH evidenció la presencia de los siguientes flavonoides: apigenina, rutina, florizidina, mirecetina, quercetina y galangina

Reportes experimentales han evidenciado que quercetina posee propiedades antivirales, antioxidantes (reduce el incremento de especies reactivas de oxígeno), antiinflamatorias (inhibiendo el metabolismo del ácido araquidónico), antiobesidad y efecto hepatoprotector (Gomes *et al.*, 2016). Entre las actividades reportadas para galangina se encuentra la actividad antiviral, antitumoral y antiinflamatoria (reduce niveles de interleucinas y citocinas) (Zhu *et al.*, 2014). Rutina posee actividad gastroprotectora a través del efecto anti-lipoperoxidante y actividad antiinflamatoria mediante la inhibición de fosfolipasa A-2 (Lindahl *et al.*, 1997; La casa *et al.*, 2000). Se ha reportado que florizidina es un agente antidiabético (Rossetti *et al.*, 1987; Zhao *et al.*, 2004). Finalmente se ha encontrado que Apigenina disminuye la gastritis atrófica y el cáncer gástrico en gerbos (Chao-Hung *et al.*, 2004). De esta revisión se desprende que varios de los

ácidos fenólicos y flavonoides detectados en el liofilizado con el análisis en HPLC, poseen actividad antiinflamatoria, antioxidante o ambas.

Es sabido que la producción de radicales libres (especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno) forma parte de la fisiopatología de enfermedades como la inflamación. Las especies reactivas de oxígeno (ERO) pueden ser liberadas al espacio extracelular por los leucocitos y provocar aumento de la expresión de las citocinas, las quimiocinas (IL-8) y de las moléculas de adhesión leucocitaria endotelial. También se sabe que su incremento está relacionado con la activación del NF- κ B el cual es muy importante en el proceso inflamatorio, ya que controla la transcripción de genes que codifican la expresión de IL-1, TNF- α , proteínas de la fase aguda, factores de crecimiento, y la expresión Cox-2 (Seo *et al.*, 2002). Entonces es posible una relación entre antioxidantes y efecto antiinflamatorio.

En términos generales el análisis preliminar fitoquímico, el HPLC y la revisión bibliográfica sobre las propiedades de los metabolitos secundarios presentes en el liofilizado, permiten proponer al ácido clorogénico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido cafeico, ácido gálico, quercetina, galanginina y rutina como los responsables de la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria del liofilizado de hojas de *Erythrina americana* encontrada en el presente estudio. Sin embargo no hay que descartar que la sinergia de los distintos componentes presentes en los extractos naturales hace que la actividad que manifiestan los productos naturales una vez aislados sea menor en algunos casos que la del extracto inicial (Jiménez, 2013) razón por la cual es necesario realizar aislamientos biodirigidos.

Los resultados de este estudio proporcionan evidencia experimental del potencial antinociceptivo y antiinflamatorio del liofilizado de hojas de *Erythrina americana* (LiofH), así como de su nula toxicidad en las dosis empleadas y explican su uso en la medicina tradicional mexicana para tales fines. Sin embargo, estudios futuros son necesarios para determinar con precisión el mecanismo de acción del liofilizado, además de ampliar el estudio de detección de flavonoides y ácidos fenólicos presentes en él.

X. CONCLUSIONES

- El ensayo de toxicidad reveló que el liofilizado de hojas de *Erythrina americana* es inocuo.
- El liofilizado de hojas de *Erythrina americana* posee actividad antinociceptiva y antiinflamatoria.
- La revisión bibliográfica permite proponer al ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido gálico (ácidos fenólicos), quercetina, galangina y rutina (flavonoides), como algunos de los metabolitos, responsables de la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria del liofilizado de hojas de *Erythrina americana*.
- Los resultados de esta investigación explican el uso tradicional de *Erythrina americana* contra el dolor y la inflamación.

XI. PERSPECTIVAS DE ESTUDIO

- Es necesario realizar investigaciones tendientes a dilucidar el mecanismo de acción específico del efecto antinociceptivo y antiinflamatorio del liofilizado de hojas de *Erythrina americana*.
- Aislamiento y purificación de los principios activos presentes en el liofilizado de hojas de *Erythrina americana* responsables de su actividad antinociceptiva y antiinflamatoria.
- Evaluar la actividad antiinflamatoria del liofilizado de hojas de *Erythrina americana* empleando otros modelos animales.

XII. GLOSARIO

Anafilaxia: Reacción alérgica severa e inesperada de comienzo rápido y que puede causar la muerte. El diagnóstico de anafilaxia es esencialmente clínico destacando el compromiso de varios sistemas: cardiovascular, cutáneo, respiratorio y gastrointestinal.

Analgésico: Falta o supresión de toda sensación dolorosa, sin pérdida de los restantes modos de la sensibilidad.

Anestésico: Sustancia que produce la pérdida temporal del conocimiento o de la sensibilidad de una parte del cuerpo.

Apendicitis aguda incipiente: Proceso inflamatorio inicial del apéndice.

Artropatía: Enfermedad que afecta a las articulación.

Artritis reumatoide: Enfermedad inflamatoria sistémica crónica, que afecta principalmente las membranas sinoviales de múltiples articulaciones.

Bradycardia: Alteración del ritmo al que late el corazón, concretamente se trata de un descenso en la frecuencia cardíaca. La bradicardia empieza a considerarse como tal cuando las pulsaciones están por debajo de las 60 por minuto en reposo.

Depresión respiratoria: También conocida como bradipnea, que es la disminución de la frecuencia respiratoria.

Disentería: Trastorno inflamatorio del intestino, especialmente del colon, que produce diarrea grave que contiene moco y/o sangre en las heces.

Distensión muscular: desgarró parcial o completo de la unión miotendinosa. Por tanto las fibras del tejido se rompen y sangran produciendo un hematoma.

Citopenia: Afección por la que hay un número de células sanguíneas más bajas que el normal.

Síndrome miofascial: Trastorno no inflamatorio que se manifiesta por dolor localizado, rigidez y cuya característica primordial es la presencia de "puntos gatillo.

Foliolo: cada una de las piezas separadas en las que se encuentra dividido el limbo de una hoja.

Glabro: Denominación dada a organismos, o a sus partes, que no presentan pelos, tricomas o estructuras similares en su superficie externa.

Hiperplasia: Desarrollo excesivo de un tejido a causa de un aumento del número de células, pero conservando la arquitectura y las funciones normales del tejido.

Nefritis: Inflamación en el riñón.

Necrosis papilar: Es una lesión necrótica de las papilas renales, asociada, en el 70% de los casos, a pielonefritis bacteriana, en pacientes predispuestos a padecer diabetes, al abuso de analgésicos, a una anemia falciforme u obstrucción.

Neutropenia: Reducción en el número absoluto de neutrófilos en la circulación de sangre. La condición puede ser aguda o crónica, y se considera lo más a menudo posible como resultado de desórdenes autoinmunes, de tratamientos de quimioterapia o de reacciones de droga adversas.

Nocicepción: detección de daño tisular mediante transductores especializados unidos a las fibras A delta y C, que transmiten señales al asta posterior.

Opsonización: Proceso por el que se marca a un patógeno para su ingestión y destrucción por un fagocito. La opsonización implica la unión de una opsonina, en especial, un anticuerpo a un receptor en la membrana celular del patógeno.

Rinitis: Inflamación del revestimiento mucoso de la nariz, caracterizada clínicamente por uno o más síntomas: estornudo, prurito (picor), congestión nasal y secreción.

Rinorrea: Flujo o emisión abundante de líquido por la nariz, generalmente debido a un aumento de la secreción de mucosidad nasal.

Síndrome nefrótico: Trastorno renal causado por un conjunto de enfermedades, caracterizado por aumento en la permeabilidad de la pared capilar de los glomérulos renales que conlleva a la presencia de niveles altos de proteína en la orina (proteinuria), niveles bajos de proteína en la sangre (hipoproteinemia o hipoalbuminemia), ascitis y en algunos casos, edema, colesterol alto (hiperlipidemia o hiperlipemia) y una predisposición para la coagulación.

Techo analgésico: Existe una dosis a partir de la cual incrementos de la misma aumentan los efectos secundarios sin que esto se traduzca en una mayor eficacia analgésica.

XIII. LITERATURA CITADA

- Aguilar, C. A. & Zolla, C. (1982). *Plantas tóxicas de México*. Instituto Mexicano del Seguro Social. México.
- Álamo, C. (2005). *Guía farmacológica de analgésicos*. Madrid. Arán ediciones.
- Aldrete, A. J., Aldrete, V. J. & Aguilar, N. A. (2000). *Manual Clínico del Dolor*. México. JGH Editores.
- Alves, A. C. S., Mainardes, R.M. & Khalil, N. M. (2016). Nanoencapsulation of gallic acid and evaluation of its cytotoxicity and antioxidant activity. *Materials Science and Engineering C*, 60, 126–134.
- Ávalos, G. A. & Pérez-Urria, C. E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca* (Biología), Serie Fisiología Vegetal, 2(3), 119-145.
- Amo, S. D. (1979). Plantas medicinales del estado de Veracruz. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos, Xalapa, Veracruz. Citado en Hastings, R. B. (1990). Medicinal Legumes of Mexico: Fabaceae, Papilionoidae, part one. *Economic Botany*, 44, 336-348.
- Anaya, L. A. & Espinosa, G. J. (2006). La química que entreteje a los seres vivos. *Ciencias*, 83: 4-13.
- Apers, S., Baronikova, S., Sindambiwe, B., Witvrouw, M., Clercq, E., Berghe, V., Marck, E., Vlietinck, A., Pieters, L. (2001). Antiviral, Haemolytic and Molluscicidal Activities of Triterpenoid Saponins from *Maesa lanceolata*: Establishment of Structure-Activity Relationships. *Planta Médica*, 67, 528-532.
- Barr, M. & Kiernan, A. J. (2009). El sistema nervioso humano, una perspectiva anatómica. (9ª Ed.), Lippincott Williams & Wilkins.
- Barrett, K., Barman, M.S., Boitano, S. & Brooks, H. (2013). *Fisiología médica* (24ª Ed., pp. 157-177). México: Mc Graw Hill Interamericana.
- Baños, J. E. (2002). Estudio Experimental del Dolor. En Aliaga, L., Baños, C de Barutell, Molet, J. & Rodríguez de la Serna. *Tratamiento del Dolor Teoría y Práctica*. (57-64), Barcelona: Publicaciones Permanyer.
- Bedane, K. G., Kusari, S., Eckelmann, D., Masesane, B., Spiteller, M. & Majinda, R. T. (2015). Erylivingstone A–C with antioxidant and antibacterial activities from *Erythrina livingstoniana*. *Fitoterapia*, 105, 113-118.
- Bedane, K. G., Kusari, S., Masesane, B., Spiteller, M. & Majinda, R. (2016). Flavanones of *Erythrina livingstoniana* with antioxidant properties. *Fitoterapia*, 108-48-54.

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL
LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)**

- Bilbeny, L., N. & Paeile, J., C (2005). Definición, clasificación y semiología. En Paeile, J., C. & Bilbeny, L., N. (Eds), *El dolor de lo molecular a lo clínico*. (3ª Ed., pp. 23-26). Buenos Aires: Mediterraneo
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009) colorín *Erythrina americana* Miller. Leguminosae. En Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana Disponible: www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/presenta.html. Consultada el 25 de marzo del 2016.
- Bonilla, P., De lima, L., Díaz, P., León, J. & González, M. (2011). Uso de opioides en tratamiento del dolor, manual para Latinoamérica. Venezuela: Tips Imagen y Comunicación 1967 C. A.
- Brunton, L., Lazo, J. S. & Parker, L.K. (2007). Las bases farmacológicas de la terapéutica. (11ª Ed.). México: McGraw-Hill Interamericana.
- Búfalo, M. C., Ferreira, I., Costa, G., Francisco, V., Liberal, J., Cruz, M. T., Lopes, M. C., Batista, M. T. & Sforcin, J. M. (2013). Propolis and its constituent caffeic acid suppress LPS-stimulated pro-inflammatory response by blocking NF- κ B and MAPK activation in macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, 149, 84–92.
- Budowski G. (1998). Importancia, características y uso de las cercas vivas. En: *Huertos caseros tradicionales de América Central: características, beneficios e importancia, desde un enfoque multidisciplinario*. Turrialba: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, 117-127.
- Cai, H., Huang, X., Xu, S., Shen, H., Zhang, P., Huang, Y., Jiang, J., Sun, Y., Jiang, B., Wu, X., Yao, H. & Xu, J. (2016). Discovery of novel hybrids of diaryl-1, 2,4-triazoles and caffeic acid as dual inhibitors of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase for cáncer therapy. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 108, 89-103.
- Cailliet, M. D. (1990). Síndromes dolorosos, incapacidad y dolor de tejidos blandos (2ª Ed.). México: El Manual Moderno.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. & chern, J. (2002), Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 3,178-182.
- Chao-Hung, K., Weng, B., Wu, C., Yang, S., Wu, D. & Wang, Y. (2004). Apigenin has anti-atrophic gastritis and anti-gastric cancer progression effects in *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils. *Journal of Ethnopharmacology*, 151, 1031-1039.
- Chong-Hyeon, Y., Chung, S., Leeb, S. W., Parkb, Y. B., Leeb, S. K. & Parkb, M. (2013). Gallic acid, a natural polyphenolic acid, induces apoptosis and

- inhibits proinflammatory gene expressions in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes. *Joint Bone Spine*, 80, 274–279.
- Covarrubias-Gómez, A. (2008). Las clínicas del dolor en México. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 31(1), 66-70.
- Collier, H. H., Dinneen, C. D., Johnson, C. A & Schneider, C. (1968). The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*. 32, 295-310.
- Coren, S., Ward, M. L. & Enns, T. J. (2001). Gusto, olfato, tacto y dolor (5ª Ed.). España: McGraw-Hill Interamericana.
- Cornelius, C.W., Wanjala, R.T. & Majinda, U. (2000). A new isoflavanone from the stem bark of *Erythrina latissima*. *Fitoterapia*, 71, 400-405.
- Deraedt, R., Jouquey, S., Delevallé, F. & Flahaut, M. (1979). Release of prostaglandins e and f in an algogenic reaction and it inhibition. *European Journal of Pharmacology*, 611-624.
- De Oliveira, S. G. M., De Aquino, B. A., Da Silva, L. D., Santos, S. M., Porfirio, R. P. A., Sant Ana, G. E., Santos, V. O., Alexandre-Moreira, S. M. & De Araújo-Júnior, X. J. (2011). Antinociceptive and anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extracts and fractions from *Erythrina mulungu*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(1), 157-161.
- De Young, L. M., Kheifets, J. B., Ballaron, J. y Young, J. M. (1989). Edema and cell infiltration in the pholbol ester-treated mouse ear ere temporally separated and can be differential modulated by pharmacologic agents. *Agents Actions*, 26, 335-341.
- Domínguez, X. A. & Alcorn, J. B. (1985). Screening of Medicinal Plants Used by Huastec Mayans of Northeastern Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, 13, 139-156.
- Dubuisson D & Dennis S. G. (1977).The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brainstem stimulation in rats and cats. *Pain*, 4, 161-174.
- El-Seedi, H. R., Burman, R., Mansour, A., Turki, Z., Boulos, L., Gullbo, J. & Goranson, U. (2013). The traditional medical uses and cytotoxic activities of sixty-one Egyptian plants: Discovery of an active cardiac glycoside from *Urginea maritima*. *Journal of Ethnopharmacology*, 145, 746-757.
- Farhoosh, R., Johnny, S., Asnaashari, M., Molaahmadibahraseman, N. & Sharif, A. (2016). Structure–antioxidant activity relationships of o-hydroxyl, o-methoxy, and alkyl ester derivatives of p-hydroxybenzoic acid. *Food Chemistry*, 194, 128–134.

- Fernández-Vallín, E. (2004). Opioides, mecanismo de acción. Foro de Investigación y Tratamiento del Dolor para la Comunidad Médica, 21-24.
- Figueroa-Espinoza, M. C., Zafimahova, A., Alvarado, P. G., Dubreucq, E. & Poncet-Legrand, C. (2015). Grape seed and apple tannins: Emulsifying and antioxidant properties. *Food Chemistry*, 178, 38-44.
- Flores, J. (1999). Fármacos analgésicos opioides. En Flores, J., Armijo, J. A & Mediavilla, A. *Farmacología Humana*. (pp. 435-452), Barcelona: Masson.
- Francisco, V., Costa, G., Figueirinha, A., Marques, C., Pereira, P., Neves, B. M., Lopes, M. C., García-Rodríguez, C., Cruz, M. T. & Batista, M. T. (2013). Anti-inflammatory activity of *Cymbopogon citratus* leaves infusión via proteasome and nuclear factor- κ B pathway inhibition: Contribution of chlorogenic acid, *Journal of Ethnopharmacology*, 148, 126–134.
- Gandhi, K. H., Heitz, W. J. & Viscusi, R. E. (2010). Tratamiento del dolor. En Waldman, A.S., Terzic, A. (Eds.), *Farmacología y terapéutica* (pp. 883-893). México: Manual Moderno.
- Garín-Aguilar, M. E., Ramírez, L. J. E., Soto-Hernández, M., Valencia del Toro, G. & Martínez, V. M. (2000). Effect of crude extracts of *Erythrina americana* Mill. on aggressive behaviour in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 69(2), 189-196.
- Garín-Aguilar, M. E., López, V. S., Villanueva, M.C., Valencia del Toro, G., Soto-Hernández, M. & Prado-Alcalá, R. A. (2009). Erisodina y receptores nicotínicos $\alpha 4\beta 2$ del hipocampo dorsal en la consolidación de la memoria. *Revista Latinoamericana de Química*, 37(3), 206-217.
- García. M. G. (2010). *Participación de receptores nicotínicos $\alpha 4\beta 2$ del hipocampo ventral de rata en el aprendizaje de evitación*. Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, México.
- Gomes, D. E., Caruso, I. P., Araujo, G. C., Louren, I. O., Melo, F. A., Cornélio, M. N., Fossey, M. A. & Souza, P. F. (2016). Experimental evidence and molecular modeling of the interaction between hRSV-NS1 and quercetin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 40-47.
- González, M. J & Fariñas A. C. (2004). Inflamación. En García-Conde, J., Merino, S.J. & González, M. J. (Eds.), *Patología General Semiología Clínica y Fisiopatología* (2ª Ed. pp.127-135). España: Mc Graw Hill Interamericana.
- Hall, R.V., Murillo, P.N., Rocha, P.M. & Rodríguez, V.E. (2001). Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Centro Nacional de Información de medicamentos. Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica.
- Hastings, R. B. (1990). Medicinal Legumes of Mexico: Fabaceae, Papilionoidae, part one. *Economic Botany*, 44, 336-348.

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL
LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)**

- Hegde, V. R., Dai, P., Patel, M. G., Puar, M. S., Das, P., Pai, J., Bryant, R. & Cox, A. (1997). Phospholipase A2 Inhibitors from an *Erythrina* Species from Samoa. *Journal of Natural Products*, 60(6), 537-539.
- Heleno, S., Ferreira, I., Esteves, P. A., Ciric, A., Glamoclija, J., Martins, A., Sokovic, M. & Queiroz, M. J. (2013). *Food and Chemical Toxicology*, 58, 95–100.
- Ibarra, E. E., Sánchez, P. M., García, M. R., 3, Chávez, S. M. R., Valverde, R. G. & Soto-Hernández, M. (2011). Actividad antioxidante de alcaloides de *Erythrina americana* Miller. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34(4), 241–246.
- Innok, P., Rukachaisirikul, T., Phongpaichit S. & Suksamran, A. (2010). Fuscacarpans A–C, new pterocarpans from the stems of *Erythrina fusca*. *Fitoterapia*, 81, 518-523.
- Jiménez, E. (2013). El papel de los productos naturales en el mercado farmacéutico actual. *Anales de Química*, 109(2), 134-141.
- Just, M. J., Redo, M.C., Giner, M. R., Cuéllar, M. J., Máñez, S., Bilia, A. R. & Rios, J. L. (1998). Anti-Inflammatory Activity of Unusual Lupane Saponins from *Bupleurum frutescens*. *Planta Médica*, 64, 404-407.
- Kennedy, G., Rayanne, J., Ferenz, L. & Burgess, A. B. (1986). Estimation of Acute Oral Toxicity in Rats by Determination of the Approximate Lethal Dose Rather Than the LD₅₀. *Journal of Applied Toxicology*, 6(3).
- Koster R., Anderson & Dee Beer A. J. (1959). Acetic acid for analgesic screening. *Federation proceedings*, 18, 412-416.
- Kouam, J., Kengfaczk, E., Fomum, T. (1991). Two new triterpenoid saponins from *Erythrina sigmoidea*. *Journal of Natural Products*, 54(5), 1288-1292.
- Killeen, F. G., Madigan, A. C., Cannolly, R. C., Walsh, A. G., Clark, C., Hynes, J. M., Timmins, F. B., Headon, R. D. & Power, R. (1998). Antimicrobial Saponins o *Yucca schidigera* and the Implications of Their in Vitro Properties for Their in Vivo Impact. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 3178-3186.
- Kumar, V., Abbas, A., Fausto, N. & Mitchell, R. (2008). *Patología humana*. (8ª Ed.), España: Elsevier.
- Kumazawa, S., Taniguchi, M., Suzuki, Y., Shimura, M., Kwon, M. & Nakayama, T. (2002). Antioxidant Activity of Polyphenols in Carob Pods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 373-377.
- Kwak, J. W., Han, K. C., Chang, W, H., Kim, S., Kang, S. & Son, H. K. (2003). Loniceroside C, an Antiinflammatory Saponin from *Lonicera japonica*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 51(3), 333-335.

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL
LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)**

- La Casa, C., Villegas, I., C., Lastra, A., Motilva, V. & Calero, M. J. (2000). Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *Journal of Ethnopharmacology*, 71, 45-53.
- Le Bars, D., Gozariu, M. & Cadden, S. W. (2001). Animal Models of Nociception. *Pharmacological Reviews*, 53(4), 597-652.
- Lindahl, M. & Tagesson, C. (1997). Flavonoids as phospholipase A2 inhibitors: Importance of their structure for selective Inhibition of Group II phospholipase A2. *Inflammation*, 21(3), 347-356.
- Lozoya, L. X. (1989). La medicina tradicional en la realidad político-social de México. *Ciencias*, 28-33.
- Lorke, D. (1983). A New Approach to Practical Acute Toxicity Testing. *Archives of Toxicology*, 54, 275-287.
- Mantena, R.K & Tejaswini, G. (2015). Anti-inflammatory activity of *Erythrina variegata*. *International Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(4), 386-388.
- Marchioro, M., Arrigoni, B. F., Veras, M. H. R., y Roberto, A. A. (2005). Antinociceptive Activity of the Aqueous Extract of *Erythrina velutina* Leaves. *Fitoterapia*, 76, 637-642.
- Marhuenda, R. E. (2005). Síndromes dolorosos. En Bravo, D. L. y Marhuenda, R. E. (Eds.), *Manual de farmacoterapia*. (pp. 2-18). Madrid: Elsevier.
- Mata, G. S. (2015). *Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de Erythrina americana* Miller y *Erythrina coralloides* DC. (Fabaceae). Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, México.
- Menéndez L., Lastra A., Hidalgo A. & Baamonde A. (2002). Unilateral hot plate test: a simple and sensitive method for detecting central and peripheral hiperalgesia in mice. *Journal Neuroscience*, 113, 91-97.
- Merkle, J. C. (2011). Inflamación, reacción inflamatoria y fiebre. En Porth, M. C. (Ed.), *Fundamentos de Fisiopatología alteraciones de la salud. Conceptos básicos* (3ª Ed. pp.51-65), Barcelona: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins.
- Miño, J., Gorzalczany, S., Moscatelli, V., Ferraro, G., Acevedo, C. y Hnatyszyn, O. (2002). Actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de *Erythrina crista-galli* L. ("Ceibo"). *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 21(2), 93-98.
- Muñetón, P. P. (2009). Plantas medicinales: un complemento vital para la salud de los mexicanos, entrevista con el doctor Erick Estrada Lugo. *Revista Digital Universitaria*, 10(9), 1-9.

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL
LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)**

- Muragalakshmi, M., Selvi, M. & Thangapandian, V. (2014) Analgesic and anti-inflammatory activities of *Erythrina variegata* leaves extracts. *Journal of Advanced Botany and Zoology*, 2(2), 1-5.
- Muriel, C. & García, A. (2007). Bases de la Fisiología y Fisiopatología del Dolor (Neuroanatomía y neurofisiología). En Villoria, M. C. (Ed.), *Dolor crónico, diagnóstico, clínica y tratamiento*. (pp.31-51). Madrid: Arán.
- Murphy, S. H. (2012). Inflamación. En Rubin, R. & Strayer, D. (Eds.), *Patología: fundamentos clinicopatológicos en medicina* (6ª Ed. pp.47-82), Barcelona: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins.
- Negus, S. S., Vanderah, T. W., Brandt, M. R., Bilsky, E. J., Becerra, L. & Borsook, D. (2006). Preclinical assessment of candidate analgesic drugs: recent advances and future challenges. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 319(2), 507-514.
- Neill, ND A. (1993). The genus *Erythrina*: taxonomy, distribution and ecological differentiation. En SB Westley & MH Powell (Eds.), *Erythrina in the new and old worlds* (15-27). Hawaii USA: Nitrogen Fixing Tree Association.
- Niembro, A. (1990). *Árboles y arbustos útiles de México, naturales e inducidos*. Mexico: Limusa.
- Njamen, D., Talla, E., Mbafor, T. J., Fomum, T.Z., Kamanyi, A., Mbanya, C., Cerdá-Nicolás, M., Giner, M.R., Recio, M. C. & Ríos, J.L. (2003). Anti-inflammatory activity of erycristagallin, a pterocarpene from *Erythrina mildbraedii*. *European Journal of Pharmacology*, 468, 67-74.
- Nogués, M. R., Lloret, S., Montull, M. & Betés, M. (2008). Farmacología del dolor. En Betés, M., Duran, Mestres & Nogués (Eds.), *Farmacología para fisioterapeutas* (pp. 85-99), Madrid: Editorial Medica Panamericana.
- Noble, A. K. & Litwack, K. (2011). Función somatosensitiva, dolor y cefalea. En Porth, M. C. (Ed.), *Fundamentos de fisiopatología alteraciones de la salud. Conceptos básicos*. (3ª Ed. pp. 863-881). Barcelona: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins.
- Ocegueda, S., Moreno, E. & Coleff P. (2005). Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. CONABIO. *Biodiversitas*, 62(1), 12-15.
- Oliveira, S.G., De Aquino, B.A., Da silva, L.D., Aquino, G.V., Santos, S. M., Porfirio, R. P., Sant' Ana, E.G., Santos, O. V., Alexandre-Moreira, S. M. y Araújo-Junior, J. (2012). Antinociceptive and anti-inflammatory activity of hidroalcoholic extracts and fractions from *Erythrina mulungu*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 22(1), 157-161.

- Otermin P. (2003). Mecanismos y vías de transmisión del dolor. En Catala, E. & Aliaga, L. (Eds.), *Manual de Tratamiento del Dolor* (pp. 1-15), Barcelona: Publicaciones Permanyer.
- Paeile, J. C. & Bilbeny, L. N. (2005). Definición, clasificación y semiología. En Paeile, J., C. & Bilbeny, L., N. (Eds.), *El dolor de lo molecular a lo clínico* (3ª Ed. pp. 23-26). Buenos Aires: Mediterraneo.
- Peng, W., Wub, J. G., Jiang, Y. B., Liu, Y. J., Sun, T., Wua, N. & Wua, C. J. (2015). Antitumor activity of 4-O-(2"-o-acetyl-6"-o-p-coumaroyl-b-Dglucopyranosyl) p-coumaric acid against lung cancers via mitochondrial-mediated apoptosis. *Chemico-Biological Interactions*, 233, 8–13.
- Pérez-Pérez, E., Ettiene, G., Marín, M., Casassa-Padron, A., Silva, N., Raga, J., González, C., Sandoval, L. & Medina, D. (2014). Determinación de fenoles y flavonoides totales en hojas de guayabo (*Psidium guajava* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, 31, 60-77.
- Pérez, R. A., López, M. y Grau, L. I. (2002). Antiinflamatorios no esteroideos (AINES). Consideraciones para su uso estomatológico. *Rev Cubana Estomatol* (en línea), 39 (2) ,119-138 Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S00347507200200020004
- Pérez, J. A., Hassan, E. H., Pecio, L., Omer, E. A., Kucinska, M., Murias, M. & Stochmal, A. (2015). Triterpenoid saponins and C-glycosyl flavones from stem bark of *Erythrina abyssinica* Lam and their cytotoxic effects. *Phytochemistry Letters*, 13, 59-67.
- Pillay, C. N., Jager, K. A., Mulholland, A. D. & Standen, V. (2001). Ciclooxygenase inhibiting and anti-bacterial activities of South African *Erythrina* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 74, 231-237.
- Pino-Rodríguez, S., Prieto-González, S., Pérez-Rodríguez, M. E. & Molina-Torres, J. (2004). Género *Erythrina*: fuente de metabolitos secundarios con actividad biológica. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 23(3), 252-258.
- Prats, A. & Molina, S. (2006). Vías centrales ascendentes y descendentes relevantes en el dolor. En Serra, C. (Edt) *Tratado de dolor neuropatico* (pp 99-111). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M., Flower, R. J. & Henderson, G. (2012). *Farmacología* (7ª Ed.), Barcelona: Elsevier.
- Rascón-Valenzuela, R., Velázquez, C., Garibay-Escobar, A., Medina-Juárez, L.A., Vilegas, W. & Robles-Zepeda, R. E. (2015). Antiproliferative activity of cardenolide glycosides from *Asclepias subulata*. *Journal of Ethnopharmacology*, 171, 280–286.

- Rivera-Ordóñez, A. (2006). AINES: Su mecanismo de acción en el sistema nervioso central. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 29, 36-40.
- Romera, E., Perena M. J., Perena, M.F. & Rodrigo, M. D. (2000). Neurofisiología del dolor. *Revista de la Sociedad Española de Dolor*, 7(2), 11-17.
- Rossetti, L., Smith, D., Shulman, G., Papachristou, D. & DeFronzo, A. (1987). Correction of hyperglycemia with phlorizin normalizes tissue sensitivity to insulin in diabetic rats. *Journal of Clinical Investigation*, 79, 1510-1515.
- Rubinson, K. & Lang, J. (2009). El sistema somatosensorial. En M. B. Koeppe & B. A. Stanton (Eds.), *Fisiología* (6ª Ed. pp 105-117). Barcelona: Elsevier.
- Ruiz, L. X. C. (2012). *Efecto de la fracción de alcaloides liberados y erisopina alcaloide aislado de Erythrina americana, sobre una tarea de laberinto T elevado*. Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, México.
- Saidu, K., Onah, J., Orisadipe, A., Olusola, A., Wambebe, C. y Gamaniel, K. (2000). Antiplasmodial, analgesic and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the stem bark of *Erythrina senegalensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 71, 275-280.
- Shi, H., Dong, L., Jiang, J., Zhao, J., Zhao, G., Dang, X., Lu, X. & Jia, M. (2013). Chlorogenic acid reduces liver inflammation and fibrosis through inhibition of toll-like receptor 4 signaling pathway. *Toxicology*, 303, 107–114.
- Shi, C., Sun, Y., Zheng, Z., Zhang, X., Song, K., Jia, Z., Chen, Y., Yang, M., Liu, X., Dong, R. & Xia, X. (2016). Antimicrobial activity of syringic acid against *Cronobacter sakazakii* and its effect on cell membrane. *Food Chemistry*, 197, 100–106.
- Shibata, M., Ohkubo, T., Takahashi, H. & Inoki, R. (1989). Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain*, 38, 347-352.
- Singleton, V., Orthofer, R. & Lamuela-Raventós, M. (1999). Analysis of total Phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Speroni, E., Cervellati, R., Innocenti, G., Costa, S., Guerra, M. C., Acquac, D. S. & Govoni, P. (2005). Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antioxidant activities of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile. *Journal of Ethnopharmacology*, 98, 117–125.
- Sokeng, S. D., Talla, E., Jeweldai, V., Yaya, A, J, G., Koube, J. & Dongmo, F. (2013). Anti-inflammatory effect of *Abyssinone V-4-metil ether* on acute and chronic inflammation models. *Journal for Drugs and Medicines*, 5(1), 121-128.

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL
LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)**

- Srinivasan, S., Muthukumar, J., Muruganathan, U., Subramaniam, R., Abdulkadhar, B. & Jalaludeen, M. (2014). Antihyperglycemic effect of syringic acid on attenuating the key enzymes of carbohydrate metabolism in experimental diabetic rats. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4, 595-602.
- Standley, C. P. & Steyermark, A. J. (1996). *Flora of Guatemala*. Fieldiana botany. Volumen 24, V parte. Publisher Chicago Natural History Museum. Disponible en línea: <https://archive.org/stream/floraofguatemala245stan#page/256/mode/2up>
- Stein, A. C., Álvarez, S., Avancini, C., Zacchino, S., Von Poser, G. (2006). Antifungal activity of some coumarins obtained from species of *Pterocaulon* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 107, 95–98.
- Talla, E., Njamen, D., Mbafor, T. J., Fomum, T.Z., Kamanyi, A., Mbanya, J.C., Giner, M.R., Recio, C.M., Mañez, S. & Ríos, J.L. (2003). Warangalone the isoflavoid anti-inflammatory principle of *Erythrina addisoniae* stem bark. *Journal of Natural Products*, 66, 891-893.
- Tanaka, H., Hirata, M., Etoh, H., Sako, M., Sato, M., Murata, J., Murata, H., Darnaedi, D. & Fukai, T. (2004). Six New Constituents from the Roots of *Erythrina variegata*. *Chemistry & Biodiversity*, 1, 1101-1108.
- Toker, G., Kupeli, E., Memisoglu, M. & Yesilada, E. (2004). Flavonoids with antinociceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of *Tilia argentea* (silver linden). *Journal of Ethnopharmacology*, 95, 393–397.
- Tornero, J. C., Vidal, R. & Aliaga, L. (2003). Analgésicos vía oral. En Catala, E. & Aliaga, L. (Eds.), *Manual de Tratamiento del Dolor* (pp. 49-73), Barcelona: Publicaciones Permanyer.
- Twaddele, L. M. & Cooke, J. K. (2007). Evaluación del dolor y síndromes dolorosos frecuentes. En Roenn, V. J., Paice, A. J. & Preodor, E. M. (Eds.), *Diagnóstico y tratamiento del Dolor* (pp. 10-18). España: McGraw-Hill Interamericana.
- Valencia, D. T. G. & Garín, A. M. E. (2010). *Manual de Prácticas de Productos Naturales*. Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología.
- Vasconcelos, M. M. S., Reboucas, O. G., Mohana de Carvalho, M., Rodrigues, P. C. A., Rocha, S. E., Fonteles, F. M. M., Florenco, S. C. F. y Barros, V. S. G. (2003). Antinociceptive Activities of the Hydroalcoholic Extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in Mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26 (7), 946-949.
- Vasconcelos, M. M. S., Sales, M. T. G., Lima, N., Lobato, G. F., Macedo, S. D., Barbosa-Filho, M. J., Leal, A. M., Fonteles, F. M., Sousa, F. C., Oliveira, L. J. & Viana, B. S. (2011). Anti-inflammatory activities of the hydroalcoholic

- extracts from *Erythrina velutina* and *E. mulungu* in mice. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21(6), 115-1158.
- Vasconcelos, P.C.P., Andreo, M. A., Vilegas, W., Hiruma-Lima, C.A. & Pellizzon, C.H. (2010). Effect of *Mouriri pusa* tannins and flavonoids on prevention and treatment against experimental gastric ulcer. *Journal of Ethnopharmacology*, 131, 146–153.
- Verdú, E., Navarro, X. & Baños, J. E. (2002). Neuroquímica funcional del dolor. En Aliaga, L., Baños, J. E. Barutell, C., Molet, J. y Rodríguez de la Serna, A. (Eds.), *Tratamiento del Dolor Teoría y Práctica* (pp 27-40). Barcelona: Publicaciones Permananyer.
- Wang, Y., Chen, P., Tang, G., Wang, Y., Li, Y. & Zhang, H. (2014). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of extract and two isolated flavonoids of *Carthamus tinctorius* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 151, 944-950.
- Woisky, R. & Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research*, 37(2), 99-105.
- Yadava, R. N. & Reddy, K. I. S. (1999). A novel prenylated flavone glycoside from the seeds of *Erythrina indica*. *Fitoterapia*, 70, 357-360.
- Yenesew, A., Derese, S., Jacob, Midiwo, O., Bii, C., Heydenreich, M. & Peter, G. (2005). Antimicrobial flavonoids from the stem bark of *Erythrina burttii*. *Fitoterapia*, 76, 469-472.
- Yueqin, Z. (2007). *Identificación y actividad farmacológica de principios de especies antiinflamatorias*. Tesis de doctorado. Universidad de Valencia: España.
- Yasunaka, K., Abe, F., Nagayama, A., Okabe, H., Lozada-Pérez, L., López-Villafranco, E., Estrada-Muñiz, E., Aguilar, A. & Reyes-Chilpa, R. (2005). Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthones. *Journal of Ethnopharmacology*, 97, 93-299.
- Xiang, L., Lu-Lu L., Sha-Sha, Z., Jing-Li, L., Ying, Z., Hong-Yu, Z. & Ming, X. (2011). Therapeutic effects of total coumarins from *Urtica dentata* Hand on collagen-induced arthritis in Balb/c mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 138, 523-529
- Zhu, L., Luo, Q., Bi, J., Ding, J., Ge, S. & Chen, F. (2014). Galangin inhibits growth of human head and neck squamous carcinoma cells *in vitro* and *in vivo*. *Chemico-Biological Interactions*, 224, 149-156.
- Zhao, H., Yakar, S., Gavrilova, O., Sun, H., Zhang, Y., Kim, H., Setser, J., Jou, W. & LeRoith, D. (2004). Phloridzin Improves Hyperglycemia But Not Hepatic

***EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANTIINFLAMATORIA DEL
LIOFILIZADO DE HOJAS DE *Erythrina americana* Miller (COLORÍN)***

Insulin Resistance in a Transgenic Mouse Model of Type 2 Diabetes.
Diabetes, 53, 2901-2909.

Zimmerman, M. (1983). Ethical guidelines for investigations on experimental pain
in conscious animals. *Pain*, 16(2), 109-120.

XIV. Anexo 1

Erythrina americana Miller

a) Información taxonómica

Reino: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Fabales

Familia: Leguminosae (Faboideae)

Género: *Erythrina*

Especie: *Erythrina americana* Miller

b) Descripción botánica

Árbol de hasta 4-5 metros de altura, con espinas gruesas, folíolos cartáceas, ampliamente ovalados a suborbiculares o deltoide-ovados, 4-13 cm de largo, acuminado o agudo, al principio tomentoso y luego glabro; cáliz cartácea, campanulado, de 8.12 mm de largo; estandarte rojo, angostamente elíptico, 3.5-6.5 cm de largo y 8.12 mm de ancho, redondeado u obtuso en el ápice; alas de 7-12 mm de largo, más largo que la quilla; vaina de 9-20 cm de largo, 11-14 mm de espesor, muy constreñida entre las semillas, las semillas son de color rojo escarlata con una línea negra (Standley & Steyermark, 1996).

