



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

PROGRAMA DE POSTGRADO EN BOTÁNICA

EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO EN METANOL DE LA INFLORESCENCIA DE *Erythrina* *lanata* Rose

IVÁN DANIEL SALAS MÉNDEZ

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2019

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe Iván Daniel Salas Méndez, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser participe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor Dr. R. Marcos Soto Hernández, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis

Efecto ansiolítico del extracto en metanol de la inflorescencia de Erythrina lanata Rose

y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 11 de junio de 2019


Firma del Alumno (a)


Dr. R. Marcos Soto Hernández
Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **"Efecto ansiolítico del extracto en metanol de la inflorescencia de *Erythrina lanata* Rose"**

realizada por el alumno: **"Iván Daniel Salas Méndez"**

bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

BOTÁNICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DR. R. MARCOS SOTO HERNÁNDEZ

ASESORA



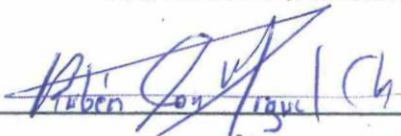
DRA. MARÍA EUGENIA GARÍN AGUILAR

ASESOR



DR. ISRAEL CASTILLO JUÁREZ

ASESOR



M. C. RUBÉN SAN MIGUEL CHÁVEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, junio de 2019

EFFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO EN METANOL DE LA INFLORESCENCIA DE

Erythrina lanata Rose

Iván Daniel Salas Méndez, M. en C.
Colegio de Postgraduados, 2019

RESUMEN

Los trastornos de ansiedad afectan de manera importante a gran parte de la población a nivel mundial, incluido México. El tratamiento para controlar estos problemas se basa principalmente en el uso de benzodiazepinas que tienen altos costos, así como efectos secundarios. En este sentido, el uso de plantas medicinales con actividad ansiolítica se ha extendido por todo el mundo; así como también, se han desarrollado diversas formulaciones herbales para tratar estos trastornos. En México se emplean diferentes especies para contrarrestar problemas de ansiedad, como son algunos representantes del género *Erythrina*. Previamente, se ha estudiado las propiedades ansiolíticas de las especies *americana*, *mulungu*, *velutina*, *suberosa*, *berteroana*, *falcata*, y *mysorensis*, pero hay otras potenciales que siguen sin estudios. Una de ellas es *Erythrina lanata* Rose conocida popularmente como “colorín”, “pemuche rosado”, “pemuche de monte” o “zacapemuche”, de la cual se desconoce su composición química, así como su capacidad ansiolítica. De tal manera, que el objetivo de este trabajo consistió en evaluar la actividad ansiolítica del extracto en metanol de la inflorescencia de *E. lanata* (EMEl), así como la extracción e identificación de los alcaloides libres en hexano, libres y liberados en metanol de semilla, corteza e inflorescencia. Las fracciones de alcaloides libres y liberados en metanol de semilla, corteza e inflorescencia se prepararon a partir de una extracción ácido-base y su composición química se analizó por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR). También, se realizó el análisis fitoquímico preliminar del EMEl y se evaluó el efecto ansiolítico en la prueba conductual de laberinto en cruz elevado en ratones CD1. Por CLAR se identificaron los alcaloides erisodina, erisopina, erisovina y β -eritroidina en todos los órganos vegetales. En el EMEl se identificó la presencia de fenoles, flavonoides, terpenoides y alcaloides; así como también, presentó actividad ansiolítica de 90 a 120 mg/kg respectivamente, sin alterar la actividad locomotriz de los sujetos experimentales. Estos resultados validan y confirman el efecto ansiolítico de EMEl, así como también se identifica a la especie *lanata* como una fuente potencial para la obtención de compuestos ansiolíticos.

Palabras clave: alcaloides, *Erythrina lanata* Rose, actividad ansiolítica, modelo murino

ANSIOLYTIC EFFECT OF THE METHANOL EXTRACT OF *Erythrina lanata* Rose INFLORESCENCE

Iván Daniel Salas Méndez, M. en C.
Colegio de Postgraduados, 2019

ABSTRACT

Anxiety disorders affect a large part of the population worldwide, including Mexico. The treatment to control these problems is mainly based on the use of benzodiazepines that have high costs, as well as side effects. In this sense, the use of medicinal plants with anxiolytic activity has spread throughout the world; as well as, various herbal formulations have been developed to treat these disorders. In Mexico different species are used to counteract anxiety problems, such as some representatives of the genus *Erythrina*. Previously, the anxiolytic properties of the species American, *mulungu*, *velutina*, *suberosa*, *berteroana*, *falcata*, and *mysorensis* have been studied, but there are other potentials that continue without studies. One of them is *Erythrina lanata* Rose popularly known as "colorín", "pemuche rosado", "pemuche de monte" or "zacapemuche", of which its chemical composition is unknown, as well as its anxiolytic capacity. In this way, the objective of this work was to evaluate the anxiolytic activity of the methanol extract of the *E. lanata* inflorescence (EMEI), as well as the extraction and identification of free alkaloids in hexane, free and released in methanol. seed, bark and inflorescence. Fractions of free alkaloids and released in methanol from seed, bark and inflorescence were prepared from an acid-base extraction and their chemical composition was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). Also, the preliminary phytochemical analysis of the EMEI was performed and the anxiolytic effect was evaluated in the high cross maze behavioral test in CD1 mice. By CLAR, the alkaloids erisodine, erisopine, erisovine and β -eritroidine were identified in all plant organs. In the EMEI the presence of phenols, flavonoids, terpenoids and alkaloids was identified; as well as, presented anxiolytic activity of 90 to 120 mg / kg respectively, without altering the locomotor activity of the experimental subjects. These results validate and confirm the anxiolytic effect of EMEI, as well as identifying the lanata species as a potential source for obtaining anxiolytic compounds.

Keywords: alkaloids, *Erythrina lanata* Rose, anxiolytic activity, murine model

DEDICATORIA

A Dios por ser la fuerza que me mantiene vivo y me permite llegar hasta donde ahora estoy.

A mis padres Blanca y Daniel por todo el sacrificio, entrega y amor que siempre han tenido por mi y por mis hermanos. A mis hermanos Aram Ulises y Eder Aldhair por todo lo vivido. Los amo.

A ti abuelito Pedro, que partiste a mejor vida durante esta aventura de mi vida.

A la Dra. María Eugenia Garín Aguilar por su valiosa amistad y ejemplo de gran ser humano. Sin su apoyo, nada se hubiera logrado.

A mis sujetos experimentales.

Yo estoy contigo. Te protegeré a dondequiera que vayas..., no te abandonaré (Génesis 28, 15)

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico para llevar a cabo dicha investigación.

Al Colegio de Postgraduados y al Postgrado en Botánica por permitirme formar parte de esta casa de estudios.

A los profesores que impartieron sus conocimientos en cada uno de los cursos del cual fui participe.

Al Dr. Marcos Soto Hernández con gran estima y profundo agradecimiento por su valioso apoyo de siempre y por siempre creer en mi desde el momento en que lo conocí (junio 2015).

A los asesores que formaron parte de mi consejo particular: Dra. María Eugenia Garín Aguilar, Dr. Israel Castillo Juárez y al M. C. Rubén San Miguel Chávez por todo el conocimiento compartido, apoyo y tolerancia en mi proceso de formación.

A la Dra. Heike Vibrans Lindemann quien fungió como sinodal y por sus valiosas aportaciones a este trabajo.

A Evencio y familia de Benito Juárez, Veracruz por su apoyo en campo en la recolecta del material vegetal.

Al personal del Laboratorio de Fitoquímica. Aprendí de cada uno de ustedes. A Mercedes Alvarado Espinoza ¡Gracias Mechudita!, Domingo González Meraz ¡Gracias Don!, Joaquína Tapia Veral ¡Gracias Doña!.

A mi gran amigo y hermano Humberto Cortés López ¡Gracias ardilla!.

A los alumnos de Laboratorio de Farmacobiología de la Facultad de Estudios Superiores, Iztacala por su apoyo en los experimentos de ansiedad y por su sincera amistad. ¡Gracias Josué, Larissa, Itzel, Angeles, Yarumi, Ari, Andrea!

A mis amigos y compañeros que conocí durante este caminar en el Colegio de Postgraduados y en Texcoco.

A la familia Bata Islas, Suárez Bata y Escárcega Bata por su aprecio incondicional.

A la familia Hernández Martínez por su cariño y apoyo moral de siempre.

El camino fue menos pesado **¡Gracias a ustedes!**.

CONTENIDO

RESUMEN	iv
ABSTRACT.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE CUADROS.....	xiii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Taxonomía y distribución del género <i>Erythrina</i>	4
2.2 Nombres comunes	6
2.3 Etnobotánica.....	7
2.4 Fitoquímica.....	9
2.5 Actividades biológicas	10
2.6 Descripción botánica de <i>Erythrina lanata</i>	17
2.7 Modelo experimental de ansiedad: Laberinto en Cruz Elevado (LCE)	18
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
4. JUSTIFICACIÓN	21
5. HIPÓTESIS.....	22
6. OBJETIVOS	23
6.1 Objetivo general	23
6.2 Objetivos específicos.....	23
7. MATERIALES Y MÉTODOS	24
7.1 MATERIAL VEGETAL.....	24
7.1.1 <i>Erythrina lanata</i> Rose.....	24
7.2 FITOQUÍMICA	24
7.2.1 Preparación del extracto crudo y análisis preliminar fitoquímico de EMEL.....	24
7.2.2 Extracción de alcaloides de semilla, corteza e inflorescencia de <i>E. lanata</i>	27
7.2.2.1 Alcaloides libres	27
7.2.2.2 Alcaloides liberados.....	28
7.3 IDENTIFICACIÓN Y SEPARACIÓN.....	30
7.3.1 Cromatografía en capa fina (CCF).....	30
7.3.2 Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)	30

7.4 EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA.....	31
7.4.1 Animales	31
7.4.2 Prueba Conductual, Laberinto en Cruz Elevado (LEC).....	31
7.4.3 Grupos experimentales y tratamientos.....	31
7.4.4 Procedimiento	31
7.4.5 Campo Abierto (CA)	32
7.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	32
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
8.1 Material vegetal.....	33
8.2 Análisis preliminar fitoquímico de EMEI	34
8.3 Obtención de extractos y fracciones de alcaloides.....	35
8.4 Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)	39
8.5 Prueba Conductual, Laberinto en Cruz Elevado (LEC).....	42
8.6 Campo Abierto (CA).....	46
9. CONCLUSIONES	49
10. LITERATURA CITADA	50
11. ANEXOS	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución mundial del género <i>Erythrina</i> (Neill, 1998; 1993a).....	4
Figura 2. Distribución del género <i>Erythrina</i> en Mesoamérica.....	5
Figura 3. <i>E. lanata</i> Rose (Foto: Iván Daniel Salas Méndez).....	17
Figura 4. Esquema del modelo de laberinto en cruz elevado (LEC), empleado para la actividad ansiolítica (Imagen elaborada por Iván Daniel Salas Méndez, 2019).....	19
Figura 5. Método general para la extracción de alcaloides de <i>E. lanata</i> (García et al., 2004; Ibarra et al., 2011).....	29
Figura 6. Ejemplar botánico depositado en el Herbario-Hortorio JES de la Universidad Autónoma de Chapingo	33
Figura 7. Cromatografía en capa fina de la fracción de alcaloides libres en hexano revelados con reactivo de Dragendorff.	38
Figura 8. Cromatografía en capa fina de la fracción de alcaloides libres y liberados en metanol revelados con reactivo de Dragendorff.	38
Figura 9. Cromatograma de la fracción de alcaloides de inflorescencia libres en hexano	39
Figura 10. Cromatograma de la fracción de alcaloides de inflorescencia libres en metanol.....	39
Figura 11. Cromatograma de la fracción de alcaloides de inflorescencia liberados en metanol.....	40
Figura 12. Porcentaje de entrada a brazos abiertos del EMEI (60, 90 y 120 mg/kg), intacto (INT), vehículo (NaCl 0.9% i.p. (VEH) y DIAZEPAM (DZP 1 mg/kg i.p.) sobre el comportamiento de los ratones en el Laberinto en Cruz Elevado. Los datos se presentan como media \pm SEM (n = 9 -13).....	42
Figura 13. Porcentaje de tiempo de entrada a brazos abiertos del EMEI (60, 90 y 120 mg/kg), intacto (INT), vehículo (NaCl 0.9% i.p. (VEH) y DIAZEPAM (DZP 1 mg/kg i.p.) sobre el comportamiento de los ratones en el Laberinto en Cruz Elevado. Los datos se presentan como media \pm SEM (n = 9 -13).	43
Figura 14. Número de entradas a brazos cerrados del EMEI (60, 90 y 120 mg/kg), intacto (INT), vehículo (NaCl 0.9% i.p. (VEH) y DIAZEPAM (DZP 1 mg/kg i.p.) sobre el comportamiento de los ratones en el Laberinto en Cruz Elevado. Los datos se presentan como media \pm SEM (n = 9 -13).....	44

Figura 15. Número de cruces del EMEI (60, 90 y 120 mg/kg), intacto (INT), vehículo (NaCl 0.9% i.p. (VEH) y DIAZEPAM (DZP 1 mg/kg i.p.) sobre el comportamiento de los ratones en el Campo Abierto. Los datos se presentan como media \pm SEM (n = 9 -13)..... 46

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Actividades biológicas analizadas a especies del género <i>Erythrina</i>	10
Cuadro 2. Análisis fitoquímico preliminar del extracto en metanol de la inflorescencia de <i>E. lanata</i>	34
Cuadro 3. Cantidad de fracciones crudas de alcaloides de <i>E. lanata</i>	36
Cuadro 4. Rendimiento de fracciones crudas de alcaloides en semillas de diversas especies de <i>Erythrina</i>	37

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente las afecciones y trastornos que aquejan al sistema nervioso central (SNC) son muy comunes y afectan aproximadamente a 260 millones de personas a nivel mundial (OMS, 2017). La ansiedad de manera natural es una emoción que permite al individuo enfrentarse o defenderse ante situaciones que se le presentan en la vida cotidiana. No obstante, cuando se sobrepasa el umbral emocional esta ansiedad se vuelve patológica e interfiere de manera negativa en las actividades de quien la padece (Bouton *et al.*, 2001).

Los fármacos de primera elección para aliviar los trastornos de ansiedad son las benzodiazepinas, los inhibidores de la recaptura de serotonina, antidepresivos tricíclicos, entre otros (Kumar y Sharma, 2006; Kulkarni *et al.*, 2008; Hoffman y Mathew, 2008). Sin embargo el consumo excesivo de estos medicamentos produce efectos adversos (Kumar y Sharma, 2006), lo cual da lugar a la búsqueda de fuentes naturales en las plantas como alternativa terapéutica contra problemas del SNC.

Desde tiempos ancestrales los remedios naturales fueron el único recurso terapéutico que empleaban nuestros antepasados para sanar sus dolencias, malestares o enfermedades. En la actualidad este conocimiento, comúnmente llamado “medicina tradicional” (Fonnegra y Jiménez, 2007), es la base para el desarrollar nuevas alternativas de tratamiento para diversas enfermedades. El saber etnobotánico está basado en creencias populares y es analizado en experimentos biológicos con el único fin sustentar científicamente este conocimiento empírico.

El género *Erythrina* pertenece a la familia Fabaceae y comprende un amplio intervalo de variación morfológica y una gran diversidad ecológica; además, constituye una fuente importante de especies ampliamente utilizadas en la medicina tradicional de los pueblos en diferentes regiones del mundo (Pino-Rodríguez *et al.*, 2004).

Se ha investigado aspectos de la composición química de más de 83 especies del género *Erythrina*. Los órganos estudiados son las semillas, corteza del tallo, y flores. Entre los compuestos activos destacan los terpenoides (Serragiotto *et al.*, 1981; Nkengfack *et al.*, 1997), alcaloides (Ghosal *et al.*, 1971; Barakat *et al.*, 1977; Chawla y Kapoor, 1995) y flavonoides como isoflavonas, pterocarpanos, flavononas e isoflavonas (Chacha *et al.*, 2005).

Los alcaloides en el género *Erythrina* se encuentran más concentrados en la semilla (aunque también se producen en flores, hojas y corteza) y algunos de ellos ya han sido sujetos a diversos estudios farmacológicos.

La propiedad antibacteriana es la principal actividad reportada para el género *Erythrina* con un 31% de los estudios, seguido de su efecto citotóxico (9%), antiinflamatorio, analgésico/antipirético (7%) y antifúngico (5%) entre otras (Pino-Rodríguez *et al.*, 2004).

Diversos productos naturales de *Erythrina* presentan actividad ansiolítica. Se trata de alcaloides y flavonoides, así como extractos vegetales de semilla, hoja, corteza e inflorescencias de *E. americana* (Garín-Aguilar *et al.*, 2000; García-Mateos *et al.*, 2000), *E. mulungu* (Onusic *et al.*, 2002; Flausino *et al.*, 2007a; Santos *et al.*, 2012), *E. velutina* (Vasconcelos *et al.*, 2007; Ribeiro *et al.*, 2006; Raupp *et al.*, 2008; Teixeira-Silva *et al.*, 2008), *E. suberosa* (Serrano *et al.*, 2011), *E. berteroana* (Bonilla *et al.*, 2014), *E. falcata* (Dias *et al.*, 2013) y *E. misorensis* (Nagaraja *et al.*, 2012), por citar algunas especies.

Erythrina lanata Rose es comúnmente conocida como “colorín”, “pemuche rosado” o “zacapemuche” en la huasteca veracruzana, municipio de Chicontepec de Tejeda. Esta especie es usada para sombra de cultivos (principalmente café), como cerco vivo (debido a su fácil reproducción por estaca) y es utilizada para dar baños a los recién nacidos por su acción tranquilizante, además de ser conocida por sus semillas e inflorescencias tóxicas; las flores no son comestibles, a diferencia de *Erythrina americana* Miller.

En consideración a lo anterior, en la presente investigación se examinó el efecto ansiolítico de la inflorescencia *E. lanata* Rose., y se exploró el contenido de alcaloides y otros compuestos.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Taxonomía y distribución del género *Erythrina*

El género *Erythrina* pertenece a la subfamilia Faboideae de la familia de las leguminosas (Fabaceae). Se encuentra dividido en 5 subgéneros y 26 secciones con base en las características de sus flores e inflorescencias (Krukoff y Barneby, 1974; Neill, 1988). Se conocen cerca de 115 especies, comprendiendo una gran diversidad de variaciones morfológicas y ecológicas (Neill, 1993a). El género se encuentra ampliamente distribuido en las regiones tropicales y subtropicales así como en zonas templadas de nuestro planeta (Figura 1). También, se ubican en algunas zonas no tropicales como África del Sur, en las montañas del Himalaya y el sur de los Estados Unidos. El mayor número de especies se encuentra localizado en el continente americano con 70 (algunas aún no descritas), mientras que en África se ubican 31 y 12 en Asia y Oceanía. En el sur de México y América Central se localizan un gran número de especies (Figura 2). En México se han identificado alrededor de 27 especies, pero es probable que existan algunas especies no descritas taxonómicamente en las zonas tropicales (Musalem, 1992).

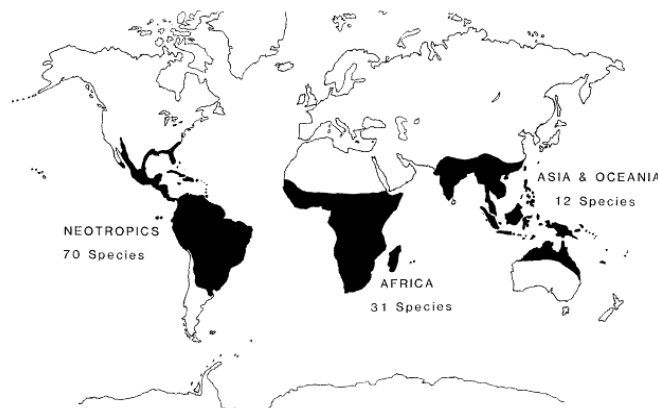


Figura 1. Distribución mundial del género *Erythrina* (Neill, 1998; 1993a)

La mayoría de las especies de *Erythrina* en México se distribuyen hacia las zonas tropicales y muy pocas en las zonas xéricas o templadas. Se encuentran distribuidas en los estados de Chiapas, Guerrero, Estado de México, Morelos, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Tabasco, Veracruz y la Ciudad de México (Musalem, 1992; Austin, 2004; Pino-Rodríguez *et al.*, 2004; Villaseñor, 2016)

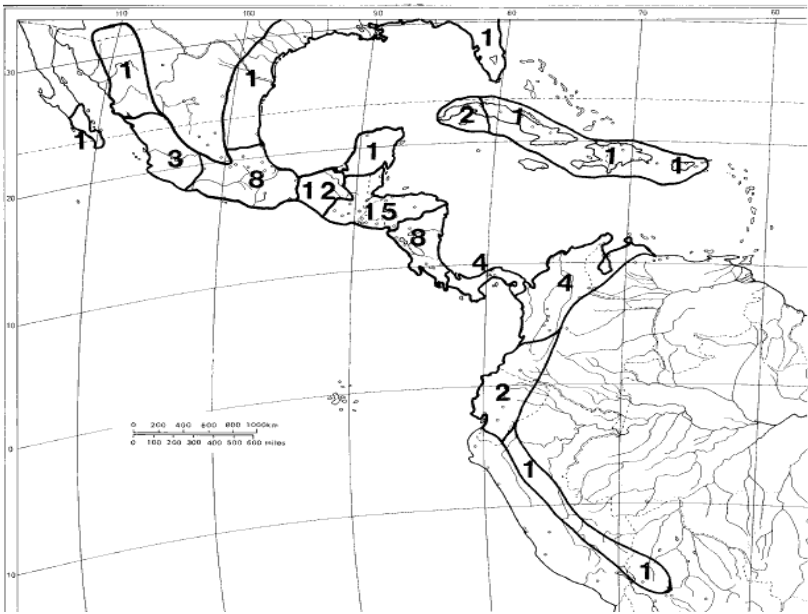


Figura 2. Distribución del género *Erythrina* en Mesoamérica

2.2 Nombres comunes

Debido a la amplia distribución de *Erythrina* en todo el mundo se le atribuyen diferentes nombres comunes para especies pertenecientes a este género.

El género *Erythrina* proviene del griego “Erythros” que significa rojo, esto debido al color rojizo de sus flores. En las regiones de habla inglesa se les conoce como “coral trees”, en los países de habla hispana de América Central y América del Sur se le conoce como “porotillo” que significa frijoles pequeños. En varias regiones de América Tropical se les denomina “bucare”, “inmortelle”, “mulungu” y “elequeme”. En algunos estados de la República Mexicana se les conoce como colorín, chontal, cochoquelite, madre del cacao, patol, pito, zomplante. (Lozoya y Lozoya, 1982). En general, los nombres comunes no están restringidos a una especie particular, porque un nombre común es aplicado a diferentes especies que se ubican en una región (Neill, 1993a y b).

2.3 Etnobotánica

Estudios etnobotánicos reportan los usos medicinales de los tejidos vegetales de diferentes especies de *Erythrina*. En la India, se utilizan las hojas y la corteza de *E. variegata* como purgante en combinación con jugos de frutas de temporada, además de ser utilizada en el tratamiento de enfermedades mentales (Pitchaiah *et al*, 2010) En Asia y América Central, la corteza de *Erythrina* es usada como laxante, diurético, expectorante, antimalárico y para algunos problemas respiratorios como asma y bronquitis, así como el uso de las flores como sedante.

En México se atribuye diversas propiedades medicinales a varias especies del género, desde el uso de la raíz como sudorífico, infusiones de flores para afecciones del tórax y la corteza empleada como purgante y diurético. Se menciona que en Veracruz las infusiones de hojas y de flores se utilizan para úlceras y abscesos, así como remedio en la picadura de alacrán. En la Huasteca hidalguense y veracruzana, la corteza se utiliza como anticonceptivo, esta es hervida y es tomada durante 40 días después del nacimiento de los niños. En esta misma región se emplea una infusión de flores inmaduras para contrarrestar problemas de insomnio. Los teneek de la huasteca potosina utilizan a *E. herbacea* y *E. americana* como tranquilizante de los nervios (Garín-Aguilar *et al*, 1997). En Durango utilizan las semillas de *E. flabelliformis* como un remedio contra el dolor de muelas y en Sonora los indios Seri las utilizan para curar la diarrea. *E. standleyana* se emplea también por los Seris para detener hemorragias nasales y disminuir el dolor de muelas (Hastings, 1990) Así mismo, las semillas se han empleado como agente hipnótico y narcótico (Hastings, 1990; Lozoya y Lozoya, 1982; Musálem; 1992). En Paraguay utilizan la corteza de *E. crista-galli* como agente astringente, para aliviar el dolor de huesos e inducir el sueño (Hastings, 1990). En Guatemala son empleados los tallos de *E. berteroana* como agente hipnótico y la infusión de flores se emplea como sedante y como remedio para nervios, hemorragia y contra disentería. En Cuba se le atribuyen propiedades astringentes, diuréticas, febrífugas, hipnótico-sedantes y purgantes a *E. berteroana* y *E. cubensis* se emplea por sus propiedades sudoríficas; las flores se emplean en infecciones respiratorias y el agua de los tallos se utiliza contra las picaduras de alacranes (Pino-Rodríguez *et al.*, 2004). En Argentina se usa a *E. crista-galli* como cicatrizante (Zampini *et al.*, 2007). Las semillas poseen propiedades venenosas y son útiles en la eliminación de

animales nocivos. Por citar algún ejemplo, a las semillas de *E. folkersii* en Colombia son utilizadas contra animales no deseados y también como diurético en humanos y animales. La semilla triturada de *E. americana* alivia el dolor de muelas, la infusión de sus hojas alivia malestares de la erisipela y controla convulsiones tónico-clónicas (Brito, 2005). Los habitantes de Colombia reportan que las raíces poseen efectos sudoríferos, las flores son empleadas para afecciones del tórax y estas causan somnolencia al ser consumidas.

En África utilizan las raíces de *E. abyssinica* contra la malaria y la sífilis (Kamat *et al.*, 1981). Igualmente, en Camerún utilizan las hojas, raíces y tallos de *E. sigmoidea* para sanar problemas de gonorrea y vaginitis en la mujer (Biyiti *et al.*, 1988).

2.4 Fitoquímica

La investigación química del género *Erythrina* se ha enfocado particularmente en la caracterización de sus componentes o productos naturales (Glasby, 1991). Las familias químicas mayormente reportadas en este género son los alcaloides (38%), flavonoides (38%) y los proteoides (aminoácidos, proteínas y lectinas) (9%); semillas, corteza, raíz, hojas y flores son los órganos principales que se han analizado (Pino-Rodríguez *et al.*, 2004). Las sustancias activas predominantes son los alcaloides, y presentan actividad paralizante semejante a la de curare (Folkers & Koniusky, 1940a; 1940b).

Meissner fue el primero en utilizar la palabra alcaloide durante los inicios del siglo XIX (1819) para denominar a los compuestos activos que se encontraban en algunos vegetales y que poseían carácter básico (Carretero, 2001). Un alcaloide es una sustancia orgánica que contiene nitrógeno, es de origen natural, de mayor o menos grado de basicidad, su distribución es restringida a ciertos tejidos vegetales y poseen diversas actividades biológicas. Sus estructuras generalmente son muy simples, pero algunas muy complejas (Hesse, 2002). Se encuentran en alrededor del 20% de las especies vegetales (Fachinni, 2001). Son sintetizados en las plantas como mecanismo de defensa contra el ataque de herbívoros y patógenos, entre otras funciones (Wink, 1999; Caporale, 1995).

Es evidente que los alcaloides son metabolitos secundarios característicos de este género. Algunos de los alcaloides aislados del género *Erythrina* son eritralina, eritramina y eritratina (Folkers & Koniouszy, 1940a), erisodina, erisopina, erisovina, erythralina y erythratina (Folkers y Koniouszy, 1940b).

2.5 Actividades biológicas

En el Cuadro 1 se presenta la diversidad de propiedades biológicas encontrado en los numerosos estudios sobre el género.

Cuadro 1. Actividades biológicas analizadas a especies del género *Erythrina*.

ESPECIE	EXTRACTO O METABOLITOS	ACTIVIDAD BIOLÓGICA	REFERENCIA
<i>E. abyssinica</i>	Extracto en acetato de etilo de corteza	Citotóxica e inhibitoria de PTB1B	Nguyen <i>et al.</i> , 2009
	Saponinas triterpenoides y C-glucosil flavonas	Efecto citotóxico	Pérez <i>et al.</i> , 2015
	Extracto en acetato de etilo y flavonoides de raíz	Antipalúdica	Yenesew <i>et al.</i> , 2004
<i>E. berteroana</i>	Extracto acuoso de la inflorescencia	Efecto ansiolítico ligeramente efectivo	Bonilla <i>et al.</i> , 2014
<i>E. americana</i>	Fraciones de alcaloides libres en hexano, libres y liberados en metanol	Disminución del comportamiento agresivo en ratas	Garín-Aguilar <i>et al.</i> , 2000
	Alcaloides (β -eritroidina y β -dihydroerithroidina)	LD ₅₀ y reducción del comportamiento agresivo en ratas	García-Mateos <i>et al.</i> , 2000
	Fraciones de alcaloides libres en hexano, libres en metanol, liberados en metanol y de erisodina obtenidas de semillas	Antioxidante	Ibarra-Estrada <i>et al.</i> , 2011
<i>E. burttii</i>	Extracto en cloroformo de corteza de tallo y flavonoides del mismo extracto	Antimicrobiana	Yenesew <i>et al.</i> , 2005
	Extracto en acetona de la corteza de raíz y flavonoides del mismo	Antipalúdica y	Yenesew <i>et al.</i> , 2012

	extracto	antioxidante	
<i>E. caffra</i>	Fracción de hexano, diclorometano, acetato de etilo y acuosa. Erytrinasinato B y lupeol de la corteza de tallo	Antipalúdica	Chukwujekw <i>et al.</i> , 2016
<i>E. crista-galli</i> L.	Pterocarpanos	Antibacteriana	Mitscher <i>et al.</i> , 1984
	Extracto acuoso, extracto en diclorometano y extracto en metanol de hojas	Antinociceptiva y Antiinflamatoria	Miño <i>et al.</i> , 2002
	Compuestos fenólicos	Antipalúdica y antioxidante	Tjahjandarie <i>et al.</i> , 2014
<i>E. coralloides</i>	Fracción alcaloides	Antifúngica	Soto-Hernández y San Miguel, 2006
<i>E. drogmansiana</i>	Extracto en metanol y compuestos fenólicos de raíz	Antioxidante	Yaya <i>et al.</i> , 2014
<i>E. falcata</i>	Extracto en etanol de hojas	Antigenotóxico y no hubo efecto ansiolítico/ansiogénico, probablemente antidepresor	Dias <i>et al.</i> , 2013
<i>E. fusca</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Extracto en etanol, diclorometano, acetato de etilo y éter de petróleo de la corteza • Extracto en etanol de la inflorescencia 	Antibacteriana y antifúngica	Calle <i>et al.</i> , 1997
	Extracto en acetato de etilo y flavonoides prenilados de la corteza del tallo	Antipalúdica	Khaomek <i>et al.</i> , 2008
<i>E. indica</i>	Isoflavonas	Citotóxica	Nkengfack <i>et al.</i> , 2001
	Extracto en metanol de hoja	Antihepatotóxica	Mujahid <i>et al.</i> , 2017

	Extracto acuoso y en metanol de hoja	Actividad antioxidante	Sakat y Juvekar, 2010
<i>E. latissima</i>	Extracto alcohólico y acuosos de la corteza del tallo	Hipoglucémica y antidiabética	Kumar <i>et al.</i> , 2011
	Alcaloides de semillas, vainas e inflorescencias	Antialimenticia contra <i>Spodoptera littoralis</i>	Cornelius <i>et al.</i> , 2009
	Flavonoides de la madera del tallo	Antimicrobiana y antioxidante	Chacha <i>et al.</i> , 2005
	Flavonoides prenilados y fracciones de la corteza del tallo	Antigenotóxica	Zarev <i>et al.</i> , 2007
<i>E. livingstoniana</i>	Flavononas de la corteza del tallo	Antioxidante y antibacterial	Bedane <i>et al.</i> , 2015
	Flavanonas de hojas	Antioxidante	Bedane <i>et al.</i> , 2016
<i>E. mildbraedii</i>	Erycristagalina (pterocarpano) asilado de la corteza de raíz	Antiinflamatoria y antioxidante	Njamen <i>et al.</i> , 2003
	flavanonas	Antioxidante	Anouar, 2016
<i>E. mulungu</i>	Extracto hidroalcohólico de la inflorescencia	Ansiolítico (100, 200 y 400 mg/kg)	Onusic <i>et al.</i> , 2002
	Extracto hidroalcohólico de la inflorescencia	Ansiolítico (50, 100, 200 mg/kg)	Onusic <i>et al.</i> , 2003
	Extracto hidroalcohólico de la corteza del tallo	No se observó efecto ansiolítico	Vasconcelos <i>et al.</i> , 2007
	1. Extracto hidroalcohólico 2. Alcaloides (11 α -hydroxyerythravina, erythravina y α -	Efectos ansiolíticos	Flausino <i>et al.</i> , 2007a

	hydroxyerysotrina		
	Alcaloides (α -hidroxierysotrina, erithravina, 11 α -hydroxierithravina)	Efecto ansiolítico y no se altera la actividad locomotora	Flausino <i>et al.</i> , 2007b
	Alcaloides de inflorescencias (erithravina y 1- α -hidroxierithravina)	Anticonvulsivo	Faggion <i>et al.</i> , 2011
	Alcaloide (Erisotrina)	Anticonvulsivo y ansiolítico	Santos Rosa <i>et al.</i> , 2012
	Extracto hidroalcohólico de la corteza del tallo	Actividad ansiolítica moderada	Ribeiro <i>et al.</i> , 2006
	Extracto en etanol de las flores	Reducción significativa de la hiperreactividad bronquial	Amorim <i>et al.</i> , 2018
<i>E. mysorensis</i>	Extracto en etanol y cloroformo de corteza del tallo	Actividad ansiolítica	Nagaraja <i>et al.</i> , 2012
<i>E. poeppigiana</i>	Isoflavonoides de la corteza del tallo	Antibacteriana	Sato <i>et al.</i> , 2006
	Isoflavonoides del extracto de raíz en acetona y fracción libre de cloroformo	Antibacteriana contra <i>Candida albicans</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina	Sato <i>et al.</i> , 2003
	Isoflavonoide de raíz	Antibacteriana contra <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina	Tanaka <i>et al.</i> , 2004
<i>E. senegalensis</i> DC	Extracto acuoso de corteza del tallo	Antipalúdica, analgésica y antiinflamatoria	Saidu <i>et al.</i> , 2000
	Extracto acuoso de la corteza de tallo	Evaluación de la toxicidad oral aguda y subcrónica en roedores	Atsamo <i>et al.</i> , 2011
	Ocho prenilflavonoides del extracto en diclorometano de la	Inhibición de diacilglicerol	Oh <i>et al.</i> , 2009

	corteza del tallo	aciltransferasa	
<i>E. senegalensis</i> y <i>E. excelsa</i>	Isoflavonoides de raíz	Citotóxica	Kuete <i>et al.</i> , 2014
<i>E. stricta</i>	Extracto en hexano, diclorometano, acetato de etilo, metanol y agua de raíz	Antimicrobiana y antioxidante	Akter <i>et al.</i> , 2016
<i>E. subumbrans</i> y <i>E. stricta</i>	Seis pterocarpanos, una flavanona, una isoflavona, dos alcaloides, cinco triterpenos, seis esteroides y transferilatos de alquilo de raíces y tallos	Antipalúdica, antimicrobiana y citotóxica	Rukachaisirikul <i>et al.</i> , 2007a
	Siete pterocarpanos, dos flavononas, y una isoflavona del tallo	Actividad antibacteriana	Rukachaisirikul <i>et al.</i> , 2007b
<i>E. suberosa</i>	Alcaloides (erisodina y erisotrina)	Actividad ansiolítica de erisodina (10 mg/kg). En el modelo de transición entre claro y oscuro, la erisodina (10 mg/kg) aumento el tiempo en compartimento iluminado y las transiciones en ambos compartimentos	Serrano <i>et al.</i> , 2011
	Extracto crudo acuoso y en metanol	Antioxidante, espasmolítica y broncodilatador	Janbaz <i>et al.</i> , 2012
<i>E. variegata</i>	Extracto en etanol de corteza	Antiosteoporótica	Zhang <i>et al.</i> , 2007
	Isoflavonoides de raíz	Antibacteriana contra bacterias orales cariogénicas	Sato <i>et al.</i> , 2003
<i>E. velutina</i>	Extracto hidroalcohólico de la corteza del tallo	Anticonvulsivo	Vasconcelos <i>et al.</i> , 2007
	Extracto acuoso de hojas	Evaluación toxicológica	Santos <i>et al.</i> , 2008

		en ratas	
	Extracto acuoso de hoja	Efectos en el Sistema Nervioso Central (actividad sedante y neuromuscular)	Dantas <i>et al.</i> , 2004
	Extracto hidroalcolico de la corteza del tallo	No se observó efecto ansiolítico <ul style="list-style-type: none"> • Vía oral (200, 400 y 800 mg/kg) • Vía intraperitoneal (200 y 400 mg/kg) 	Vasconcelos <i>et al.</i> , 2007
	Extracto hidroalcolico de la corteza del tallo	Actividad ansiolítica <ul style="list-style-type: none"> • AGUDA = 100, 200, 400 mg/kg • CRÓNICA = 50, 100, 200 mg/kg 	Ribeiro <i>et al.</i> , 2006
	Extracto hidroalcohólico de la corteza del tallo	Ansiolítica en prueba de laberinto elevado, pero a bajas dosis produce efecto amnésico	Raupp <i>et al.</i> , 2008
	Extracto alcohólico de hoja	Modelos animales de ansiedad, memoria y epilepsia	Teixeira-Silva <i>et al.</i> , 2008
	Extracto acuoso de hojas	Antinociceptiva y antiedemogénico	Marchioro <i>et al.</i> , 2005
	Extracto en etanol de la corteza del tallo	Efecto neuroprotector	Rodrigues <i>et al.</i> , 2017
	Alcaloide (hipaforina)	Produjo sueño	Ozawa <i>et al.</i> , 2008
<i>E. caffra</i> , <i>E. humeana</i> , <i>E. latissima</i> , <i>E. lysistemom</i> y <i>E.</i>	Extractos de acuoso, en etanol y acetato de etilo de corteza y hojas	Inhiben la ciclooxigenasa y actividad antibacteriana	Pillay <i>et al.</i> , 2001

<i>zeyheri</i>			
<i>E. x neillii</i>	Extracto alcohólico de hoja	Actividad hepatoprotectora	Bark <i>et al.</i> , 2018

2.6 Descripción botánica de *Erythrina lanata*

La planta estudiada en este trabajo es un árbol o arbusto de 4.5 a 7.5 metros de altura, con un tronco de 10 cm de diámetro. Tiene ramas glabras, comúnmente con espinas infraestipulares solitarias. Los folíolos son triangulares, cortamente acuminados, de 5 a 10 cm de largo, 5 a 7.5 cm de ancho, casi o completamente glabros.

Las inflorescencias están acomodadas en racimos terminales (Figura 3); el cáliz es piloso convirtiéndose en glabrescente, tubular, de 10 a 13 mm, truncado, 1 – dentado; el estandarte tiene de 68 mm de largo, está plegado, densamente blanco-lanado, redondeado hacia el ápice; las alas (9 mm de largo) y la quilla (10 mm de largo) están insertas dentro del cáliz; el ovario se encuentra densamente piloso. El fruto es una vaina bivalvada, 12.5 a 15 cm de largo, fuertemente constricta entre las semillas, largamente estipitada, atenuada hacia la punta. Las semillas son pequeñas (para el género), orbiculares, de 6 a 8 mm, de color escarlata brillante, con un punto oscuro en el micrópilo (Rose, 1989).



Figura 3. *E. lanata* Rose (Foto: Iván Daniel Salas Méndez)

2.7 Modelo experimental de ansiedad: Laberinto en Cruz Elevado (LCE)

A lo largo de las décadas pasadas se han desarrollado intensos estudios sobre algunos aspectos neurobiológicos de la ansiedad. Los modelos animales son utilizados como experimentos desarrollados en una especie con el objetivo de estudiar un fenómeno o enfermedad que padece otra especie. En la investigación biomédica, los modelos experimentales con animales son descritos como protocolos desarrollados en especies no humanas con el propósito de replicar características fisiológicas, patofisiológicas o conductuales humanas (Steimer, 2011).

El de LCE es uno de los instrumentos más utilizados en el campo de la investigación de fármacos con actividad ansiolítica (Zhang, 2004). Este modelo se ha empleado con éxito en ratas (Pellow *et al.*, 1985) y ratones (Lister, 1987). El aparato está conformado por dos brazos elevados opuestos separados por un cuadro central, de otros brazos elevados de las mismas dimensiones, pero cerrados con paredes de ambos lados (Figura 4). Este modelo evalúa la exploración del sujeto experimental en un nuevo ambiente que presenta dos zonas diferentes: una potencialmente aversiva (brazos abiertos) y otra segura (brazos cerrados). La prueba consiste en colocar al animal en el centro del laberinto en forma de cruz con la mirada hacia uno de los brazos abiertos, en el que se le permita al animal explorar libremente durante cinco minutos el laberinto (Korte y de Boer, 2003). El aumento en la frecuencia y tiempo de permanencia en las zonas abiertas es indicativo de un efecto ansiolítico (Salum y Roque-da-Silva, 2000; Lister, 1987).

Las variables cuantificadas en el LCE elevado varían en la literatura, pero de manera general se consideran las siguientes (Kalueff, 2004; Kalueff y Tuohimaa, 2004):

- Frecuencia de entradas a brazos cerrados
- Frecuencia de entradas a brazos abiertos
- Tiempo en brazos cerrados
- Tiempo en brazos abiertos

Para interpretar los resultados obtenidos de este experimento generalmente se compara la sustancia de interés con compuestos ansiolíticos ya conocidos, como las benzodiazepinas que reducen la ansiedad natural de los animales en los brazos abiertos y promueven su exploración, por ejemplo el diazepam, el clordiazepóxido y el etanol (Lister, 1987).

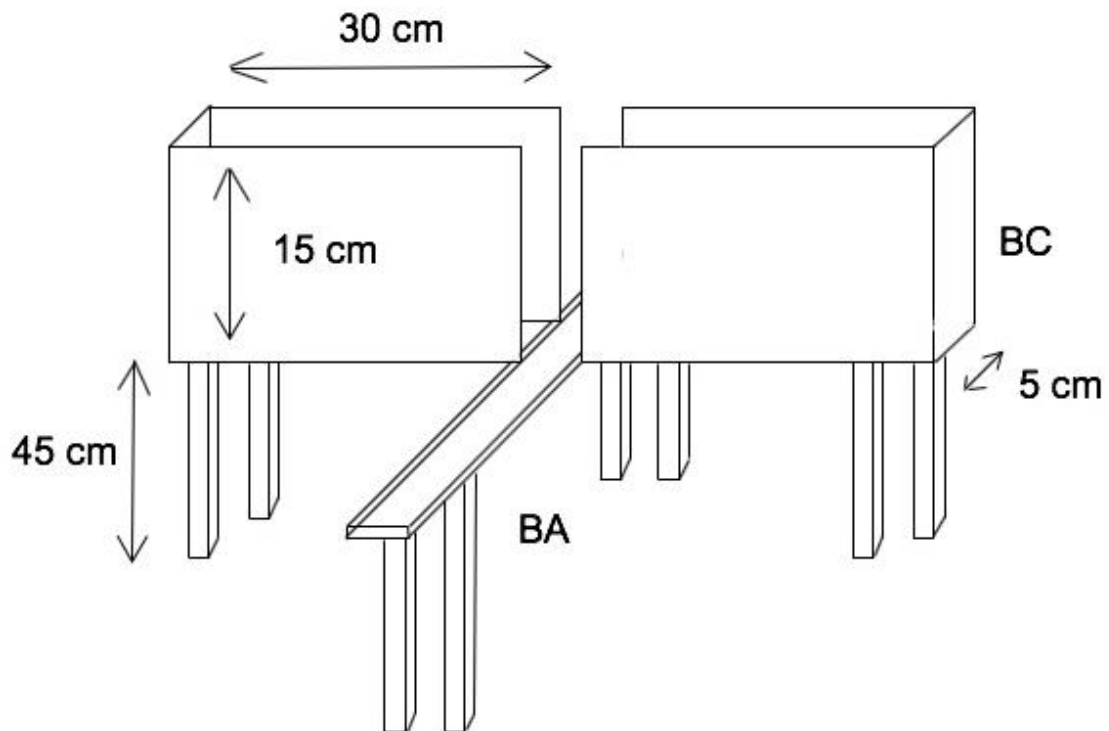


Figura 4. Esquema del modelo de laberinto en cruz elevado (LEC), empleado para la actividad ansiolítica (Imagen elaborada por Iván Daniel Salas Méndez, 2019).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los trastornos de ansiedad son uno de los problemas principales que aquejan a la sociedad mundial de hoy en día. Estos problemas que atacan al sistema nervioso central pueden presentarse desde la infancia y prevalecer a lo largo de toda la vida del ser humano (OMS, 2004). En la actualidad, existen diversos tratamientos para aliviar este tipo de trastornos, sin embargo no son de fácil acceso a toda la población debido a sus altos costos o a la falta de especialistas que atiendan estos problemas de tipo nervioso (OMS, 2002; Pimenta *et al.*, 2012). Además, se sabe de los efectos secundarios que trae consigo el medicarse contra estos trastornos. Lo anterior ocasiona que gran parte de la población recurra al uso de las plantas medicinales (OMS, 2002).

México posee gran diversidad vegetal y esto incide en el uso de plantas con fines medicinales. No obstante, existe un gran inconveniente en el uso de estas especies debido a la falta de estudios químicos y farmacológicos que validen los usos empíricos. Un ejemplo es el uso tradicional de especies del género *Erythrina* en el tratamiento de enfermedades nerviosas. Popularmente se sugiere que se consuman las flores y se ingieran infusiones de hojas y corteza de estas especies. *E. lanata* es una especie a la que científicamente no se le ha corroborado ninguna actividad biológica de gran importancia para el ser humano. A partir de ello se planteó la pregunta: ¿la inflorescencia de *E. lanata* presenta actividad tipo ansiolítica?. En este trabajo se estudia la actividad ansiolítica de la inflorescencia de tal especie, mediante la pruebas conductuales de laberinto en cruz elevado. Posteriormente, se estudia su química, para identificar los principales metabolitos responsables por los efectos reportados en otras especies del género *Erythrina* empleadas la medicina tradicional.

4. JUSTIFICACIÓN

La ansiedad y la depresión representan las primeras causas de discapacidad en el mundo. En la medicina tradicional se emplean diversas especies vegetales para el tratamiento de estos padecimientos, lo que ha llevado a la terapéutica experimental a buscar nuevos compuestos activos a partir de fuentes naturales, tales como las plantas medicinales.

E. lanata es una planta que se distribuye en México y crece como una especie silvestre. En la actualidad se desconocen estudios acerca de su composición química, así como propiedades farmacológicas que corroboren sus efectos depresores del sistema nervioso central para disminuir insomnio, estrés y en general trastornos de ansiedad, usos para los cuales también se emplea esta especie en la medicina tradicional. Resulta importante evaluar la actividad ansiolítica de *E. lanata*.

5. HIPÓTESIS

El extracto en metanol de la inflorescencia de *E. lanata* presentará un efecto ansiolítico en un modelo murino experimental.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Evaluar la actividad tipo ansiolítico del extracto en metanol de inflorescencia de *Erythrina lanata* Rose (Fabaceae), en el modelo de laberinto en cruz elevado.

6.2 Objetivos específicos

- Obtener los extractos en hexano y metanol de semilla, corteza e inflorescencia de *E. lanata*.
- Realizar el análisis fitoquímico preliminar al extracto en metanol de la inflorescencia de *E. lanata*
- Extraer e identificar los alcaloides libres en hexano, libres y liberados en metanol de semilla, corteza e inflorescencia de *E. lanata* por cromatografía de líquidos de alta resolución.
- Evaluar el efecto ansiolítico del extracto en metanol de la inflorescencia de *E. lanata* en el modelo de laberinto en cruz elevado.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 MATERIAL VEGETAL

7.1.1 *Erythrina lanata* Rose

La inflorescencia de *Erythrina lanata* Rose se recolectó en la localidad de Lindero Achupil, Chicontepec de Tejada, Veracruz, México en abril del 2018. La especie fue determinada por el experto en leguminosas M. C. Mario Souza Sánchez (+), del Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Autónoma Nacional de México y verificada por M. C. Ernestina Cedillo Portugal y M. C. Ricardo Vega Muñoz. Se depositó un ejemplar del material vegetal colectado en el Herbario-Hortorio “JES” (Jose Espinoza Salas) de la Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo y un duplicado en el Herbario Hortorio “CHAPA” del Colegio de Postgraduados.

Para la preparación de los extractos se utilizaron 265.5 g de semillas, 53.2 g de corteza y 193.1 g de inflorescencia trituradas y pulverizadas de *E. lanata*.

7.2 FITOQUÍMICA

7.2.1 Preparación del extracto crudo y análisis preliminar fitoquímico de EMEl

El material vegetal (inflorescencia) se secó en una estufa de aire forzado (Precisión 17® GCA Corp.) a una temperatura de 40 ° C durante 48 horas. Posteriormente se trituró en un molino de mano. La inflorescencia se empacó en un cartucho de papel filtro Whatman no. 1, el cual fue colocado en el extractor Soxhlet para efectuar la extracción en hexano por 48 horas. El disolvente se evaporó a sequedad en el rotaevaporador para separar el hexano y obtener el *extracto crudo en hexano*.

Las pruebas fitoquímicas para detectar la presencia de alcaloides, taninos, saponinas, flavonoides, terpenoides y ácidos fenólicos se realizaron de acuerdo con el método descrito por Harborne, 2005 y Raman, 2006 con algunas ligeras modificaciones. Las pruebas se basaron en la observación visual del cambio de color o la formación de un precipitado después de la adición de reactivos específicos.

ALCALOIDES

A cada extracto diluido (0.5 mL) se agregaron de 5 a 6 gotas de HCl al 10%. Se agitó por unos segundos y se colocó en baño María durante 5 minutos a una temperatura de 100 °C. Posteriormente, se añadieron tres gotas del reactivo Dragendorff y si la prueba resultaba positiva, este formaba un precipitado color marrón o un color naranja brillante. Para tal estudio, se usó como control positivo semillas secas de *Lupinus* sp.

TANINOS

Del extracto en MeOH al 80% se tomó una alícuota de 0.5 mL e inmediatamente se le añadieron tres gotas del reactivo FeCl₃ al 3%. Si la prueba era positiva se desarrollaba una coloración azul oscura. Como control positivo se empleó el ácido tánico.

SAPONINAS

Para determinar la presencia de esta familia de compuestos se usó la prueba de espuma. Se tomó una muestra (0.5 ml) de cada extracto, se adicionaron 2 a 3 ml de agua destilada, se agitó fuertemente durante tres minutos y si la espuma era abundante y estable durante media hora, se tomó como reacción positiva para la presencia de saponinas. Para este estudio, se usó como control positivo, el zacatechichi (*Calea zacatechichi* Schltdl.)

FLAVONOIDES

Se tomaron 0.5 ml del extracto y se colocaron en un tubo de 5 ml, luego se añadió limadura de magnesio, después se adicionaron 2 a 3 gotas de HCl concentrado. La formación de colores anaranjados, rojos, o violetas efervescentes se tomaron como una prueba positiva. Para este ensayo, el control positivo fue quercetina.

TERPENOIDES

Unos 0.5 ml de la muestra se colocaron en un tubo de ensayo, se evaporó el disolvente a sequedad y se resuspendió en cloroformo. Posteriormente se añadieron tres gotas de anhídrido acético y tres gotas de H₂SO₄ concentrado. La formación de color morado a café era indicio de una prueba positiva para la presencia de terpenoides. Como control positivo para esta prueba se usó el ácido masticadienónico.

FENOLES

El extracto se resuspendió en metanol al 80%, se añadieron 0.5 mL de (carbonato sodio al 5%) y por último 0.5 ml del reactivo Folin–Ciocalteu, si la prueba presentaba una coloración azul intenso resultaba ser positiva. En este estudio se usó el ácido gálico como control positivo.

7.2.2 Extracción de alcaloides de semilla, corteza e inflorescencia de *E. lanata*

Se prepararon los extractos crudos de alcaloides conforme a el método de García *et al.* (2004) e Ibarra *et al.* (2011).

7.2.2.1 Alcaloides libres

El extracto crudo en hexano se lavó con H₂SO₄ 1 M (3 X 100) en un embudo de separación. La fase ácido-acuosa se llevó a un pH entre 8-9 con NaHCO₃. Luego, se extrajo con cloruro de metileno (3 X 50). Al extracto de cloruro de metileno se le agregó Na₂SO₄ anhidro con el fin de absorber las trazas de agua presente, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener la fracción de *alcaloides libres del extracto en hexano*.

Las inflorescencias previamente extraídas con hexano se secaron a temperatura ambiente para eliminar el exceso de disolvente. Ya secas, se extrajeron en equipo de Soxhlet durante 48 horas usando como disolvente metanol. Concluida la extracción, el exceso de disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el *extracto crudo en metanol* de *Erythrina lanata* (EMEl). Se calculó el rendimiento y una parte de este extracto se usó para llevar a cabo la prueba conductual de ansiedad y la otra se procesó para obtener la fracción de alcaloides libres y liberados en metanol. Ninguna de las fracciones alcaloideas se usaron en la prueba biológica dado el bajo rendimiento de éstas.

El extracto en metanol se disolvió en una solución de H₂SO₄ al 2%, se le hicieron lavados consecutivos con cloruro de metileno (3 X 100). Se separó la fase acuosa y se llevó a un pH 8 con NaHCO₃. Se extrajo nuevamente con cloruro de metileno (3 X 100), la fase acuosa se reservó, y la fase orgánica (cloruro de metileno) se le agregó Na₂SO₄ anhidro para absorber trazas agua. El disolvente libre de humedad se evaporó a presión reducida para obtener la fracción de *alcaloides libres del extracto en metanol*.

7.2.2.2 Alcaloides liberados

La fase acuosa reservada en la etapa anterior, se ajustó a un pH de 2 con HCl concentrado y la mezcla se llevó a una temperatura de 70 ° C durante 3 horas. La mezcla fría se llevó a pH 8 con NaHCO₃ y se extrajo con cloruro de metileno (3 X 100). Finalmente, se agregó Na₂SO₄ anhidro, se filtró y el exceso de disolvente se eliminó a presión reducida para obtener la fracción de los *alcaloides liberados del extracto en metanol* (Figura 5).

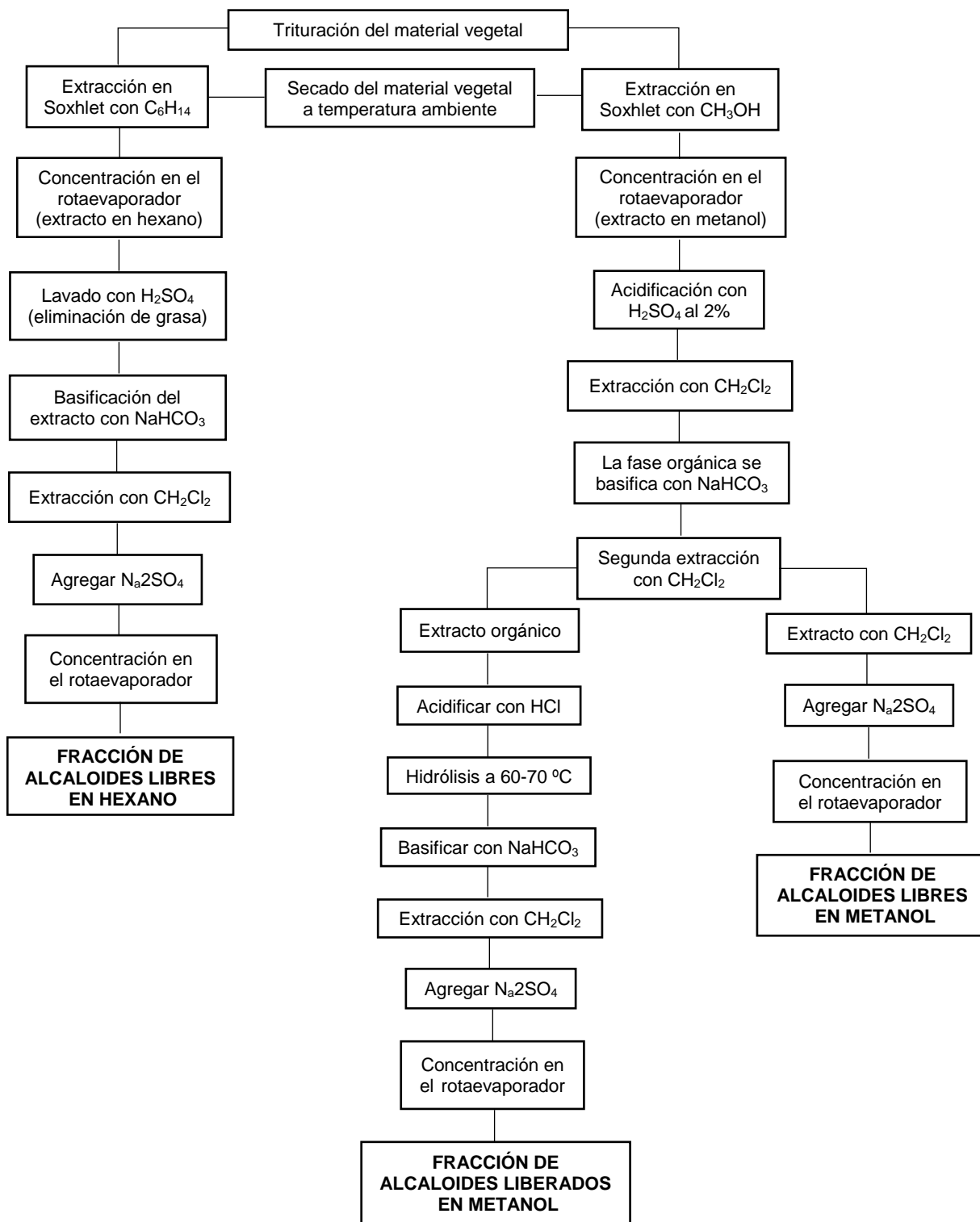


Figura 5. Método general para la extracción de alcaloides de *E. lanata* (García *et al.*, 2004; Ibarra *et al.*, 2011).

7.3 IDENTIFICACIÓN Y SEPARACIÓN

7.3.1 Cromatografía en capa fina (CCF)

Para los análisis cromatográficos en capa fina se siguieron las técnicas convencionales utilizando placas recubiertas de gel de sílice, el eluyente empleado fue diclorometano:etanol en una proporción de 9:1. En todos los casos, antes de revelar las placas con el agente cromogénico se procede a visualizar las placas con la luz ultravioleta (onda corta y larga). Las placas se revelaron con el reactivo de Drangendorff (Wagner *et al*, 1984) y se comparan con estándares erisovina, erisodina, erisopina y β -eritroidina.

7.3.2 Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)

De acuerdo con la técnica citada por Sánchez-Herrera *et al.* (2001), las fracciones de alcaloides libres en hexano, libres en metanol y liberados se analizaron en un cromatógrafo de líquidos (HPLC) Hewlett Packard® serie 1100, con un muestreador automático (Agilent®, Serie 1200 Mod. G1329A) y un detector de arreglo de diodos Hewlett Packard® serie 1100, al que se acondicionó una columna Lichrosorb RP-18 con partículas de 5 μ m de diámetro, 250 mm de longitud y 4.7 mm de diámetro. El detector de arreglo de diodos se ajustó a una longitud de onda de 230 nm.

La fase móvil la constituyeron tres disolventes: A (0.1% acetato de amonio), B (metanol) y C (acetonitrilo). El análisis fue por gradiente: 0 min = (A=75%, B=20%, C=5%), 10 min = (A=50%, B=45%, C=5%), 15 min = (A=50%, B=45%, C=5%). El volumen de inyección fue de 2.5 μ L.

7.4 EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA

7.4.1 Animales

El experimento incluyó 65 ratones macho de la cepa CD1 (peso: 25-30 g), procedentes del Bioterio de la FES-Iztacala UNAM y mantenidos en las instalaciones del laboratorio de Farmacobiología a una temperatura de 22 ± 1 °C. Se alojaron 8 ratones por jaula en cajas acrílicas (44 cm de ancho X 33 cm de largo y 20 cm de alto) con agua y alimento *ad libitum*. Los experimentos se llevaron a cabo entre las 10:00 y 17:00 h. Todos los procedimientos estuvieron de acuerdo con las indicaciones de la NOM-062-ZOO-1999 para manejo y uso de animales de laboratorio.

7.4.2 Prueba Conductual, Laberinto en Cruz Elevado (LEC)

Esta prueba ha sido ampliamente validada para medir ansiedad en roedores (Pellow *et al.*, 1985; Lister, 1987). El laberinto fabricado con Plexiglass y aluminio blanco consta de dos brazos abiertos (30 x 5 cm rodeados por un borde de 0.5 cm de alto) y dos brazos cerrados (30 x 5 cm rodeados de paredes de 15 cm alto). Los brazos emergen desde una plataforma central (5 x 5 cm), opuestamente posicionados uno del otro, en forma de cruz. El laberinto se elevó 45 cm sobre el nivel del piso.

7.4.3 Grupos experimentales y tratamientos

Los animales se distribuyeron al azar en grupos independientes (n=9-13). Un grupo quedó sin tratamiento (INT), cuatro grupos recibieron por vía oral (v.o.) el extracto metanólico de *E. lanata* (EMEI 60, EMEI 90 o EMEI 120 mg/kg) o vehículo (VEH) solución salina al 0.9%. Otro grupo recibió por vía intraperitoneal (v.i.) 1 mg/kg de diazepam (DZP), ansiolítico de referencia. Los extractos y el vehículo se administraron una hora antes de la prueba, mientras que el diazepam se inyectó 30 minutos antes.

7.4.4 Procedimiento

La prueba de ansiedad siguió el método descrito por Raupp *et al.* (2008); Bourin *et al.* (2007); Lister, (1987) y Pellow *et al.* (1985) con ligeras modificaciones. Brevemente, los ratones se colocaron individualmente al centro del laberinto (LCE) mirando hacia uno de los brazos abiertos y se les permitió explorar el aparato durante 5 minutos. Se registró el número

de entradas y el tiempo de permanencia en cada tipo de brazo. Posteriormente, se calculó el porcentaje de entradas a los brazos abiertos (% Entrada BA) y el porcentaje de tiempo de permanencia en los brazos abiertos (% Tiempo BA), considerados parámetros de ansiedad en LEC; mientras que el número de entradas a los brazos cerrados (% Entrada BC) se considera un índice de actividad locomotora (Walf y Frye, 2007). Sobre el aparato se instaló una cámara de video digital (Canon FS100) para registrar la actividad de los ratones. Dos observadores independientes analizaron las grabaciones para medir las variables de comportamiento. Para evitar la perturbación de los animales debido a la orina y las heces, después de cada prueba, el laberinto se limpió con una solución de etanol al 10% y un paño seco.

7.4.5 Campo Abierto (CA)

En esta prueba se utilizó una caja de acrílico opaca de 30 x 30 x 15 cm cuya superficie estaba dividida en 9 cuadrantes de 10 x 10 cm. El área de campo abierto se usó para evaluar la actividad exploratoria del animal. Cada ratón se colocó al centro de la caja y durante cinco minutos se evaluó su actividad exploratoria (Archer, 1973), registrando el número de cuadrantes que cruzó con sus cuatro patas.

7.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Todos los datos de comportamiento se presentan como media \pm error estándar de la media (ESM) y se analizaron con ANOVA de una vía, seguido de la prueba post hoc de Duncan. En todos los casos, un valor de $p \leq 0.05$ se consideró significativo. Se utilizó el programa estadístico SPSS 18.0.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Material Vegetal

El ejemplar botánico fue identificado como *Erythrina lanata* Rose (FABACEAE/LEGUMINOSAE) y quedó depositado en el Herbario-Hortorio JES de Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo con el número de registro 25970 (Figura 6), así como en el Herbario Hortorio CHAPA del Colegio de Postgraduados (Anexo A).

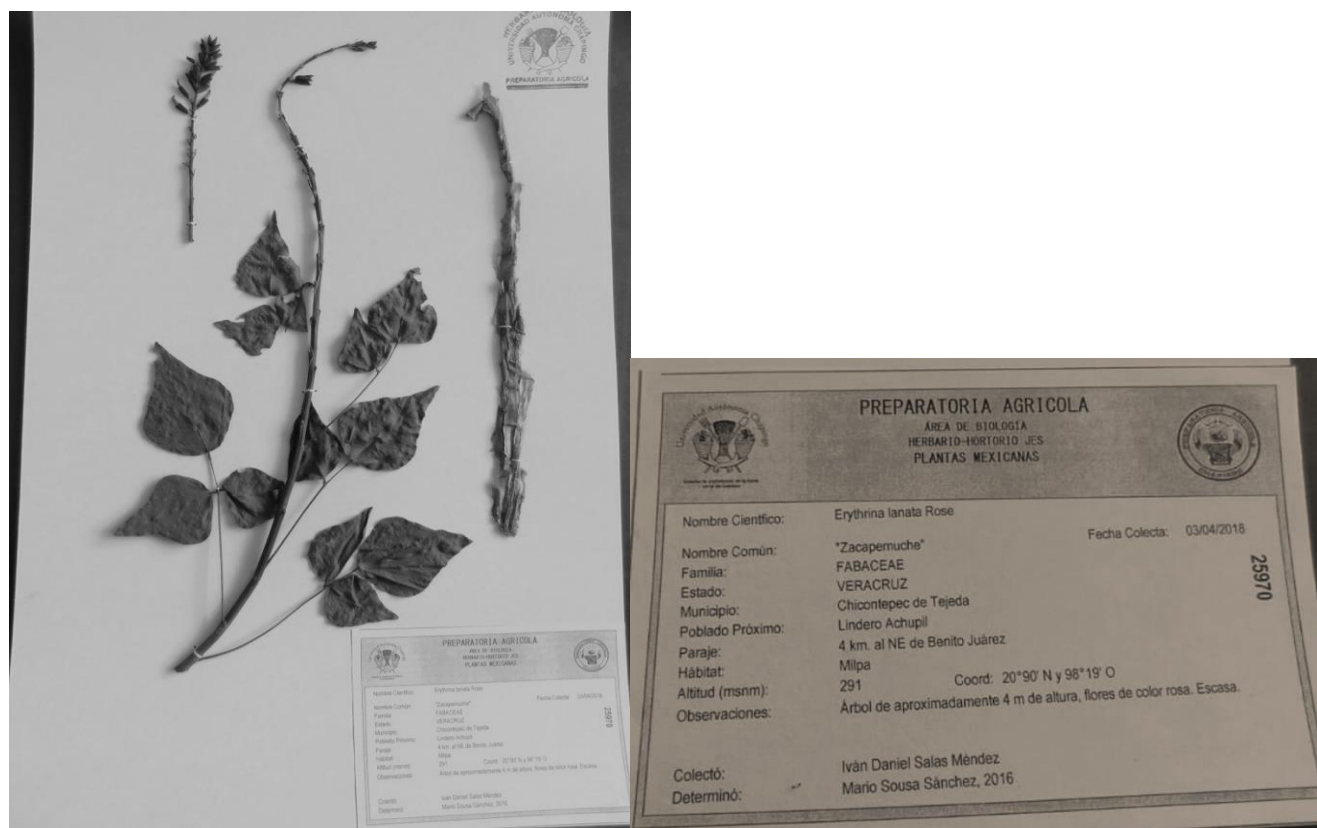


Figura 6. Ejemplar botánico depositado en el Herbario-Hortorio JES de la Universidad Autónoma de Chapingo

8.2 Análisis preliminar fitoquímico de EMEI

El análisis del EMEI reveló la presencia de alcaloides, saponinas, flavonoides, terpenoides y ácidos fenólicos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Análisis fitoquímico preliminar del extracto en metanol de la inflorescencia de *E. lanata*.

METABOLITO	PRESENCIA/AUSENCIA
Alcaloides	+
Taninos	-
Saponinas	++
Flavonoides	++
Terpenoides	++
Ácidos fenólicos	+++

Nota: + Presencia escasa, ++ Presencia relativamente abundante, +++ Presencia abundante, - No detectado

8.3 Obtención de extractos y fracciones de alcaloides

De acuerdo a Téllez (2006) el extracto crudo en metanol es el que ofrece mayor rendimiento en comparación con el de hexano. De las semillas se obtuvieron 35.4 g de extracto crudo en hexano y 38.8 g de extracto crudo en metanol, de corteza se obtuvieron 0.8 g de extracto crudo en hexano y 38.1 g de extracto crudo en metanol y para la inflorescencia se obtuvieron 1.6 g del extracto crudo en hexano y 31.6 g del extracto en metanol, lo cual representa el 13.3% y 14.6% con respecto al peso de las semillas, 1.5% y 71.6% con respecto al peso de la corteza y 0.8% y 16.3% con respecto al peso de las inflorescencias.

Los alcaloides libres son aquellos que se encuentran como bases libres, mientras que los que se encuentran como glicósidos y fueron analizados después de una hidrólisis ácida son los alcaloides liberados (Chawla *et al.*, 1985).

En el Cuadro 3 se presenta la cantidad de fracciones crudas obtenidas a partir de los extractos crudos de semilla, corteza e inflorescencia de *E. lanata*

Cuadro 3. Cantidad de fracciones crudas de alcaloides de *E. lanata*

Fracción cruda de alcaloides/Material vegetal	Peso (g)	Rendimiento con respecto a la muestra (%)
Libres en hexano de semilla	0.0104	0.003
Libres en metanol de semilla	0.0496	0.018
Liberados en metanol de semilla	0.04	0.015
Libres en hexano de corteza	0.0136	0.025
Libres en metanol de corteza	0.0196	0.036
Liberados en metanol de corteza	0.01	0.018
Libres en hexano de inflorescencia	0.0179	0.009
Libres en metanol de inflorescencia	0.0968	0.050
Liberados en metanol de inflorescencia	0.12	0.062

Como se puede observar en el Cuadro 4 la variación en el rendimiento de fracciones de alcaloides en diferentes especies es variable. Cabe mencionar que los resultados de la presente investigación son menores en comparación con estudios ya mencionados en la literatura, y estas variaciones en los rendimientos de las fracciones crudas pueden deberse a diferencia entre especie, variedad (Krukoff y Barneby, 1974), formación de inflorescencias, desarrollo y maduración del fruto (Robinson, 1979), el método de extracción (Folkers y Koniuszy, 1940), así como el tiempo de colecta del material vegetal.

Cuadro 4. Rendimiento de fracciones crudas de alcaloides en semillas de diversas especies de *Erythrina*

Especie	Fracción alcaloides libres (%)	Fracción alcaloides liberados (%)	Referencia
<i>E. brucei</i>	0.19	0.78	Chawla <i>et al.</i> (1985)
<i>E. cochleata</i>	0.21	0.41	
<i>E. tholloniana</i>	0.67	0.21	
<i>E. caribea</i>	0.33	0.55	
<i>E. fusca</i>	0.4	0.35	
<i>E. costaricensis</i>	0.56	0.67	Soto-Hernández y Jackson (1994)
<i>E. leptorhiza</i>	0.18	0.35	
<i>E. speciosa</i>	0.20	0.84	
<i>E. variegata</i>	0.11	0.33	
<i>E. melanacantha</i>	0.19	0.24	
<i>E. berteroana</i>	0.24	0.55	
<i>E. breviflora</i>	0.54	0.23	Sotelo <i>et al.</i> (1993)
<i>E. americana</i>	0.4	0.13	
<i>E. abyssinica</i>		2.65	Folkers y Koniuszy (1940)
<i>E. americana</i>	0.11	0.31	
<i>E. flabelliformis</i>		2.50	
<i>E. sandwicensis</i>		2.12 y 1.60	
<i>E. americana</i>	0.068	0.279	Garín <i>et al.</i> (2000)
		0.224	

Las distintas fracciones de alcaloides monitoreados por cromatografía en capa fina (CCF) se muestran en las Figuras 7 y 8.

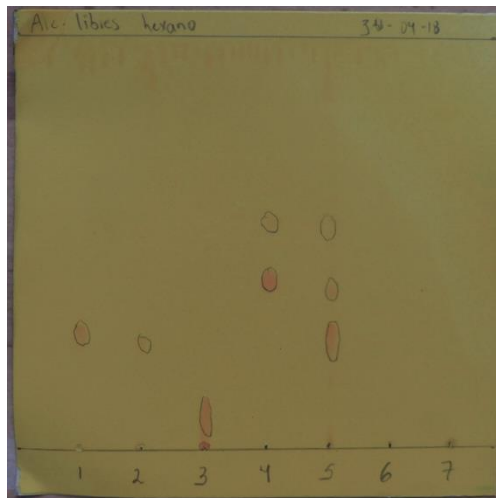


Figura 7. Cromatografía en capa fina de la fracción de alcaloides libres en hexano revelados con reactivo de Dragendorff.

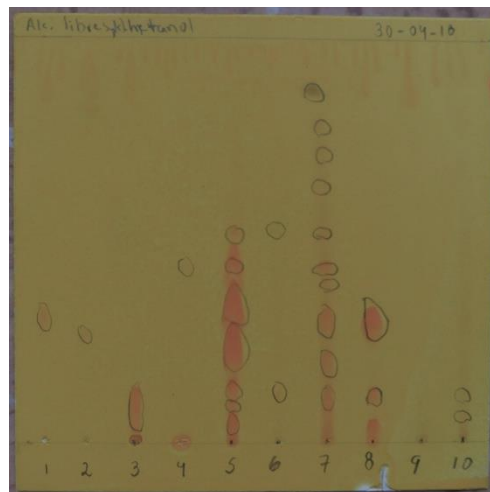


Figura 8. Cromatografía en capa fina de la fracción de alcaloides libres y liberados en metanol revelados con reactivo de Dragendorff.

8.4 Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)

El análisis de cromatografía de líquidos de las fracciones de alcaloides libres en hexano, libres en metanol y liberados de semilla, corteza e inflorescencia permitió identificar cuatro alcaloides en *E. lanata* (erisodina, erisovina, erisopina y β -eritroidina). Estos alcaloides se detectaron con base en su tiempo de retención (9.8, 10.5, 10.9 y 8.2 minutos respectivamente) al compararse con estándares puros. Los estándares fueron previamente aislados de semillas de *Erythrina americana* Mill. y *Erythrina coralloides* DC. e identificados por técnicas espectrométricas y espectroscópicas. Los cromatogramas de las fracciones alcaloideas de la inflorescencia se muestran en la Figuras 9, 10 y 11.

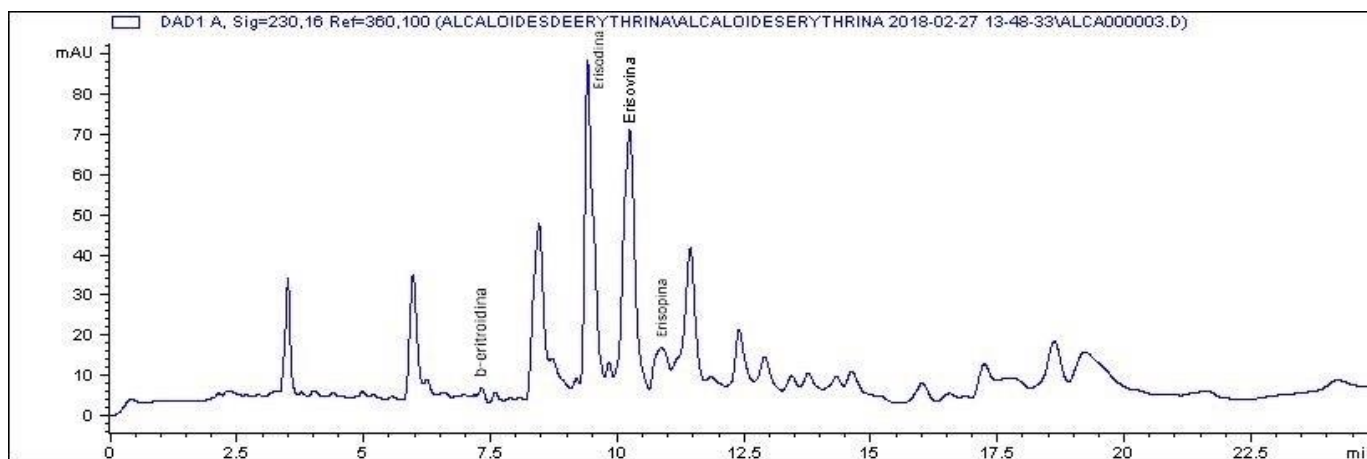


Figura 9. Cromatograma de la fracción de alcaloides de inflorescencia libres en hexano

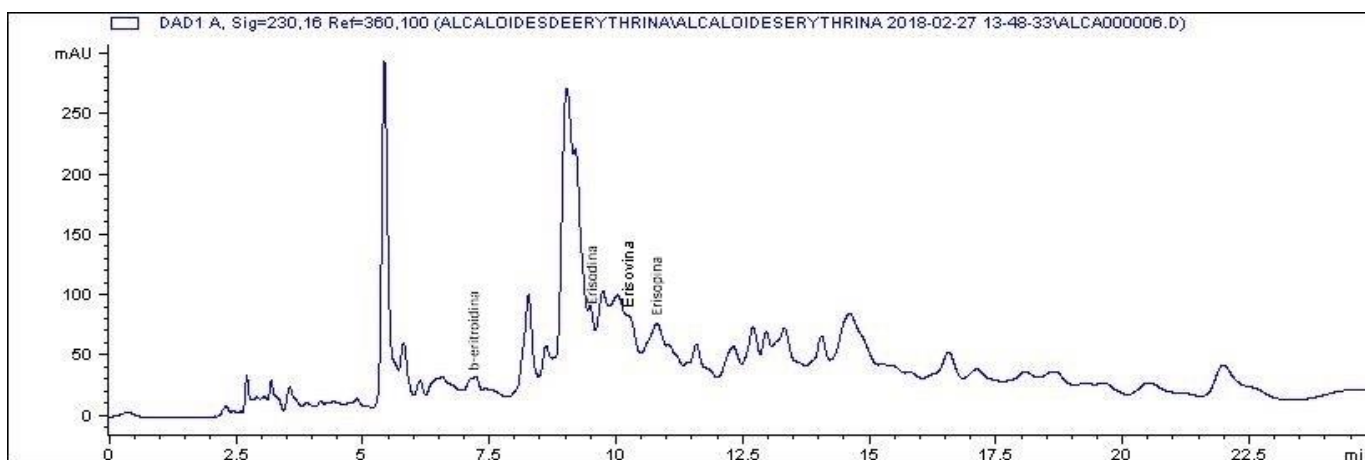


Figura 10. Cromatograma de la fracción de alcaloides de inflorescencia libres en metanol

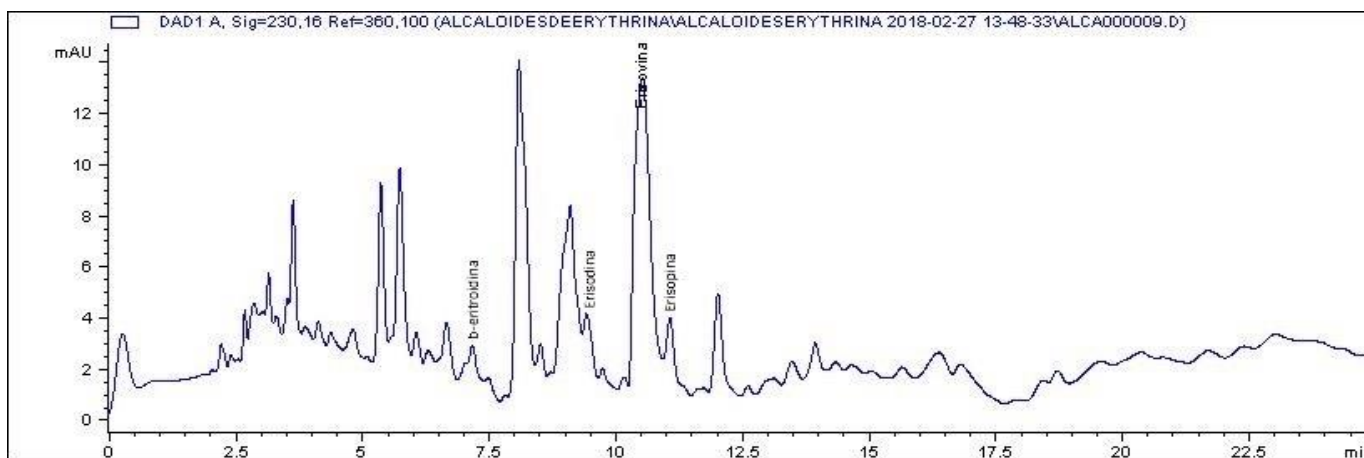


Figura 11. Cromatograma de la fracción de alcaloides de inflorescencia liberados en metanol

Las fracciones de corteza (142.50 mg/kg) y semilla (59.22 mg/kg) fueron las fracciones de mayor contenido de alcaloides de *E. lanata*, seguido por la inflorescencia (10.59 mg/kg). Los cromatogramas de las fracciones alcaloideas de semillas y corteza se presentan en el Anexo B.

Las técnicas analíticas particularmente útiles para la detección e identificación de los alcaloides en estas plantas son la cromatografía de gases (GC) y la GC acoplada con espectrometría de masas (GC-MS). Aunque la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) también es de importante utilidad en estos análisis (Tsuda y Sano, 1996; Soto, 1989).

Estos resultados son consistentes con el trabajo de Jackson *et al.* (1982) quienes aislaron e identificaron a erisodina y erisovina en las semillas de *Eythrina lanata* subsp. *lanata*. Otros trabajos en los que analizan los componentes de naturaleza alcaloidal en especies del género *Erythrina*, son el de Soto-Hernández y Jackson, (1994) quienes a través de GC-MS analizaron los alcaloides de las semillas de *E. fusca*, *E. costaricensis*, *E. leptoriza*, *E. speciosa*, *E. variegata*, *E. melanacantha*, *E. berteriana* e identificaron a los alcaloides erisodina, erisovina, erisopina, eritralina, erisotrina, erisolina, erisonina, eritrocarina, eritratidina, eritratina, erysotina, 11-hidroxieritratidina, erimelantina, demetoxicarbonilerymelantina, eritratina y eritratina n-óxido en algunas de estas especies. También por GC-MS García-Mateos *et al.* (1998) analizaron los alcaloides de semillas, flores, hojas y corteza de seis especies endémicas de México (*E. americana*, *E. coralloides*, *E. leptoriza*, *E. mexicana*, *E. oaxacana*, *E. sousae*). Los autores señalaron que erisotrina, erisotramidina, eritratina, erisodina, erisovina, cristamidina, eritratidina, erisotina y eritramina,

α -eritroidina y β -eritroidina se distribuyen en algunas de las especies analizadas. En otro estudio, Garín-Aguilar *et al.* (2005) reportaron la presencia de erisovina, erisodina, erisotrina, eritralina, glucoerisopina y erisopina en extractos crudos de semilla (fracción de alcaloides libres en hexano, libres en metanol y liberados) de *E. herbacea*. Los alcaloides erisodina, erisovina, erisopina y β -eritroidina encontrados en el extracto en metanol de las inflorescencias de *E. lanata* también se aislaron de semillas de *E. americana* y estructuralmente tienen como base al esqueleto eritrinano, una espiroamina tetracíclica que se encuentra en dos formas en la planta: libre o conjugada formando glucósidos (García y Soto, 2001).

8.5 Prueba Conductual, Laberinto en Cruz Elevado (LEC)

La Figura 12 muestra los efectos de EMEI (60, 90 y 120 mg/kg v.o.) y DZP (1 mg/kg i.p.) sobre el comportamiento de los ratones en el LEC. El ANOVA de una vía reveló diferencias significativas entre los grupos cuando se analizó el porcentaje de número de entradas a los brazos abiertos [$F(5,64) = 5,737; p < 0,0001$] y el % de tiempo de permanencia en los brazos abiertos [$F(5,64) = 6,469; p < 0,0001$] (Figura 13). La prueba post hoc de Duncan indicó que las diferencias significativas en el % Entrada BA y % Tiempo BA se produjeron con DZP (1 mg/kg) y con EMEI (90 y 120 mg/kg), grupos que alcanzaron los valores más altos para estos parámetros, en contraste con EMEI (60 mg/kg), VEH e INT. Estos datos sugieren el efecto ansiolítico del extracto metanólico de las inflorescencias de *Erythrina lanata* en dosis de 90 y 120 mg/kg.

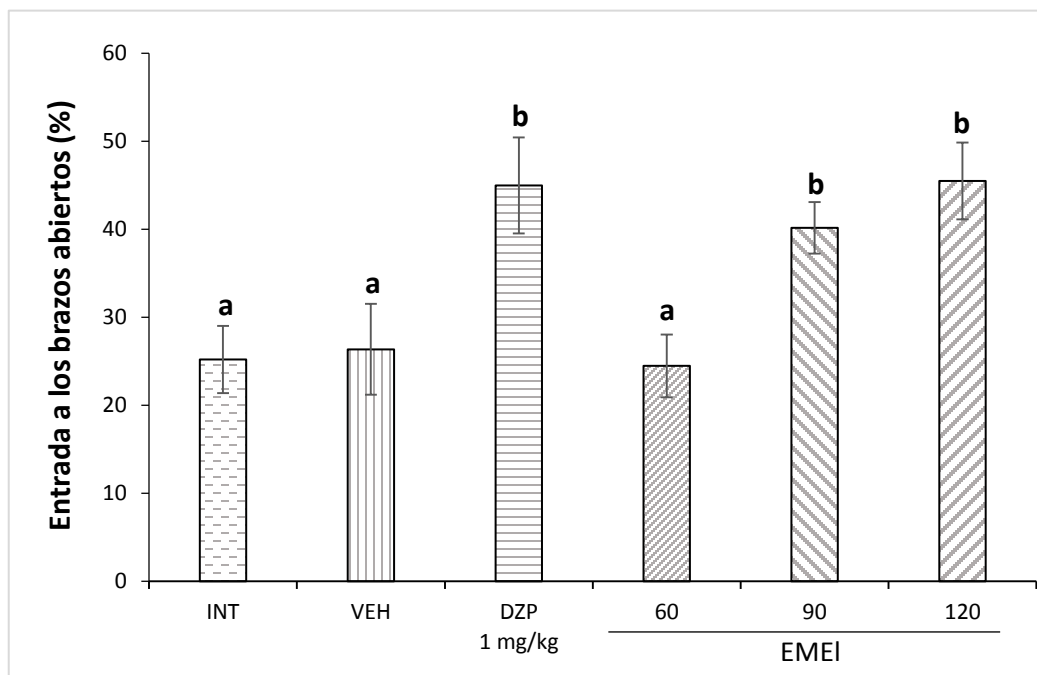


Figura 12. Porcentaje de entrada a brazos abiertos del EMEI (60, 90 y 120 mg/kg), intacto (INT), vehículo (NaCl 0.9% i.p. (VEH) y DIAZEPAM (DZP 1 mg/kg i.p.) sobre el comportamiento de los ratones en el Laberinto en Cruz Elevado. Los datos se presentan como media \pm SEM (n = 9 -13).

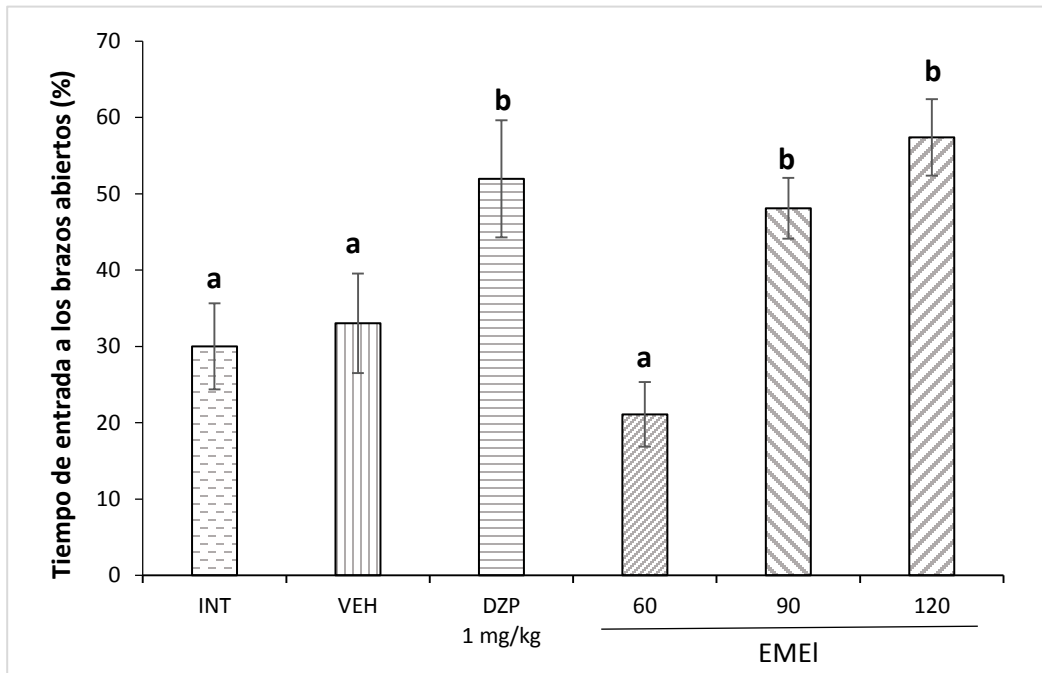


Figura 13. Porcentaje de tiempo de entrada a brazos abiertos del EMEI (60, 90 y 120 mg/kg), intacto (INT), vehículo (NaCl 0.9% i.p. (VEH) y DIAZEPAM (DZP 1 mg/kg i.p.) sobre el comportamiento de los ratones en el Laberinto en Cruz Elevado. Los datos se presentan como media \pm SEM (n = 9 -13).

Con respecto al número de entradas a los brazos cerrados (Figur 14), el ANOVA de una vía no encontró diferencias significativas entre los grupos [$F(5,64) = 0.267$; $p = 0,929$]. Lo que indica que las dosis del extracto de *E. lanata* no interfirieron con la actividad motora de los sujetos.

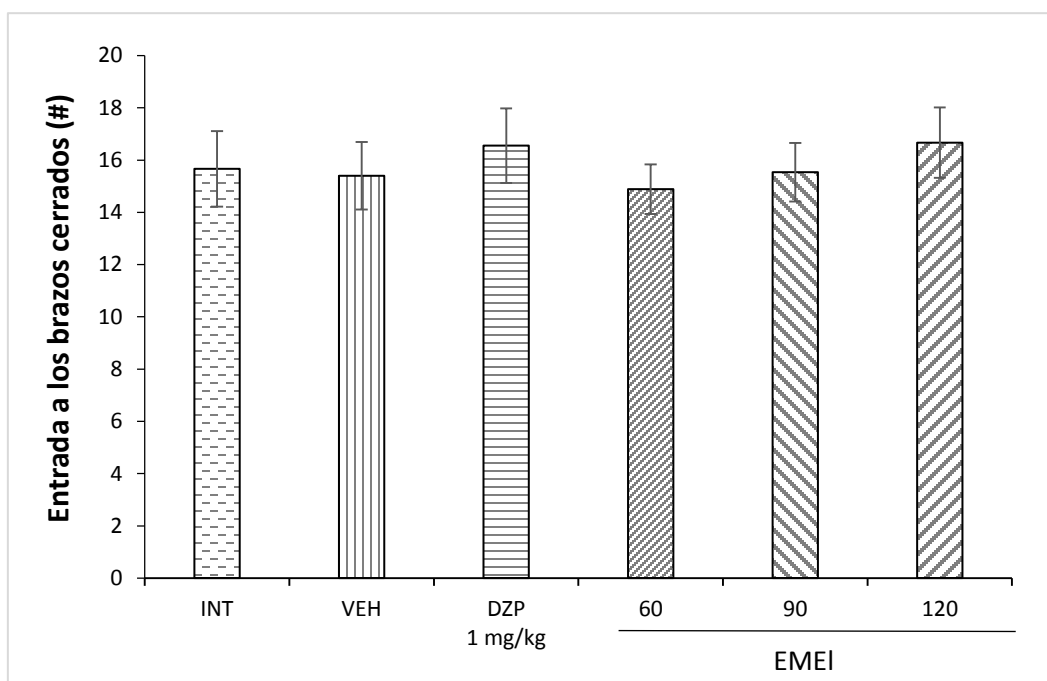


Figura 14. Número de entradas a brazos cerrados del EMEI (60, 90 y 120 mg/kg), intacto (INT), vehículo (NaCl 0.9% i.p. (VEH) y DIAZEPAM (DZP 1 mg/kg i.p.) sobre el comportamiento de los ratones en el Laberinto en Cruz Elevado. Los datos se presentan como media \pm SEM (n = 9 - 13).

El LEC es un paradigma de comportamiento bien caracterizado para investigar la ansiedad en roedores. La prueba se basa en el conflicto entre una aversión innata a los espacios abiertos y una tendencia a explorar nuevos entornos (Pellow *et al.*, 1985; File *et al.*, 1993). El LEC fue diseñado para proporcionar medidas de ansiedad que están relativamente no contaminadas por cambios en la actividad motora general y ha sido ampliamente validado (Pellow y File, 1986). Con este modelo el extracto en metanol de inflorescencias de *E. lanata* (90, 120 mg/kg) incrementó los porcentajes de entrada y tiempo pasado en los brazos abiertos de manera similar al ejercido por DZP, los cuales fueron más altos que INT y VEH. Además, estos efectos ocurrieron en ausencia de cambios por el tratamiento en la actividad locomotora en el LEC. El efecto ansiolítico del extracto tiende a ser dosis dependiente ya que la dosis más baja (60 mg/kg) no tuvo efecto ansiolítico y la dosis más alta (120 mg/kg), aunque no fue diferente de la dosis intermedia (90 mg/kg), presentó una tendencia a incrementar el porcentaje de tiempo gastado y número de entradas a los brazos abiertos.

Estos resultados son consistentes con las evidencias en la literatura sobre la actividad ansiolítica del extracto acuoso liofilizado de la inflorescencia de *Erythrina berteroana* (100, 250 y 500 mg/kg) en los modelos de laberinto en cruz elevado y enterramiento de esferas (Bonilla *et al.*, 2014). Por su parte, Raupp *et al.* (2008) evaluaron el efecto de la administración aguda (5, 10, 25, 50 y 100 mg/kg) y crónica (50 y 100 mg/kg) del extracto hidroalcohólico de la corteza del tallo de *E. velutina* usando el laberinto en cruz. El efecto ansiolítico sólo se encontró en la dosis crónica de 100 mg/kg.

8.6 Campo Abierto (CA)

En la prueba de campo abierto (Figura 15), el ANOVA de una vía no detectó diferencia significativa en el número de cruces a los cuadrantes [$F(5,39) = 2.261$; $p = 0,070$], lo que indica que no hubo deterioro motor. Estos datos sugieren que los alcaloides con acción curariforme, presentes en plantas del género *Erythrina* (Ghosal y Bchattacharya, 1972), se encuentran en bajas proporciones en las inflorescencias de *E. lanata*, ya que no hubo deterioro motor en la prueba de campo abierto, ni en el brazo cerrado del LEC. Es importante señalar que, en el modelo de campo abierto, la dosis más alta muestra una tendencia a disminuir la conducta ambulatoria aun cuando el estadístico no detectó diferencias significativas, de esta forma se observa que el extracto en metanol de las inflorescencias de *E. lanata* tiene actividad ansiolítica.

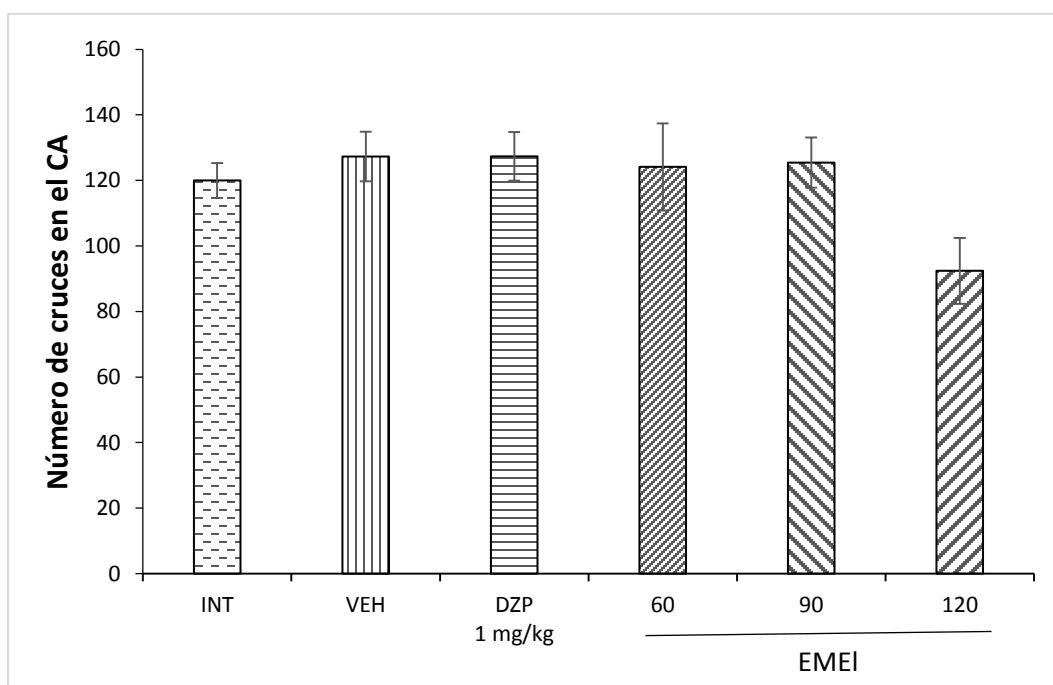


Figura 15. Número de cruces del EMEI (60, 90 y 120 mg/kg), intacto (INT), vehículo (NaCl 0.9% i.p. (VEH) y DIAZEPAM (DZP 1 mg/kg i.p.) sobre el comportamiento de los ratones en el Campo Abierto. Los datos se presentan como media \pm SEM (n = 9 -13).

Estos resultados están consistentes con y validan trabajos anteriores. Majinda (2018) describe el efecto de extractos y alcaloides aislados de *Erythrina* en el SNC. Señala a este tipo de alcaloides como posibles responsables de actividades anticonvulsionante, hipnótica, analgésica (Ghosal y Bhattacharya, 1972), nicotínica (Decker *et al.*, 1995) y ansiolítica (Flausino *et al.*, 2007b). Entre los efectos de los extractos y alcaloides de *Erythrina* destacan la disminución de la conducta agresiva en ratones por las fracciones de alcaloides libres en hexano, libres en metanol y liberados de *E. americana* (Garín-Aguilar *et al.*, 2000), la actividad curariforme de erisodina aislada de *E. americana* (Folkers y Major, 1937) y actividad ansiolítica del extracto hidroalcohólico y alcaloides aislados de la inflorescencia de *E. mulungu* (Flausino *et al.*, 2007a). Los autores encontraron que 200 y 400 mg/kg del extracto hidroalcohólico y los alcaloides (+)-11- α -hidroxieritravina (10 mg/kg), eritravina (3 y 10 mg/kg) y (+)- α -hidroxierisotrina (10 mg/kg) deterioraron la adquisición de evitación inhibitoria de los brazos abiertos en el laberinto en T elevado, un modelo animal validado en estudios relacionados con la ansiedad y la memoria (Viana *et al.*, 1994). Rodrigues-Serrano *et al.* (2001) aislaron erisodina y erisotrina de la inflorescencia de *E. suberosa* y encontraron que en el LEC únicamente erisodina (10 mg/kg) presentó efecto ansiolítico; mientras que en el modelo de transición luz-obscuridad, ambos alcaloides (erisodina 10 mg/kg y erisotrina 3 mg/kg) presentaron efecto ansiolítico.

Ribeiro *et al.* (2006) analizaron dosis aguda (100, 200 y 400 mg/kg) y crónica (50, 100 y 200 mg/kg) del extracto hidroalcohólico de la corteza de *E. mulungu* y *E. velutina* en el Laberinto en T elevado, evidenciaron el efecto ansiolítico en 200 y 400 mg/kg en dosis aguda y 50 y 200 mg/kg en dosis crónica. Otros trabajos aportan que dosis de 100 mg/kg del extracto hidroalcohólico de la corteza de *E. velutina* posee efecto ansiolítico en ratones (Raupp *et al.*, 2008). Onusic *et al.*, (2002) determinaron que el extracto hidroalcohólico de las inflorescencias de *E. mulungu* en una dosis aguda de 200 mg/kg, administrada de manera crónica a 50, 100 y 200 mg/kg, por vía oral (Onusic *et al.*, 2003), presentaron un efecto ansiolítico en ratas entrenadas en el laberinto en T.

Se han documentado algunos probables mecanismos de acción de los alcaloides de *Erythrina* sobre el SNC. El alcaloide dihidro- β -eritroidina es un potente antagonista de los receptores nicotínicos neuronales (Williams y Robinson, 1984). Decker *et al.* (1995)

informaron que erisodina es un alcaloide con mayor afinidad y selectivo que dihidro- β -eritroidina en el bloqueo de los receptores nicotínicos neuronales $\alpha 4\beta 2$.

El análisis preliminar fitoquímico de la inflorescencia de *E. lanata* reveló además de la presencia de saponinas, flavonoides, terpenoides y ácidos fenólicos. Estos metabolitos también han sido encontrados en otras especies del género (Jesupillai *et al.*, 2008; Tanaka *et al.*, 2001; Carvalho *et al.*, 2009; Ogutu *et al.*, 2012).

Pocos son los estudios que se han realizado con los flavonoides de *Erythrina*. Sin embargo, estos metabolitos contenidos en otras plantas, han despertado interés por sus acciones en el SNC (Estrada-Reyes *et al.*, 2012), entre las que sobresalen sus propiedades como ansiolíticos, sedantes, antidepresivos y anticonvulsivos. Se ha reportado que los flavonoides tienen importantes afinidades de unión para el sitio de las benzodiazepinas (Wang *et al.*, 2005; Marder y Paladini, 2002; Paladini *et al.*, 1999) que son la consecuencia de una interacción directa o indirecta con el sistema GABAérgico por otras interacciones con diferentes neurotransmisores como los sistemas serotoninérgicos u opioidérgicos (Viola *et al.*, 1995). Otro grupo de metabolitos detectados en el EMEl por el análisis preliminar fitoquímico son los terpenoides, sustancias que también tienen actividad en el SNC. Linck *et al.* (2010) mostraron que el linalool tiene propiedad ansiolítica en el modelo de luz-obscuridad, incrementó la interacción social y disminuyó la conducta agresiva en ratones.

A la luz de estos hallazgos, la actividad ansiolítica detectada en el extracto en metanol de inflorescencias de *Erythrina lanata*, se puede explicar en términos de una acción sinérgica de sus constituyentes químicos, entre ellos alcaloides, flavonoides y terpenoides identificados por el análisis preliminar fitoquímico. La especie *Erythrina lanata* Rose no había sido estudiada en modelos experimentales que permitieran determinar su potencial ansiolítico, que hoy quedó evidenciado con el Laberinto en Cruz Elevado. Sin embargo, se requiere de investigación adicional para elucidar el mecanismo de acción del efecto ansiolítico de EMEl y sus constituyentes.

9. CONCLUSIONES

- El mayor rendimiento de los extractos crudos se obtuvo con metanol, seguido de hexano en todos los órganos evaluados.
- Los resultados del análisis fitoquímico de *E. lanata*, muestran que esta especie sintetiza principalmente alcaloides, saponinas, flavonoides, terpenoides y ácidos fenólicos.
- Las fracciones de alcaloides libres en metanol presentaron mayor rendimiento con respecto a las fracciones de alcaloides libres en hexano y liberados en metanol. Se confirma la presencia de alcaloides (erisodina, erisovina, erisopina y β -eritroidina) en todos los órganos de *Erythrina lanata*.
- El extracto en metanol de la inflorescencia de *Erythrina lanata* Rose ejerce un efecto ansiolítico en ratones de la cepa CD1, similar al diazepam, en el modelo de laberinto en cruz elevado, a dosis de 90 y 120 mg/kg.

10. LITERATURA CITADA

- Akter, K., E. C. Barnes, W. L. Loa-Kum-Cheun, P. Yin, M. Kichu, J. J. Brophy, R. A. Barrow, I. Imchen, S. R. Vemulpad, and J. F. Jamie. 2016. Antimicrobial and antioxidant activity and chemical characterisation of *Erythrina stricta* Roxb. (Fabaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 185:171-181.
- Amorim, J., M. de Carvalho Borges, A. T. Fabro, S. H. T. Contini, M. Valdevite, A. M. S. Pereira, and F. Carmona. 2018. The ethanolic extract from *Erythrina mulungu* Benth. flowers attenuates allergic airway inflammation and hyperresponsiveness in a murine model of asthma. *Journal of Ethnopharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.08.009>.
- Anouar, E. H. 2016. Antioxidant activity of mildbone and mildbenone secondary metabolites of *Erythrina mildbraedii* Harms: A theoretical approach. *Computational and Theoretical Chemistry* 1077:106-112.
- Atsamo, A. D., T. B. Nguiefack, J. Y. Datté, and A. Kamanyi. 2011. Acute and subchronic oral toxicity assessment of the aqueous extract from the stem bark of *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae) in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 134(3):697-702.
- Austin, D. F. 2004. Florida ethnobotany. The Society for Economic Botany. CRC. Boca Raton, Florida, USA. Libro electrónico. Mayo, 2008.
- Archer, J., 1973. Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Animal Behavior* 21:205-235.
- Barakat, I., A. H. Jackson, and M. I. Abdulla. 1977. Further studies of *Erythrina* alkaloids. *Lloydia* 40 (5):471-475.

- Bakr, R. O., M. A. Fayed, A. M. Fayez, S. K. Gabr, A. M. El-Fishawy, and T. S. El-Alfy. 2018. Hepatoprotective activity of *Erythrina × neillii* leaf extract and characterization of its phytoconstituents. *Phytomedicine* 53:9-17.
- Bedane, K. G., S. Kusari, D. Eckelmann, I. B. Masesane, M. Spiteller, and R. R. Majinda,. 2015. Erylivingston A–C with antioxidant and antibacterial activities from *Erythrina livingstoniana*. *Fitoterapia* 105:113-118.
- Bedane, K. G., S. Kusari, I. B. Masesane, M. Spiteller, M., and R. R. Majinda. 2016. Flavanones of *Erythrina livingstoniana* with antioxidant properties. *Fitoterapia* 108:48-54.
- Biyiti, L., D. Pesando, and S. Puisieux-Dao. 1988. Antimicrobial activity of two flavanones isolated from the Cameroonian plant *Erythrina sigmoidea*. *Planta Medica* 54:126–128.
- Bonilla, J. A., A. M. Santa Maria, G. Toloza, P. Espinoza Madrid, J. N. Avalos, M. J. Nuñez,, and M. Moreno. 2014. Efecto sedante, ansiolítico y toxicológico del extracto acuoso de flores de *Erythrina berteroana* (pito) en ratones. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 19(4):383-398.
- Bouton, M. E., S. Mineka, and D. H. Barlow. 2001. A modern learning theory perspective on the etiology of panic disorder. *Psychological Review* 108(1):4-32.
- Bourin M., B. Petit-Demouliere, B. N. Chonnchadha, and M. Hascöet. 2007. Animal models of anxiety in mice. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 21:567-574.
- Brito, F. I. 2005. Zompante o colorín (*Erythrina americana* Miller). *Tlahui-Medic*. 20(2):37.
- Calle A., J., R. Pinzón S., L. F. Ospina, N. C. Medina, A. Carrión, and E. Bautista. 1997. Alcaloides isoquinolínicos de la corteza y flores de *Erythrina fusca* Loureiro. *Revista Colombiana de Químico-Farmacéuticos* 26:39-42.

- Caporale, L. H. 1995. Chemical Ecology: a view from the Pharmaceutical Industry. Proceedings of the National Academy of Sciences 92:75-82.
- Chacha, M., G. Bojase-Moleta, R. R. T., and Majinda. 2005. Antimicrobial and radical scavenging flavonoids from the stem wood of *Erythrina latissima*. Phytochemistry 66: 99-104.
- Chawla, A. S. F. M., J. Redha, and A. H. Jackson. 1985. Alkaloids in seeds of four *Erythrina* species. Phytochemistry 24(8):1821-2823.
- Chawla, A. S., and V. K. Kapoor. 1995. *Erythrina* alkaloids. In: The alkaloids: chemical and biological perspectives. Pelletier, S. W. (Ed.), Pergamon Press, New York, USA 9:85-153.
- Chukwujekwu, J. C., C. A. de Kock, P. J. Smith, F. R. Van Heerden, and J. Van Staden. 2016. Antiplasmodial activity of compounds isolated from *Erythrina caffra*. South African Journal of Botany 106:101-103.
- Carretero, A. M. E. 2001. Alcaloides: aspectos generales (I). Panorama Actual Medico 25 (241):222-227.
- Carvalho, A. C. C., D. S. Almeida, M. G. Melo, S. C. Cavalcanti, and R. M. Marçal. 2009. Evidence of the mechanism of action of *Erythrina velutina* Willd (Fabaceae) leaves aqueous extract. Journal of Ethnopharmacology 122(2):374-378.
- Cornelius, W. W., T. Akeng'a, G. O. Obiero, and K. P. Lutta. 2009. Antifeedant activities of the erythraline alkaloids from *Erythrina latissima* against *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera noctuidae). Records of Natural Products 3(2):96-103.
- Dantas, M. D., F. S. De Oliveira, S. M. Bandeira, J. S. Batista, C. D. Silva, P. B. Alves, A. R. Antonioli, and M. Marchioro. 2004. Central nervous system effects of the crude

extract of *Erythrina velutina* on rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 94(1):129-133.

Decker, M. W., D. J. Anderson, J. D. Brioni, D. L. Donnelly-Roberts, C. H. Kang, A. B. O'Neil, M. Piattoni-Kaplan, S. Swanson, and J. P. Sullivan. 1995. Erysodine a competitive antagonist at neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *European Journal of Pharmacology* 280:79-89

Dias, S. A., A. E. Neves, A. de BF Ferraz, J. N. Picada, and P. Pereira, P. 2013. Neuropharmacological and genotoxic evaluation of ethanol extract from *Erythrina falcata* leaves, a plant used in Brazilian folk medicine. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 23(2):335-341.

Estrada-Reyes, R., D. Ubaldo-Suárez, A. G. Araujo-Escalona. 2012. Los flavonoides y el sistema nervioso central. *Salud Mental* 35(5):375-384.

Faggion, S. A., A. O. S. Cunha, H. A. Fachim, A. S. Gavin, W. F. dos Santos, A. M. S. Pereira, and R. O. Belebani. 2011. Anticonvulsant profile of the alkaloids (+)-erythravine and (+)-11- α -hydroxy-erythravine isolated from the flowers of *Erythrina mulungu* Mart ex Benth (Leguminosae–Papilionaceae). *Epilepsy & Behavior* 20(3):441-446.

File, S. E. 1993. The interplay of learning and anxiety in the elevated plus-maze. *Behavior Brain Research* 58:199-202.

Flausino Jr, O. A., A. M. Pereira, V. da Silva Bolzani, and R. L. Nunes-de-Souza. 2007a. Effects of erythrinian alkaloids isolated from *Erythrina mulungu* (Papilionaceae) in mice submitted to animal models of anxiety. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 30(2):375-378.

Flausino, O., L. de Ávila Santos, H. Verli, A. M. Pereira, V. D. S. Bolzani, and R. L. Nunes-de-Souza. 2007b. Anxiolytic effects of erythrinian alkaloids from *Erythrina mulungu*.

- Journal of Natural Products 70(1):48-53.
- Folkers, K. and R. T. Major. 1937. Isolation of erythroidine, an alkaloid of curare action, from *Erythrina americana* Mill. Journal of the American Chemical Society 59(8):1580-1581.
- Folkers, K., and F. Koniuszy. 1940a. Erythrina alkaloids VII. Isolation and characterization of the new alkaloids, erythraline and erythratine. Journal of the American Chemical Society 62(2):436-441.
- Folkers, K., and F. Koniuszy. 1940b. *Erythrina* Alkaloids IX. Isolation and characterization of erysodine, erysopine, erysocine and erysovine. Journal of the American Chemical Society 62(7):1677-1683.
- Fonnegra, R. y Jiménez, S. 2007. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Segunda edición. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. 368 Pp.
- García-Mateos, R., M. Soto-Hernandez, and D. Kelly. 1998. Alkaloids from six *Erythrina* species endemic to Mexico. Biochemical Systematics and Ecology 26(5):545-551.
- García-Mateos., R., M. Soto-Hernández, y M. Martínez. 2000. Toxicidad de los extractos de las semillas de *Erythrina americana*. Ciencia Ergo Sum 7(2):166-170.
- García-Mateos, R., M. E. Garín-Aguilar, M. Soto-Hernández and M. Martínez-Vázquez. 2000. Effect of β -erythroidine and dihidro- β -erythroidine from *Erythrina americana* on rats aggressive behaviour. Pharmaceutical and Pharmacology Letters 10:34-37.
- García-Mateos, R., R. Pérez-Pacheco, C. Rodríguez-Hernández, and M. Soto-Hernández. 2004. Toxicidad de alcaloides de *Erythrina americana* en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus*. Revista Fitotecnia Mexicana 27 (4):297-303.
- Garín-Aguilar, M. E., L. Ramírez, and G. Valencia-del Toro. 1997. Evaluación farmacológica de dos fracciones alcaloideas de semillas de *Erythrina americana*, pp. 6-15. In: J. C.

Peña-Ávila, J. A. Lechuga Coronado, and E. Cruz Sosa, eds. *Productos Naturales*. Vol 3. *Perspectivas Biotecnológicas*. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. D.F., México.

Garín-Aguilar, M. E., J. E. Luna, R. M. Soto-Hernández, G. Valencia-del Toro, and M. Martínez-Vázquez. 2000. Effect of crude extracts of *Erythrina americana* Mill. on aggressive behavior in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 69(2):189-196.

Garín-Aguilar, M. E., G. Valencia-del Toro, M. Soto-Hernández, and G. Kite. 2005. High-performance liquid chromatography–mass spectrometric analysis of alkaloids extracted from seeds of *Erythrina herbacea*. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques* 16(5):302-306.

Garín-Aguilar, M. E., S. López-Valera, C. L. Martínez-Villanueva, G. Valencia-del Toro, M. Soto-Hernández, and R. A. Prado-Alcalá. 2009. Erisodina y receptores nicotínicos $\alpha 4\beta 2$ del hipocampo dorsal en la consolidación de la memoria. *Revista Latinoamericana de Química* 4(55):206–217.

Glasby, J. S. 1991. *Dictionary of plants containing secondary metabolites*, p. 254. Taylor & Francis, London.

Ghosal, S., S. Singh, and S. K. Bhattacharya. 1971. Alkaloids of *Mucuna pruriens*, chemistry and pharmacology. *Planta Medica* 19:279-284.

Ghosal, S., S. Dutta, and S. K. Bhattacharya. 1972. *Erythrina*—chemical and pharmacological evaluation II. Alkaloids of *Erythrina variegata* L. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 61:1274-1277.

Harborne J. B. 2005. *Phytochemical methods*. Springer (India), New Dehli. p. 17

Hastings, R. P. 1990. Medicinal legumes of México: Fabaceae, Papilonoideae. Part one. *Economic Botany* 44(3):336-348.

- Hesse. M. 2002. Nature's curse or blessing. Verlag Helvetica Chemical Acta. Zurich, Suiza. pp. 413.
- Hoffman, E. J. and S. J. Mathew. 2008. Anxiety disorders: a comprehensive review of pharmacotherapies. Mount Sinai Journal of Medicine 75:248-262.
- Ibarra-Estrada, E., R. Téllez-Morales, M. Soto-Hernández, M. Martínez Vázquez, R. García-Mateos, y R. San Miguel-Chávez. 2009. Actividad antimicótica in vitro de erisovina. Revista Fitotecnia Mexicana 32(4):327-330.
- Ibarra-Estrada, E., M. Pacheco-Sánchez, R. García-Mateos, R. San Miguel-Chávez, G. Ramírez-Valverde, y R. M. Soto-Hernández. 2011. Actividad antioxidante de alcaloides de *Erythrina americana* Miller. Revista Fitotecnia Mexicana 34(4):241-246.
- Jackson, A. H., P. Ludgate, V. Mavraganis, and F. M. Redha. 1982. Studies of *Erythrina* alkaloids. Part V. GC/MS investigation of alkaloids in the seeds of *E. subumbrans*, *E. lanata*, *E. rubinervia*, *E. acanthocarpa*, *E. variegata* and *E. melanacantha*. Allertonia 3:47-51.
- Janbaz, K. H., U. Nizsar, M. U. Ashraf, and M. I. Qadir. 2012. Spasmolytic, bronchodilator and antioxidant activities of *Erythrina suberosa* Roxb. Acta Poloniae Pharmaceutica 69(6): 1111-1117.
- Jesupillai, M., M. Palanivelu, V. Rajamanickam, and S. Sathyanarayanan. 2008. Anticonvulsant effect of *Erythrina indica* Lam. Pharmacology Online 3:744-747.
- Kalueff, A. V. 2004. Experimental modeling in anxiety and depression research. Experimental Modeling 4(2-3):663-670.
- Kalueff, A. V., and P. Tuohimaa. 2004. Experimental modeling of anxiety and depression. Acta Neurobiologiae Experimentalis 64(4):439-448.

- Kamat, V. S., F. Y. Chuo, I. Kubo, and K. Nakanishi. 1981. Antimicrobial agents from an East African plant *Erythrina abyssinica*. *Heterocycles* 15:1163–1170.
- Khaomek, P., C. Ichino, A. Ishiyama, H. Sekiguchi, M. Namatame, N. Ruangrunsi, E. Saifah, H. Kiyohara, K. Otoguro, S. Omura, and H. Yamada. 2008. In vitro antimalarial activity of prenylated flavonoids from *Erythrina fusca*. *Journal of Natural Medicines* 62:217-220.
- Korte, S. M., and S. F. De Boer. 2003. A robust animal model of state anxiety: fear-potentiated behaviour in the elevated plus-maze. *European Journal of Pharmacology* 463:163-175.
- Krukoff, B. A. and R. C. Barneby 1974. Conspectus of species of the genus *Erythrina*. *Lloydia* 37:332-459.
- Kuete, V., L. P. Sandjo, G. M. Kwamou, B. Wiench, A. E. Nkengfack, and T. Efferth, T. 2014. Activity of three cytotoxic isoflavonoids from *Erythrina excelsa* and *Erythrina senegalensis* (neobavaisoflavone, sigmoidin H and isoneorautenol) toward multi-factorial drug resistant cancer cells. *Phytomedicine* 21(5):682-688.
- Kulkarni, S. K., K. Singh, and M. Bishnoi. 2008. Comparative behavioural profile of newer antianxiety drugs on different mazes. *Indian Journal of Experimental Biology* 46:633-638.
- Kumar, A. Y., K. Nandakumar, M. Handral, S. Talwar, and D. Dhayabaran. 2011. Hypoglycaemic and anti-diabetic activity of stem bark extracts *Erythrina indica* in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Saudi Pharmaceutical Journal* 19(1):35-42.
- Kumar, S., and A. Sharma. 2006. Apigenin: the anxiolytic constituent of *Turnera aphrodisiaca*. *Pharmaceutical Biology* 44:84-90.

- Lister, R. 1987. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology* 92:180-185.
- Linck, V. D. M., A. L. da Silva, M. Figueiró, E. B. Caramao, P. R. H. Moreno, and E. Elisabetsky. 2010. Effects of inhaled Linalool in anxiety, social interaction and aggressive behavior in mice. *Phytomedicine* 17(8-9):679-683.
- Lozoya, X. y M. Lozoya. 1982. Flora medicinal de México. 1. Plantas indígenas. Instituto Mexicano del Seguro Social, IMMS. 309 pp. México.
- Marder, M. and A. C. Paladini. 2002. GABA (A)-receptor ligands of flavonoid structure. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2(8):853-867.
- Majinda, R. R. 2018. An update of erythrinan alkaloids and their pharmacological activities. In: *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*; King, D. A., Falk, H., Gibbons, S., Kobayashi, J., Asakawa, Y., Liu, L. K. Ed. Springer, Cham 107:95-152.
- Marchioro, M., M. D. F. Arrigoni-Blank, R. H. Veras-Mourão, and A. R. Antonioli. 2005. Anti-nociceptive activity of the aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves. *Fitoterapia* 76(7): 637-642.
- Miño, J., S. Gorzalczany, V. Moscatelli, G. Ferraro, C. Acevedo, and O. Hnatyszyn. 2002. Actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de *Erythrina crista-galli* L. ("Ceibo"). *Acta Farmacéutica Bonaerense* 21(2):93-98.
- Mitscher, L. A., J. A. Ward, S. Drake, and G. S. Rao. 1984. Antimicrobial agents from higher plants. Erycristagallin, a new pterocarpene from the roots of the bolivian coral tree, *Erythrina crista-galli*. *Heterocycles* 22(8):1673-1675.
- Mujahid, M., T. Hussain, H. H. Siddiqui, and A. Hussain. 2017. Evaluation of hepatoprotective potential of *Erythrina indica* leaves against antitubercular drugs

- induced hepatotoxicity in experimental rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine* 8(1):7-12.
- Musalem, M. 1992. *Erythrina* in México: Occurrence, use and research. International Conference on *Erythrina* in the New World. Octubre 19-23. CATIE. Turrialba, Costa Rica.
- Nagaraja, T. S., R. Mahmood, V. Krishna, B. S. Thippeswamy, and V. P. Veerapur. 2012. Evaluation of anxiolytic effect of *Erythrina mysorensis* Gamb. in mice. *Indian Journal of Pharmacology* 44(4):489.
- Neill, D. A. 1988. Experimental studies on species relationships in *Erythrina* (Leguminosae: Papilionoidae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 75:886-969.
- Neill, D. A. 1993. The genus *Erythrina*: taxonomy, distribution and ecological differentiation. In: Westley, S. B., Powell, M. H. (Eds.), *Erythrina* in the New and Old Worlds. Nitrogen fixing tree research reports Hawaii. 63:15-27.
- Nguyen, P. H., T. V. T. Le, P. T. Thuong, T. T. Dao, D. T. Ndinteh, J. T. Mbafor, J. T. Kang, and W. K. Oh. 2009. Cytotoxic and PTP1B inhibitory activities from *Erythrina abyssinica*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 19(23):6745-6749.
- Njamen, D., E. Talla, J. R. Mbafor, Z. T. Fomum, A. Kamanyi, J. C. Mbanya, M. Cerdá., R. M. Giner, M. C. Recio, and J. L. Ríos. 2003. Anti-inflammatory activity of erycristagallin, a pterocarpene from *Erythrina mildbraedii*. *European Journal of Pharmacology* 468:67-74.
- Nkengfack, A. E., T. W. Vouffo, J. C. Vardamides, J. Kouam, Z. T. Fomum, M. Meyer, and O. Sterner. 1997. Phenolic metabolites from *Erythrina* species. *Phytochemistry* 46(3):573-578.

- Nkengfack, A. E., A. G. Azebaze, A. K. Waffo, Z. T. Fomum, M. Meyer, and F. R. van Heerden. 2001. Cytotoxic isoflavones from *Erythrina indica*. *Phytochemistry* 58(7): 1113-1120.
- Ogutu, A. I., D. B. Lilechi, C. Mutai, and C. Bii. 2012. Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Phytolacca dodecandra*, *Cucumis aculeatus* and *Erythrina excelsa*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 6(2):692-704.
- Oh, W. K., C. H. Lee, J. H. Seo, M. Y. Chung, L. Cui, Z. T. Fomum, J. S. Kang, and H. S. Lee. 2009. Diacylglycerol acyltransferase-inhibitory compounds from *Erythrina senegalensis*. *Archives of Pharmacological Research* 32(1):43-47.
- Organización Mundial de la Salud. El informe sobre la salud en el mundo 2001: Salud mental: Nuevo entendimiento, nueva esperanza. Ginebra, Organización Mundial de la Salud; 2001.
- Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005 [internet]. Ginebra: OMS. 2002:1-6
- Organización Mundial de la Salud. 2017. Día Mundial de la Salud Mental – La salud mental en el lugar de trabajo. Recuperado de https://www.who.int/mental_health/world-mental-health-day/2017/es/
- Onusic, G. M., R. L. Nogueira, A. M. S. Pereira, and M. B. Viana. 2002. Effect of acute treatment with a water-alcohol extract of *Erythrina mulungu* on anxiety-related responses in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 35(4):473-477.
- Onusic, G. M., R. L. Nogueira, A. M. S. Pereira, O. A. H.. Junior, and M. B. Viana. 2003. Effects of chronic treatment with a water-alcohol extract from *Erythrina mulungu* on anxiety-related responses in rats. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 26:1538–1542.

- Ozawa, M., K. Honda, I. Nakai, A. Kishida, and A. Ohsaki. 2008. Hypaphorine, an indole alkaloid from *Erythrina velutina*, induced sleep on normal mice. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 18(14):3992-3994.
- Paladini, A. C., M. Marder, H. Viola, C. Wolfman, C. Wasowski, and J. H. Medina. 1999. Flavonoids and the central nervous system: from forgotten factors to potent anxiolytic compounds. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 51(5):519-526.
- Pellow, S., P. Chopin, S. E. File, and M. Briley. 1985. Validation of open, closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal Neuroscience Methods* 14:149-167.
- Pérez, A. J., E. M. Hassan, L. Pecio, E. A. Omer, M. Kucinska, M. Murias, and A. Stochmal. 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. C., A. K. Jäger, D. A. Mulholland, and J. Van Staden. 2001. Cyclooxygenase inhibiting and anti-bacterial activities of South African *Erythrina* species. *Journal of Ethnopharmacology* 74(3):231-237.
- Pimenta, F. C. F., N. D. A. Correia, K. L. G. D. Albuquerque, D. P. De Sousa, M. R. D. Da Rosa, M. B. F. Pimenta, M. F. F. Diniz, and R. N. De Almeida. 2012. Naturally occurring anxiolytic substances from aromatic plants of genus *Citrus*. *Journal of Medicinal Plants Research* 6(3):342-347.
- Pino-Rodríguez, S., S. Prieto-González, M. E. Pérez-Rodríguez, y J. Molina-Torres. 2004. Género *Erythrina*: Fuente de metabolitos secundarios con actividad biológica. *Acta Farmacéutica Bonaerense* 23:252-8.
- Pitchaiah, G., G. L. Viswanatha, R. Srinath, K. Nandakumar, D. Dayabaran, and E. J. Florance. 2010. Anxiolytic and anticonvulsant activity of aqueous extract of stem bark

- of *Erythrina variegata* in rodents. International Journal of Pharm Tech Reserch 2(1):40.
- Raman N. 2006. Phytochemical technique. Indian Publishing Agencies, New Dehli. p. 19.
- Raupp, I. M., A. Sereniki, S. Virtuoso, C. Ghislandi, E. C. e Silva, H. A. Trebien, O. G. Miguel, and R. Andreatini. 2008. Anxiolytic-like effect of chronic treatment with *Erythrina velutina* extract in the elevated plus-maze test. Journal of Ethnopharmacology 118(2):295-299.
- Ribeiro, M. D., G. M. Onusic, S. C. Poltronieri, and M. B. Viana. 2006. Effect of *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in rats submitted to animal models of anxiety and depression. Brazilian Journal of Medical and Biological Research 39:263–270.
- Robinson, T. 1979. The evolutionary ecology of alkaloid. In: Herbivores: Their interactions with secondary plant metabolites. G. A. Rosenthal, D. H. Janzen (Eds). Academic Press, New York, USA. pp: 413-448.
- Rodriguez-Mateos, A., C. Heiss, G. Borges, and A. Crozier. 2013. Berry (poly) phenols and cardiovascular health. Journal of Agricultural and Food Chemistry 62(18):3842-3851.
- Rodrigues, F. T. S., C. N. S. de Sousa, N. C. Ximenes, A. B. Almeida, L. M. Cabral, C. F. V. Patrocínio, A. H. Silva, L. K. A. M. Leal, J. E. R. H. Junior, D. Macero, and S. M. M. Vasconcelos. 2017. Effects of standard ethanolic extract from *Erythrina velutina* in acute cerebral ischemia in mice. Biomedicine & Pharmacotherapy 96:1230-1239.
- Rose, N. J. 1899. Plants of Tres Marias Islands. North American Fauna 14:81-82.
- Rukachaisirikul, T., A. Saekee, C. Tharibun, S. Watkuolham, and A. Suksamrarn. 2007a. Biological activities of the chemical constituents of *Erythrina stricta* and *Erythrina subumbrans*. Archives of Pharmacological Research 30(11):1398-1403.
- Rukachaisirikul, T., P. Innok, N. Aroonrerk, W. Boonamnuaylap, S. Limrangsun, C.

- Boonyon, U. Woonjina, and A. Suksamrarn. 2007b. Antibacterial pterocarpanes from *Erythrina subumbrans*. *Journal of Ethnopharmacology* 110(1):171-175.
- Sánchez-Herrera, S., R. M. Soto-Hernández, G. Kite, y M. R. García-Mateos. 2001. Identificación de alcaloides en las inflorescencias de *Erythrina americana* Miller. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 7(1):37-48.
- Santos Rosa, D., S. A. Faggion, A. S. Gavin, M. Anderson de Souza, H .A. Fachim, W. Ferreira dos Santos, A. M. Soares Pereira, A. O. S. Cunha, R. O. and Beleboni. 2012. Erysothrine, an alkaloid extracted from flowers of *Erythrina mulungu* Mart. ex Benth: evaluating its anticonvulsant and anxiolytic potential. *Epilepsy and Behavior* (23):205–212.
- Saidu, K., J. Onah, A. Orisadipe, A. Olusola, C. Wambebe, and K. Gamaniel. 2000. Antiplasmodial, analgesic, and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the stem bark of *Erythrina senegalensis*. *Journal of Ethnopharmacology* 71(1):275-280.
- Sakat, S. S., and A. R. Juvekar. 2010. Comparative study of *Erythrina indica* Lam. (Fabaceae) leaves extracts for antioxidant activity. *Journal of Young Pharmacists* 2(1):63-67.
- Salum, C., S. Morato, and A. C. Roque-da-Silva. 2000. Anxiety-like behavior in rats: a computational model. *Neural Networks* 13:21-29.
- Santos C. A. C., D. M. Monteiro-Carvalho, R. de Souza Nunes, R. Fakhouri, S. A. Rodríguez, and F. Texeira S. 2008. Toxicidade aguda do extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina* em animais experimentais. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 18:739- 743.
- Sato, M., H. Tanaka, R. Yamaguchi, T. Oh-Uchi, and H. Etoh. 2003. *Erythrina poeppigiana*-derived phytochemical exhibiting antimicrobial activity against *Candida albicans* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Letters in Applied Microbiology* 37(1):81-85.

- Sato, M., H. Tanaka, N. Tani, M. Nagayama, and R. Yamaguchi. 2006. Different antibacterial actions of isoflavonas isolated from *Erythrina poeppigiana* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Letters in Applied Microbiology* 43:243-248.
- Sarragiotto, M. H., H. L. Filho, and A. J. Marsaioli. 1981. Erysoitrine-N-oxide and erythartine-N-oxide, two novel alkaloids from *Erythrina mulungu*. *Canadian Journal of Chemistry* 59(18): 2771-2775.
- Serrano, M. A. R., A. N. D. L. Batista, V. D. S. Bolzani, L. D. Á. Santos, P. J. D. C. Nogueira, R. L. Nunes-de-Souza, A. Latif, and M. Arfan. 2011. Anxiolytic-like effects of erythrinian alkaloids from *Erythrina suberosa*. *Química Nova* 34(5):808-811.
- Sotelo, A., M. Soto, B. Lucas, and F. Giral. 1993. Comparative studies of the alkaloidal composition of two Mexican species and nutritive value of the detoxified seeds. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 41:2340-2343.
- Soto-Hernández, M. 1989. Chemical and structural studies of *Erythrina* alkaloids. Ph. D. doctoral Thesis. University of Wales. Cardiff, U. K. pp. 203.
- Soto-Hernández, M., and A. H. Jackson. 1993. Studies of alkaloids in foliage of *Erythrina berteriana* and *E. poeppigiana*: detection of β -erythroidina in goats milk. *Phytochemical Analysis* 4:97-99.
- Soto-Hernandez, M., and Jackson, A. H. 1994. *Erythrina* alkaloids: isolation and characterisation of alkaloids from seven *Erythrina* species. *Planta Medica* 60(02):175-177.
- Soto-Hernández, M. and R. San Miguel-Chávez. 2006. Antifungal activity of alkaloid extract of *Erythrina coralloides* A. DC. against five phytopathogen fungi. *Planta Medica* 72:961-1089.

- Steimer, T. 2011. Animal models of anxiety disorders in rats and mice: some conceptual issues. *Dialogues in Clinical Neuroscience* 13 (4):495.
- Tanaka, H., H. Etoh, H. Shimizu, T. Oh-Uchi, Y. Terada, Y. Tateishi. 2001. Erythrinan alkaloids and isoflavonoids from *Erythrina poeppigiana*. *Planta Medica* 67(09):871-873.
- Tanaka, H., M. Sato, T. Oh-Uchi, R. Yamaguchi, H. Etoh, H. Shimizu, M. Sako, M, and H. Takeuchi. 2004. Antibacterial properties of a new isoflavonoid from *Erythrina poeppigiana* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytomedicine* 11(4): 331-337.
- Teixeira-Silva, F., F. N. Santos, D. F. O. Sarasqueta, M. F. S. Alves, V. A. Neto, I. C. M. de Paula, C. S. Estevam, A. R. Antonioli, and M. Marchioro. 2008. Benzodiazepine-like effects of the alcohol extract from *Erythrina velutina* leaves: memory, anxiety, and epilepsy. *Pharmaceutical Biology* 46(5):321-328.
- Téllez, M. R. 2006. Actividad antimicótica de erisovina en seis especies de hongos fitopatógenos. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Texcoco, México. pp. 112.
- Tjahjandarie, T. S., P. Pudjiastuti, R. D. Saputr, and M. Tanjung. 2014. Antimalarial and antioxidant activity of phenolic compounds isolated from *Erythrina crista-galli* L. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 6(4):786-790.
- Tsuda, Y. and T. Sano. 1996. *Erythrina* and related alkaloids. In the *Alkaloids, Chemistry and Pharmacology*, 48: 249-337. (ed. Cordell G. A.) San Diego, California: Academic Press. A review of the structure elucidation, synthesis, and biosynthesis of *Erythrina* alkaloids.
- Vasconcelos, S. M., N. M. Lima, G. T. Sales, G. M. Cunha, L. M. Aguiar, E. R. Silveira, A.

- C. P. Rodrigues, D. S. Macedo, M. M. F. Fonteles, F. C. F. Sousa, and G. S. B. Viana. 2007. Anticonvulsant activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu*. *Journal of Ethnopharmacology* 110(2):271-274.
- Viana, M.D.B., Tomaz, C., Graeff, F.G., 1994. The elevated T-maze: a new animal model of anxiety and memory. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 49(3):549-554.
- Villaseñor, J. L. 2016. Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 87(3):559-902.
- Viola, H., C. Wasowski, M. Levi de Stein, C. Wolfman, R. Silveira, F. Dajas, J. H. Medina, and A. C. Paladini. 1995. Apigenin, a component of *Matricaria recutita* flowers, is a central benzodiazepine receptors-ligand with anxiolytic effects. *Planta Medica* 61:213–216.
- Wagner, H., S. Bladt, and E. Zgainski. 1984. *Plant drug analysis* (Translated by A. Scott). Springer Verlag, Berlin Heidelberg.
- Wang, F., Y. Huen, S. Michael, S. Y. Tsang, and H. Xue. 2005. Neuroactive flavonoids interacting with GABAA receptor complex. *Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders* 4(5):575-585.
- Wink, M. 1999. Plant secondary metabolites from higher plants: biochemistry, function and biotechnology. In *Biochemistry of plant secondary metabolism*. Annual Plant Reviews Academic, Sheffield, 2:1-16.
- Yaya, A. J. G., R. D. Feumba, T. Emmanuel, A. T. Tchinda, M. Frederich, J. Oben, and J. T. Mbafor. 2014. Antioxidant activity of compounds isolated from the root woods of *Erythrina droogmansiana*. *International of Journal Pharmaceutical Sciences and Drug Research* 6(2):160-163.
- Yenesew, A., M. Induli, S. Derese, J. O. Midiwo, M. Heydenreich, M. G. Peter, H. Akala, J.

- Wangui, P. Liyala, and N. C. Waters. 2004. Anti-plasmodial flavonoids from the stem bark of *Erythrina abyssinica*. *Phytochemistry* 65(22):3029-3032.
- Yenesew, A., S. Derese, J. O. Midiwo, C. C. Bii, M. Heydenreich, and M. G. Peter. 2005. Antimicrobial flavonoids from the stem bark of *Erythrina burttii*. *Fitoterapia* 76(5):469-472.
- Yenesew, A., H. M. Akala, H. Twinomuhwezi, C. Chepkirui, B. N. Irungu, F. L. Eyase, M. Kamatenesi-Mugisha, B. T. Kiremire, J. D. Johnson, and N. C. Waters. 2012. The antiplasmodial and radical scavenging activities of flavonoids of *Erythrina burttii*. *Acta Tropica* 123(2):123-127.
- Zampini, I. C., N. Cudmani, and M. I. Isla. 2007. Actividad antimicrobiana de plantas medicinales argentinas sobre bacterias antibiótico-resistentes. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 41(3):385-393.
- Zarev, Y., K. Foubert, V. L. de Almeida, R. Anthonissen, E. Elgorashi, S. Apers, I. Ionkova, L. Vershchaeve, and L. Pieters. 2017. Antigenotoxic prenylated flavonoids from stem bark of *Erythrina latissima*. *Phytochemistry* 141:140-146.
- Zhang, Y., X. L. Li, W. P. Lai, B. Chen, H. K. Chow, C. F. Wu, N. L. Wang, X. S. Yao, and M. S. Wong. 2007. Anti-osteoporotic effect of *Erythrina variegata* L. in ovariectomized rats. *Journal of Ethnopharmacology* 109(1):165-169.
- Zhang, Z. 2004. Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders. *Life Sciences* 75:1659-1699.

11. ANEXOS ANEXO A

	COLEGIO DE POSTGRADUADOS Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas Campeche-Córdoba-Montecillo-Puebla-San Luis Potosí-Tabasco-Veracruz Posgrado en Botánica Herbario-Hortorio CHAPA	
---	---	---


Montecillo, Municipio de Texcoco, Estado de México a 29 de mayo del 2018

BIOL. IVÁN DANIEL SALAS MÉNDEZ
ALUMNO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS
POSGRADO EN BOTÁNICA
COLEGIO DE POSTGRADUADOS

PRESENTE

El Herbario-Hortorio CHAPA del Posgrado en Botánica del Colegio de Postgraduados extiende un cordial agradecimiento a usted y a su profesor de tesis por la donación de una recolecta botánica de *Erythrina lanata* Rose, en buen estado y con etiqueta de herbario número 251 del Estado de Veracruz, Municipio de Chicontepec de Tejeda, la cual forma parte de su trabajo de investigación de Tesis de Maestría en Ciencias. Este material será parte de la Colección General del Herbario y estamos seguros que incrementará el acervo científico de la colección así como también contribuirá en el conocimiento y divulgación de ésta especie.

ATENTAMENTE

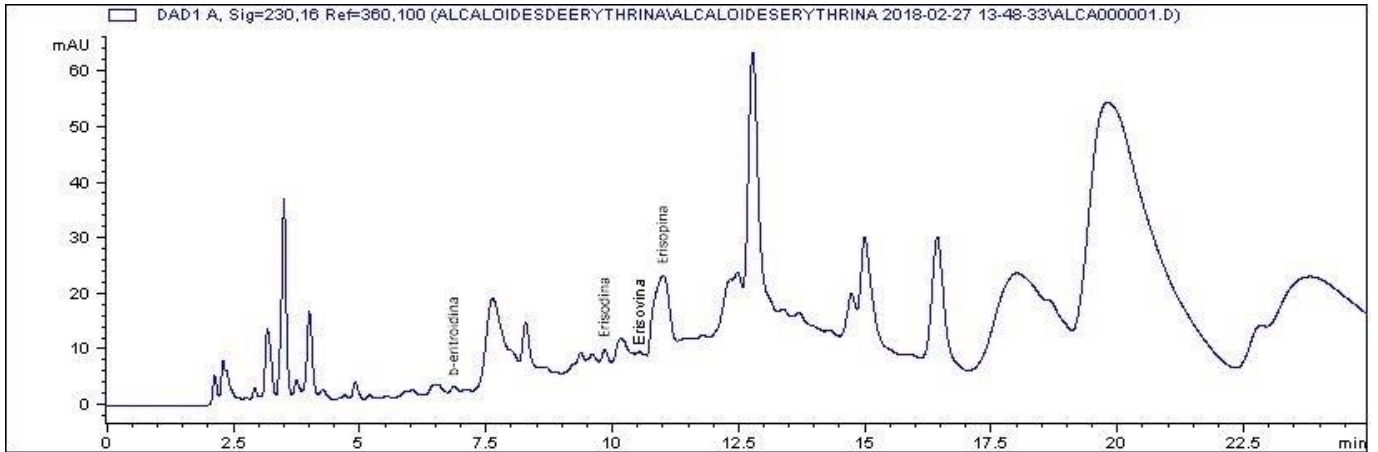


DRA. HEIKE VIBRANS LINDEMANN
PROFESORA INVESTIGADORA TITULAR
CURADORA DEL HERBARIO-HORTORIO CHAPA
ÁREA DE TAXONOMÍA VEGETAL

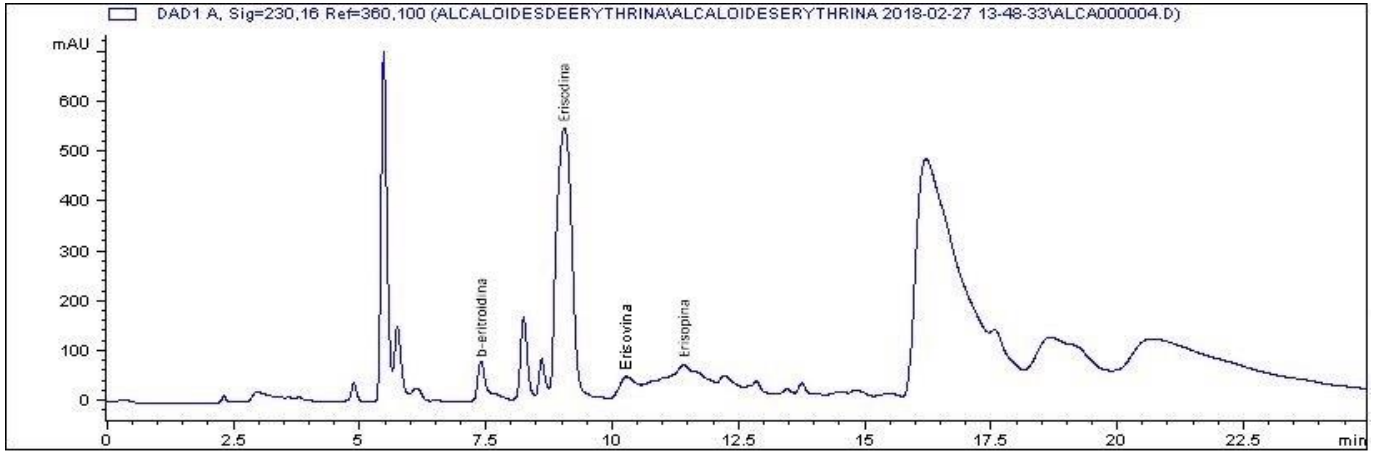
Dirección postal (Mailing address) Herbario-Hortorio CHAPA. Posgrado en Botánica, Colegio de Postgraduados.
Apartado Postal 63. C.P. 52227, Texcoco, Estado de México, México. Correo electrónico: chapa@colpos.mx
Teléfono y Fax. D.F. 5804 5947 ó 01 (595) 952 0247, Conmutador 01 (595) 952 0200, Exts. 1322, 1335 ó 1300.

Respaldo de ejemplar botánico en el Herbario-Hortorio CHAPA del Colegio de Postgraduados,
campus Montecillos.

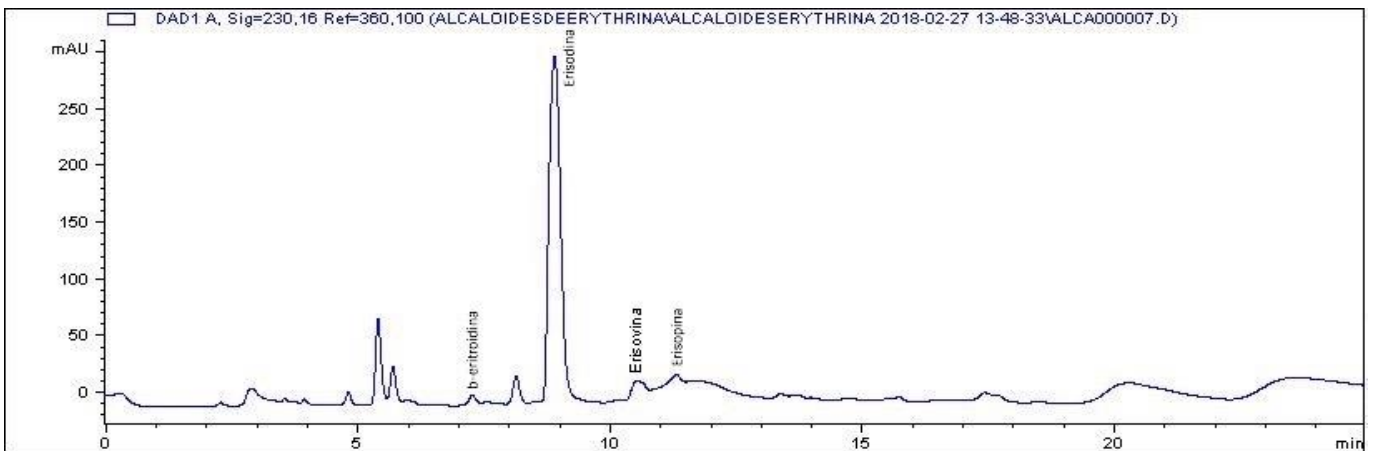
ANEXO B



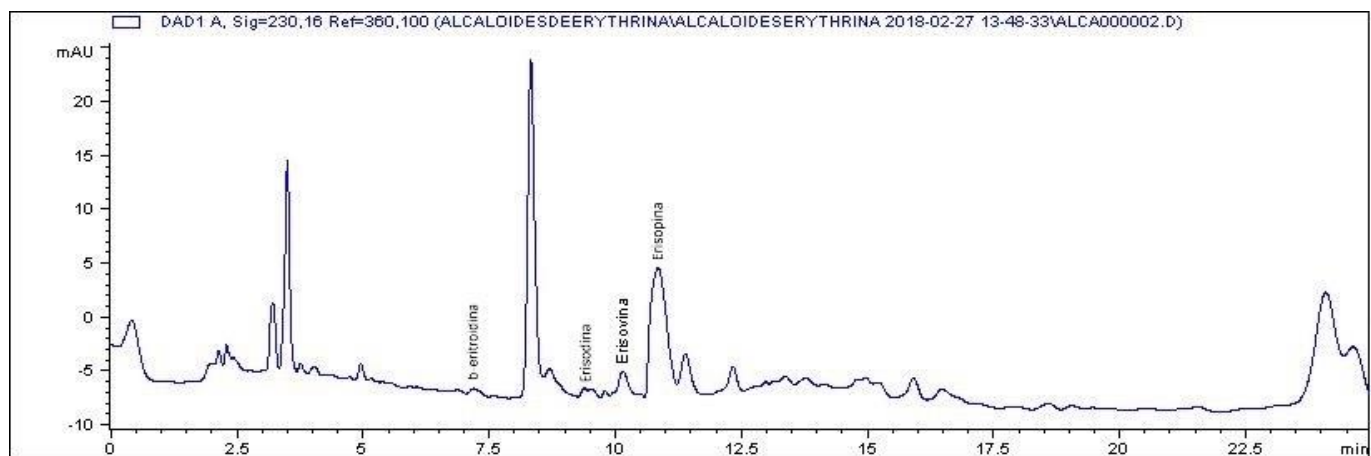
Cromatograma de la fracción de alcaloides de semilla libres en hexano



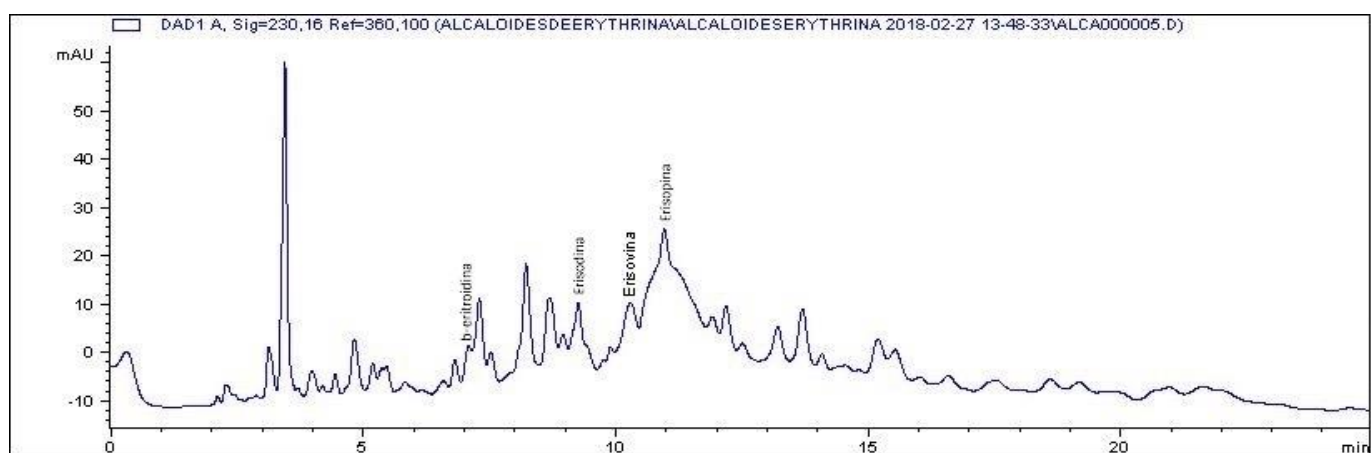
Cromatograma de la fracción de alcaloides de semilla libres en metanol



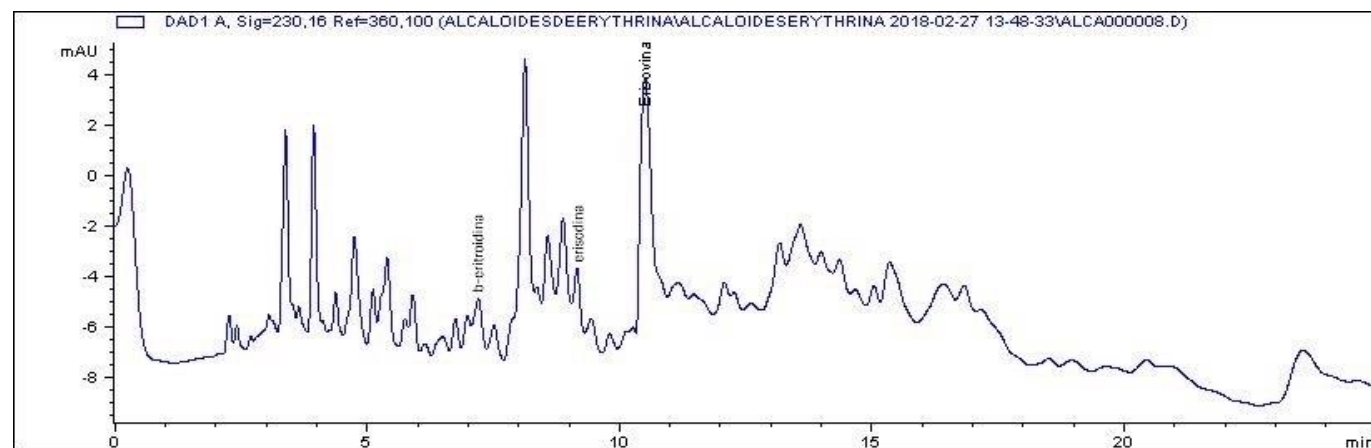
Cromatograma de la fracción de alcaloides de semilla liberados en metanol



Cromatograma de la fracción de alcaloides de corteza libres en hexano



Cromatograma de la fracción de alcaloides de corteza libres en metanol



Cromatograma de la fracción de alcaloides de corteza liberados en metanol