

00570
20



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO QUIMICO DE *Aristolochia littoralis*
(Parodi)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE :

MAESTRIA EN CIENCIAS QUIMICAS

FARMACIA (QUIMICA FARMACEUTICA)

P R E S E N T A :

DANIEL R. CAMACHO URIBE



MEXICO, D. F.

1990

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE GENERAL

	Página
Indice de Tablas -----	iv
Indice de Ilustraciones -----	vi
Indice de Espectros -----	viii
Indice de Esquemas -----	ix
Introducción -----	1
Capítulo 1: Botánica y etnobotánica -----	4
Capítulo 2: Aspectos fitoquímicos -----	15
Biosíntesis. Alcaloides presentes en el género	
<u>Aristolochia</u> -----	16
Alcaloides Bencilisoquinolínicos -----	20
Alcaloides Bisbenciltetrahidroisoqui-	
nolínicos -----	20
Alcaloides aporfínicos, dioxoaporfí-	
nicos y fenantrénicos -----	28
Acidos aristolóquicos -----	33
Aristolactamas -----	41
Actividad farmacológica de plantas del género	
<u>Aristolochia</u> -----	48

Capítulo 3

Parte Experimental

Métodos y materiales -----	54
Material vegetal -----	54
Análisis cromatográficos -----	54
Determinación de alcaloides -----	54
Obtención del crudo alcaloideo -----	57
Cristalización de alcaloides -----	57
Separación de alcaloides -----	59
Aislamiento y purificación de alcaloides -	59
Aislamiento y purificación del alcaloide Ib -----	62
Aislamiento y purificación del alcaloide Ia -----	63
Formación de derivados -----	63
Formación de clorhidrato del alcaloide Ia-	64
Formación de trifluoroacetato de alcaloide Ib -----	64
Formación de reinekato del alcaloide Ib --	64
Aislamiento y purificación del ácido aristolóquico -----	65
Caracterización de los compuestos aislados ----	65
Resultados y discusión -----	66
Identificación del alcaloide Ib -----	66

	Página
Análisis del espectro ¹ H RMN -----	78
Alcaloide Ia -----	80
Identificación del ácido aristolóquico -----	83
Conclusiones -----	85
Espectros -----	92
Apéndice I: Contenido químico de las plantas del género Aristolochia -----	102
Apéndice 2: Actividad farmacológica de los ácidos aristolóquicos -----	110
Bibliografía -----	112
Adendum -----	136

INDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1 Usos más importantes de las plantas del género <i>Aristolochia</i> en México -----	10
2 Otros usos del género <i>Aristolochia</i> en México -----	11
3 Distribución geográfica del género <i>Aristolochia</i> en México -----	14
4 Acido Aristolochico y sus derivados -----	34
5 Desplazamientos protónicos en RMN de algunos Acidos Aristolóquicos -----	38
6 Desplazamientos más frecuentes y extremos de los protones no sustituidos en ácidos aristolóquicos -----	39
7 Señales espectroscópicas de ácidos aristolóquicos -----	40
8 Aristolactamas y sus derivados -----	42

Tabla

9	Desplazamientos protónicos de RMN de algunas aristolactamas -----	44
10	Desplazamientos más frecuentes y extremos de los protones no sustituidos en aristolactamas -----	45
11	Señales espectroscópicas de algunas Aristolactamas -----	46
12	Señales espectroscópicas de aristolactamas -	47
13	Sistemas cromatográficos -----	55
14	Alcaloides presentes en las bandas -----	61
15	Constantes físicas del alcaloide Ib -----	67
16	Constantes físicas del alcaloide Ia -----	82
17	Constantes físicas del ácido aristolóquico -	93

INDICE DE ILUSTRACIONES

	Página
FIGURA	
1 Biosíntesis de los alcaloides del género Aristolochia -----	18
2 Ejemplos de BBI y su nomenclatura -----	22
3 Influencia de los sustituyentes de los di- arileteres en el patrón de ruptura -----	25
4 Determinación de la estructura de la picna- mina utilizando la degradación reductiva metalo-amoniacal -----	26
6 Posible ruta biosintética de una BBI -----	28
7 Magnoflorina -----	29
8 Determinación de la estructura de una apor- fina -----	30
9 Dioxoaporfinas presentes en el género Aristolochia -----	32
10 Alcaloide aporfinico -----	32
11 Fragmentos m/z 206 y m/z 192 -----	70

Página

FIGURA

12	Tipos de alcaloides Bisbencilisoquinolínicos -----	71
13	Posibilidades de sustitución en alcaloides BBI -----	72
14	Constantes de p _K base en el espectro de masas en alcaloides BBI -----	73
15	Estudio de RMN en alcaloides bencilisoquinolínicos -----	74
16	Señales de metoxilos de BBI en RMN ¹ H -----	75
17	Alcaloide Ib (90) -----	79

INDICE DE ESPECTROS

Espectro		Página
1	UV del alcaloide Ib -----	92
2	IR del alcaloide Ib -----	93
3	RMN del alcaloide Ib -----	94
4	EM del alcaloide Ib -----	95
5	IR del alcaloide Ia -----	96
6	EM del alcaloide Ia -----	97
7	RMN del alcaloide Ia -----	98
8	UV del ácido aristolóquico -----	99
9	IR del ácido aristolóquico -----	100
10	RMN del ácido aristolóquico -----	101

INDICE DE ESQUEMAS

	Página
1. Alcaloides: extracción preliminar -----	56
2. Esquema general de extracción -----	58
3. Esquema de separación de alcaloides -----	60

I N T R O D U C C I O N

La familia Aristolochiaceae esta formada por más de 400 especies de plantas distribuidas en tres géneros, Azarum, Bragantia y Aristolochia. El género Aristolochia comprende más de 300 especies que pueblan las zonas tropicales y subtropicales de todo el mundo. En México este género esta presente en la rica flora que vegeta en todo el país.

Esta familia vegetal ha formado parte del conocimiento herbolario de todo el mundo desde tiempos inmemorables y ha sido usada para controlar los más variados padecimientos, al parecer con buenos resultados.

El género Aristolochia es uno de los más estudiados desde el punto de vista fitoquímico y con resultados farmacológicos prometedores. Gracias a estos estudios y a la información popular de todo el mundo y principalmente de México, es que iniciamos el estudio sistemático de las plantas de este género con especies mexicanas.

Este trabajo esta constituido por una revisión bibliográfica exhaustiva en lo que respecta al contenido químico, propiedades espectroscópicas y efectos farmacológicos de las sustancias más importantes aisladas de estas plantas, y por los resultados del estudio químico experimental de la especie Aristolochia littoralis enfocado a los metabolitos secundarios nitrogenados.

Objetivos:

El estudio químico de las aristolochias mexicanas ha sido muy limitado hasta hoy. En consecuencia, la investigación fitoquímica del metabolismo secundario de esta familia representa un punto de partida para el desarrollo de proyectos de investigación que contribuyan al conocimiento de la composición química de la flora mexicana.

Así, el propósito principal de este trabajo fué la realización del estudio fitoquímico para aislar los metabolitos secundarios nitrogenados tales que justifiquen los usos que hasta la fecha se hacen en estas plantas en medicina herbolaria.

Metas:

- 1) Comprender los metabolitos secundarios caracterizados para esta familia en cada una de las especies estudiadas mediante el análisis de la revisión bibliográfica exhaustiva.
- 2) Deducir el patrón de compartamiento espectroscópico de los principales alcaloides reportados para este género.
- 3) Efectuar las operaciones fitoquímicas preliminares relacionadas con la obtención del extracto etanólico a partir de las partes aéreas de Aristolochia littoralis.
- 4) Efectuar la partición ácido-base a partir del extracto etanólico.

- 5) Separar y purificar mediante cromatografía en columna y capa fina preparativa, los compuestos obtenidos de la partición ácido-base.
- 6) Establecer la estructura de los metabolitos purificados, mediante la aplicación de análisis espectroscópicos.

CAPITULO 1

BOTANICA Y ETNOBOTANICA

Taxonomía. El género Aristolochia forma parte de una familia de dicotiledoneas-monoclamideas que comprende a plantas vivaces herbáceas pubescentes o trepadoras con hojas alternas simples, de base cordada y ovadas, triangulares subiculares o trilobulares; las flores pueden ser tubulosas, deltoideo-cordadas con largo pedúnculo o muy pequeñas como es el caso de A. longipes y A. laxiflora y se pueden presentar solitarias y axilares o en racimos como en A. maxima. Las flores no poseen pétalos. Son hermafroditas de tamaños variables y con hasta 12 estambres libres o unidos a un estilo que domina un ovario inferior con numerosos óvulos. Los frutos son capsulados u ovado-oblongos. Las raíces son de sabor amargo y aromático, y presentan células secretoras llenas de aceite (Munavalli, 1969, p. 449, Bailey, 1980).

Los estudios morfológicos acerca de las flores, la estructura de los granos y la presencia de células secretoras en las raíces hacen emparentar a las aristoloquiáceas con las pilocarpáceas y las anonáceas; a más de las consideraciones quimiotaxonómicas referente a la presencia de los ácidos aristolóquicos y sus derivados láctámicos que son

tomados como marcadores taxonómicos* (Das, 1966; Munavalli, 1969, p. 450).

Distribución. El género Aristolochia esta formado por más de 300 especies de plantas distribuidas ampliamente en zonas tropicales y subtropicales de todo el mundo (Pfeifer, 1966) de las cuales se han estudiado fitoquímica y/o farmacológicamente al menos 50 especies (ver Apéndice I) con usos medicinales muy extendidos. Aunque las especies más estudiadas han sido A. argentina y A. indica.

De las especies de aristoloquia de México, 39 están reportadas con usos en medicina tradicional tales como el tratamiento de vaginitis, acariasis y disenteria, cálculos biliares, tumores y abscesos, infecciones, mordedura de serpiente y picadura de alacrán, etc. (Díaz, 1976).

Desde el punto de vista botánico, se pueden dividir, estas plantas, en plantas con flores de más de 6 estambres y con menos de 6 estambres, las cuales son nativas de México. Se han descrito 15 especies de aristolochias con 6 estambres y se piensa que hay otras 18 especies con más de 6 (González, 1988).

*Se ha reportado la presencia de ácidos aristolóquicos y/o aristolactamas en las siguientes familias:

Anonaceae: 2 especies (Mahmood, 1986).

Aristolochiaceae: 40 especies de Aristolochia (ver Apéndice 2)

1 especie de Asarum (Munavalli, 1982, p. 452)

1 especie de Bragantia (Munavalli, 1982, p. 454)

Menispermaceae: 1 especie (Mix, 1982)

Monimiaceae: 1 especie (Mix, 1982).

Etnobotánica. Las primeras noticias del uso medicinal de las aristoloquias se remonta al S.IV-III a.C. con Teofrasto y posteriormente con Dioscórides Plinio y Celso en el siglo I d.C. y después con Galeno en el siglo II d.C. (Carboni, 1966; Font Quer, 1980; Hernández, 1960 Libro XVII).

En el libro III Capítulo 4, Dioscórides trata de las aristoloquias: "La aristoloquia se llamó así por parecer que a las mujeres socorría en el parto. Hay tres diferentes: la redonda, la lengua y la clematitis. La redonda tiene virtud contra todas las ponzoñas; la lengua resiste el daño de la serpiente y cualquier veneno mortífero si se bebe con vino; bebida con pimienta y mirra expela el menstruo, los pares y la criatura del vientre y lo mismo hace metida en la naturaleza de la mujer. La redonda tiene la misma fuerza y bebida con agua es muy útil al asma, al sollipo, a los temblores paroxismales, al bazo crecido, a las rupturas y espasmos de nervios y al dolor de costado; purifica las llagas sucias, limpia las encías y los dientes" (Font Quer, 1980).

La etimología griega del término (que podría ser aristo-tokeia, que da a luz los mejores hijos; que a su vez proviene de aristos óptimo, excelente y tokos prole criatura o descen-

dencia (Balagué, 1953), tiene que ver con uno de sus principales usos que es favorecer el parto y contribuir a la expulsión de la placenta como lo deja ver Dioscórides en el párrafo anterior.

El uso como remedio medicamentoso está extendido por todo el mundo desde épocas muy antiguas. La raíz de A. clematitis es usada como emenagoga, tónica, expectorante, uterocinética y antiespasmódica; A. euristoma es usada en Isla de Guadalupe como purgante drástico; A. longa y A. rotunda son usadas en Europa meridional como tónicas y emenagogas; A. serpentaria es usada en América septentrional como sudorífica, febrífuga y antiespasmódica (Munavalli, 1969, p. 460). A. indica es usada en India como emenagoga, abortiva y contra la fiebre (Maheshwari, 1987). A. tuberosa se usa en el Sur de China para aliviar la garganta llagada y contra el veneno de serpientes; finalmente, de todo el mundo hay informes de que las aristoloquias se usan ampliamente para contrarrestar la mordedura de serpientes venenosas y piquetes de insectos y alacranes, tal es el caso de A. indica, A. pandurata, A. maxima y A. rigens (Munavalli, 1969, p. 462).

Por su parte, Francisco Hernández, protomédico de Felipe II, en su historia natural de la Nueva España, hace un registro del Tlacopatli malinansense: "Hecha raíz fibrosa y de ella tallos delgados, nudosos, torcidos y volubles con hojas de corazón o escudo pero pequ

ñas y fruto oblongo del tamaño casi de avellanas. Es caliente en tercer grado, amargo, oloroso y de propiedades tónicas y de sabor acre. La raíz cura la sordera y hecha polvo y mezclada con resina, quita el frío y los dolores que provienen de él; resuelve los tumores y aclara la vista; conformadas en bolitas que se atan al cuello alivia las fluxiones; aleja los fríos de fiebres intermitentes y cura los puntos de las mismas evacuando o resolviendo los tumores; mezclada con resina fortalece y sana los huesos rotos; cura la sordera; alivia las enfermedades de los ojos y es en general alivio de todas las enfermedades frías. Nace en Malinalco, Houitzoco y otros lugares de clima semejante como Teleoloapa donde dicen que la raíz comida en cantidades de una dracma evacúa eficazmente todos los humores pero sobre todo la atrabilis (ver adencum Pág. 136) y cura así a los enfermos del bazo lo cual comprobamos nosotros mismos por experiencia. Parece pertenecer a las especies de *Aristolochia longa*. (Hernández, 1959).

Cabe señalar que A. longa esta siendo estudiada actualmente por un grupo de investigadores españoles quienes ya han reportado la presencia del ácido aristolóquico en esta especie (De Pascual, 1983), por lo que tendría que validarse

la taxonomía de A. malinansense de la que deja constancia Hernández en el Siglo XVI, ya que la actividad antitumoral de estas plantas, aparentemente, esta ligada al ácido aris-tolóquico (Maier, 1985; Moretti, 1979).

El nombre nahua tlacopatli de las aristoloquias proviene de dos palabras: tlacotl vara y pathli medicina y describe, como es el caso de muchos nombres nahuas de plantas medicinales, la forma de la planta: medicina de vara (bejucos) (Garibay, 1972).

Es notorio que el tlacopatli no aparezca como remedio para el momento del parto en la obra de Hernández (1959), y más aún, que en el código De la Cruz-Badiano 1972 y en la obra de Sahagun (1983) ni siquiera aparezcan registradas estas plantas como remedio medicamentoso, a menos que tengan otro nombre. Su uso como uterocinético esta reportado hasta este siglo en los Anales del Instituto Médico Nacional según lo recaba Díaz (1976).

De las 39 especies mexicanas registradas con uso medicinal en el tomo I de IMEPLAM (Díaz, 1976) sólo 15 tienen usos tipificados en el tomo II de la misma colección (Díaz, 1976, ver Tablas 1 y 2).

La Tabla 1 presenta las propiedades antibióticas y antiprotozoicas de estas plantas como primer grupo de actividades biológicas; tal es el caso de la curación de la blenorragia, sífilis, diarrea, disentería, vaginitis, oftalmia purulenta, cólera y su uso como antiséptico. Estas

TABLA 1

USOS MAS IMPORTANTES DE LAS PLANTAS DEL GENERO ARISTOLOCHIA EN MEXICO (DIAZ, 1976)

USOS	ESPECIES
Antiblenorrágico	<u>A. foetida</u> , <u>A. fragantissima</u> , <u>A. grandiflora</u> , <u>A. microphylla</u> , <u>A. odoratissima</u>
Antisifilítico	<u>A. mexicana</u> , <u>A. odoratissima</u>
Antidisentérico	<u>A. foetida</u> , <u>A. fragantissima</u> , <u>A. grandiflora</u> , <u>A. microphylla</u> , <u>A. udeana</u>
Antidiarréico	<u>A. foetida</u> , <u>A. microphylla</u> , <u>A. udeana</u>
Antiséptico	<u>A. foetida</u> , <u>A. fragantissima</u> , <u>A. microphylla</u>
Anticólera	<u>A. foetida</u>
Contra oftalmia purulenta	<u>A. fragantissima</u> , <u>A. grandiflora</u>
Contra vaginitis	<u>A. fragantissima</u> , <u>A. grandiflora</u> , <u>A. odoratissima</u>
Antiponzoñoso	<u>A. fragantissima</u> , <u>A. mexicana</u> , <u>A. odoratissima</u> , <u>A. subclausa</u> , <u>A. grandiflora</u>
Anticrotálico	<u>A. mexicana</u> , <u>A. pilosa</u>
Emenagogo	<u>A. fragantissima</u> , <u>A. grandiflora</u> , <u>A. mexicana</u> , <u>A. macrantha</u> , <u>A. pentandra</u>
Para controlar las metrorragias	<u>A. foetida</u> , <u>A. microphylla</u> , <u>A. udeana</u>
Para controlar flujos	<u>A. grandiflora</u>
Antitumoral	<u>A. grandiflora</u> , <u>A. odoratissima</u>

TABLA 2

OTROS USOS DE LAS PLANTAS DEL GENERO ARISTOLOCHIA EN MEXICO (DIAZ, 1976)

USOS	ESPECIES
Antipirético	<u>A. grandiflora</u> , <u>A. odoratissima</u> , <u>A. pentandra</u>
Antiespasmódico	<u>A. fragantissima</u> , <u>A. grandiflora</u> , <u>A. mexicana</u> , <u>A. odoratissima</u> , <u>A. subclausa</u>
Antirreumático	<u>A. fragantissima</u> , <u>A. grandiflora</u> , <u>A. pentandra</u>
Astringente	<u>A. fragantissima</u> , <u>A. grandiflora</u> , <u>A. odoratissima</u> , <u>A. udeana</u>
Diaforético	<u>A. fragantissima</u> , <u>A. mexicana</u> , <u>A. odoratissima</u>
Estimulante	<u>A. grandiflora</u> , <u>A. longa</u> , <u>A. mexicana</u> , <u>A. odoratissima</u> , <u>A. rotunda</u> , <u>A. subclausa</u> *
Tónico	<u>A. grandiflora</u> , <u>A. odoratissima</u> , <u>A. pentandra</u> , <u>A. serpentaria</u>
Analgésico	<u>A. fragantissima</u> , <u>A. grandiflora</u>
Eupéptico	<u>A. grandiflora</u> , <u>A. odoratissima</u>
Carminativo	<u>A. grandiflora</u> , <u>A. mexicana</u>
para disolver cálculos de la vesícula	<u>A. grandiflora</u>
Para disolver cálculos renales	<u>A. grandiflora</u>

*El uso de A. subclausa como estimulante fué estudiado clínicamente con resultados positivos en más de 5 sujetos. (Díaz, 1976).

actividades tendrían que discutirse a la luz de los resultados de estudios farmacológicos experimentales reportados principalmente en los laboratorios de China, India y E.U. basados en la actividad del ácido aristolóquico, principal compuesto encontrado en esta familia.

Un segundo gran grupo de actividades, por su importancia, es la propiedad alexitere* que concuerda con uno de los usos más extendidos de estas plantas en todo el mundo, como ya quedó establecido.

El tercer grupo de actividades biológicas de estas plantas es el uterocinético. Tal es el caso de su efecto emenagogo y su capacidad de controlar metrorragias y flujos.

Una última actividad importante de estas plantas es la antitumoral principalmente mencionada en los casos de A. grandiflora y A. odoratissima de la que hablaremos más adelante en el capítulo destinado a la farmacología de la familia.

La Tabla 3 presenta la distribución geográfica que Maximino Martínez (1979) describió para algunas aristoloquias. Es evidente que su localización está en lo que llamamos "tierra caliente" (principalmente litorales y selvas tropicales) donde es frecuente que se presenten envenenamientos y casos de muerte por mordeduras de serpientes y alacranes.

*alexitere: contra venenos.

En general la parte de la planta usada es, principalmente, la raíz y en segundo lugar el tallo, lo que concuerda con los informes publicados sobre el contenido químico de las plantas de esta familia (Achari, 1982).

TABLA 3

DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE ALGUNAS ESPECIES DEL GENERO ARISTOLOCHIA EN MEXICO (MARTINEZ, 1979)

<u>ESPECIE</u>	<u>ENTIDAD FEDERATIVA</u>
<u>A. foetida</u>	Guerrero, Guanajuato, Jalisco, Edo. de México
<u>A. fragantissima</u>	Yucatán
<u>A. grandiflora</u>	Yucatán, Veracruz, Tabasco, Chiapas
<u>A. mexicana</u>	Yucatán, Morales, Guerrero
<u>A. odoratissima</u>	Colima, Tabasco, Veracruz, Chiapas
<u>A. pentandra</u>	Yucatán
<u>A. serpentaria</u>	Nayarit
<u>A. subclausa</u>	Guerrero, Colima

CAPITULO 2

ASPECTOS FITOQUIMICOS

Los metabolitos secundarios más importantes de esta familia de plantas son derivados de la bencilisquinolina: alcaloides bisbencilisquinolínicos (BBI), aporfínicos, fenantrénicos, ácidos aristolóquicos y aristolactamas.

Están presentes otros grupos de compuestos como son: terpenoides, esteroides, lignanos, naftoquinonas, lactonas sesquiterpénicas, etc.

El ácido aristolóquico y sus derivados han demostrado ser eficaces anticancerígenos por lo que la investigación en torno a esta familia de plantas se ha centrado en este aspecto y ha dejado como algo secundario la investigación de otros metabolitos.

El apéndice 1 muestra el contenido químico de las plantas de este género en cada especie estudiada en todo el mundo.

En este capítulo se revisará la posible ruta biosintética que siguen estas plantas para producir los diversos tipo de alcaloides que se encuentran en ellas. Se revisa también la química, espectroscopía y farmacología de cada uno de ellos.

BIOSINTESIS. ALCALOIDES PRESENTES EN EL GENERO ARISTOLOCHIA.

Gracias a experimentos realizados por varios autores sobre diferentes especies y utilizando distintos precursores, se puede determinar que existe una misma ruta metabólica en la biosíntesis de todos los alcaloides acumulados por estas plantas.

Así, se ha establecido (Dewan, 1977) que el alcaloide isoquinolínico nor-laudanosolina (6) de la Fig. 1) es precursor de gran número de alcaloides 1-bencilisoquinolínicos como la reticulina, la nororientalina (7) la orientalina (8) y de alcaloides aporfínicos como estefanina (12). La norlaudanosolina se forma por la condensación de dopamina (3) y ácido 3,4-dihidroxifenilpirúvico (4). Esto fue demostrado en experimentos en los que se usaron tirosina (1) dopa (2) y dopamina (3) como precursores marcados (Leete, 1962) (ver pie de Fig. 1). En estos experimentos quedó demostrado que el fragmento "fenetilamina" de los alcaloides 1-bencilisoquinolínicos como la norlaudanosolina (6) proviene casi exclusivamente de la dopa.

Batersby y colaboradores (1972) demostraron la incorporación de norlaudanosolina (6) y orientalina (8) en la biosíntesis de alcaloides aporfínicos como prestefanina (11) y estefanina (12). Mientras que Barton y colaboradores (1967), habían propuesto previamente la secuencia biosintética de las aporfinas mediante una dienona (9)

que fue aislada.

Comer (1968) y colaboradores realizaron una serie de experimentos con precursores específicamente marcados, demostrando la incorporación de tirosina, dopa y dopamina en la biosíntesis de ácido aristolóquico. En esta serie de experimentos realizados a A. siphon, quedó también demostrado que el nitrógeno del grupo nitro proviene del radical amino de la tirosina la cual fue suministrada con nitrógeno marcado.

Posteriormente Sharma (1982) y colaboradores corroboraron lo anterior y demostraron que la (+) nororientalina (7) y (-) orientalina (8) marcados con tritio en las posiciones 5' y 8 son estereoespecífica y eficientemente incorporados al ácido aristolóquico (13). Asimismo demostraron que la prestefanina (11) y la estefanina (12) uniformemente marcados en los anillos bencílicos también son eficientemente incorporados en el ácido aristolóquico usando A. bracteata.

Los resultados obtenidos por Sharma (1982) confirman que el acoplamiento oxidativo de orientalina (8) produce prestefanina (11) (Battersby, 1971). Por otro lado, los resultados del experimento en que se suministró nororientalina (7) marcada específicamente con tritio en 5' y 8 y con carbono catorce en el metoxilo de la posición 6, demuestran que el grupo metilendioxi se origina a partir de un precursor como el 7 que contiene en la posición isoquinolínica los grupos metoxi e hidroxilo en posición orto.

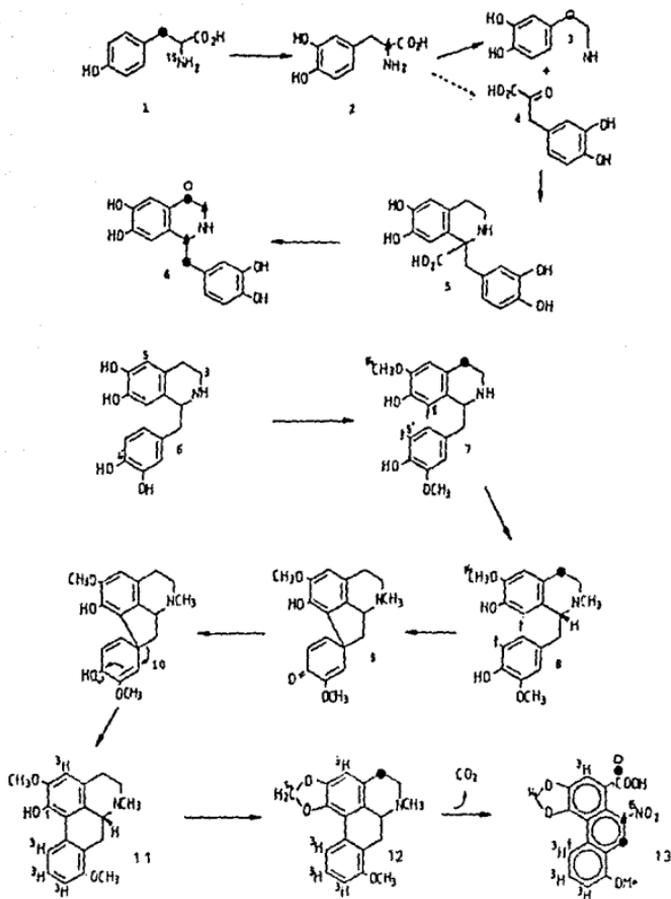


Fig. 1 Biosíntesis de los alcaloides del género *Aristolochia*.

● ^{14}C = carbono 14

○ ^{15}N = nitrógeno 15

| ^3H = tritio

Cada símbolo indica un experimento diferente que se puede seguir a lo largo de toda la ruta, con marcadores radioactivos.

Finalmente estos investigadores concluyeron que la presencia de nororientalina (7) orientalina (8) y estefanina (12) radioactivos, obtenidos a partir de tirosina marcada en la posición 3 con carbono catorce en A. bracteata demuestran la secuencia propuesta en el esquema.

Podemos inferir facilmente que los alcaloides bis-bencilisoquinolínicos provienen de un acoplamiento oxidativo de dos unidades de bencilisoquinolina como lo estableceremos en el apartado correspondiente.

ALCALOIDES BENCILISOQUINOLINICOS.

Los alcaloides de este tipo tienen como base estructural una bencilisoquinolina. Algunos derivados de la bencilisoquinolina se encuentran formando parte del contenido químico de las plantas del género Aristolochia, estos son: alcaloides bisbencilisoquinolínicos (BBI), aporfínicos, fenantrénicos y ácidos aristolóquicos todos los cuales revisaremos en este orden.

Alcaloides Bisbenciltetrahidroisoquinolínicos. (BBI).

Los BBI son alcaloides diméricos cuya unidad básica es la benciltetrahidroisoquinolina. La presencia de este tipo de alcaloides parece ser muy rara en la familia Aristolochiaceae ya que sólo se han reportado la curina (Fig. 2) en A. indica (Govindachari, 1967), un derivado de la cuspidalina, la (-)-R,R-O-Metilcuspidalina en A. elegans (El-Sebakhy, 1984) y la tetrandrina en A. debilis (Ruecker, 1985).

Guha y Mukherjee (1979) efectuaron una revisión exhaustiva de esta familia de alcaloides sistematizando su estudio y clasificando los 170 alcaloides cuya estructura se conocía hasta entonces.

Dependiendo del tipo de unión entre las dos unidades del dímero puede haber 5 grupos diferentes, los cuales subagrupan a 27 tipos según los siguientes parámetros:

a) el número de sustituyentes oxigenados aromáticos, b) la naturaleza de las uniones éter y c) el sitio desde el que parte la unión en cada unidad del dímero. De esta manera los alcaloides BBI pueden agruparse como sigue:

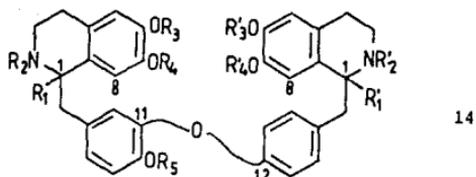
- Grupo A: una unión difenil éter entre una y otra unidad con 6 tipos diferentes.
- Grupo B: dos uniones difenil éter (cabeza-cabeza, cola-cola y cabeza-cola) con 16 tipos diferentes.
- Grupo C: Una unión difenil éter y una unión bencil fenil éter con dos tipos.
- Grupo D: Tres uniones difenil éter con tres tipos.
- Grupo E: dos uniones difenil éter y una unión bencil fenil éter con 2 tipos.

El grupo B contiene 114 alcaloides y el grupo A 30, por lo que podemos decir que el grupo B es el más frecuente.

Dentro de cada tipo los alcaloides varían en: 1) la naturaleza de los sustituyentes oxigenados (-OH, O-Me, -OCH₂O-), 2) naturaleza de los sustituyentes de los dos átomos de nitrógeno (-NH, -N-Me, -N⁺-Me₂, -NO), 3) el grado de insaturación de los anillos heteroatómicos y 4) la estereoquímica de los dos centros asimétricos.

La nomenclatura de estas clasificaciones se puede apreciar en la Figura 2, en los que se han tomado como ejemplos los tipos I, VIII y XXI a los que pertenecen la O-Metil-cuspidalina, la tetrandrina y la curina respectivamente. Los nú-

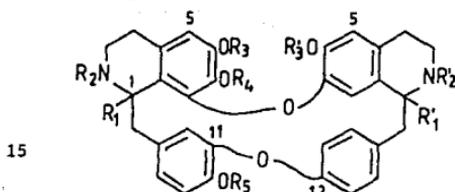
Fig. 2. Ejemplos de BBI y su nomenclatura.



Tipo I 6,7,11*,12-6,7,12*

7'-O-Metilcuspidalina:

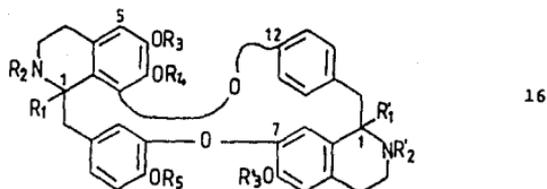
$R_2=R_3=R_5=R'_3=R'_4=Me$; $R_1=R'_1=R'_5=H$



Tipo VIII 6,7,8*,11**,12-6,7*,12**

Tetrandrina:

$R_2=R_3=R_4=R_5=R'_2=R'_3=Me$; $R_1=R'_1=OH$



Tipo XXI 6,7,8*,11**,12-6,7**,12*

Curina:

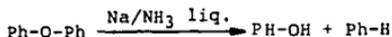
$R_2=R_3=R'_2=R'_3=Me$; $R_1=R'_1=R_4=R_5=H$

meros entre comas indican las posiciones de los sustituyentes oxigenados en cada unidad del dímero. El guión separa la numeración de una unidad y otra y los asteriscos indican la unión, en este caso etérea, entre una unidad y otra. Así en el tipo VIII por ejemplo los sustituyentes oxigenados se encuentran en las posiciones 6, 7, 8, 11 y 12 de una unidad (la de la izquierda) y 6, 7 y 12 de la otra unidad; ambas unidades están unidas por puentes etéreos entre las posiciones 8-7 (*) y 11-12 (**). El tipo I pertenece al grupo A (una unión difenil éter), el tipo VIII, pertenece al grupo B (uniones cabeza-cabeza, cola-cola) y el tipo XXI pertenece al grupo B (unión cabeza-cola).

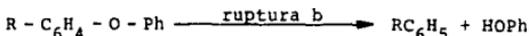
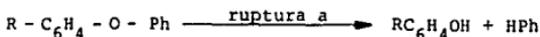
La presencia de BBI en las plantas se ve afectada por condiciones ecológicas por lo que pueden variar la cantidad de alcaloides presentes en una misma especie colectada en diferentes lugares.

Los BBI se encuentran generalmente formando parte de mezclas complejas donde los componentes individuales pueden variar en su configuración absoluta y/o en el grado de O ó N metilación, además, en la mayoría de los casos se presentan juntas bases fenólicas y no fenólicas. Aunque Guinaudeau y col. (1986) han publicado una revisión de las características espectroscópicas de los BBI, su elucidación por métodos espectroscópicos no parece ser fácil. Cuando no es posible elucidar la estructura de estos alcaloides por métodos

espectroscópicos que parece ser lo más frecuente dado que las señales de ambas unidades bencilisoquinolínicas se superponen, entonces se siguen métodos de degradación para determinar su estructura como la "degradación reductiva metanol-amoniaco" que desarrollaron inicialmente, Sartoretto y Sowa (1937) separando diaril-eteres reductivamente con sodio en amoniaco líquido.



Los diarileteres sustituidos pueden separarse por dos caminos:



Sowa (Sartoretto, 1937; Kranzfalder, 1937 y Weber, 1938) investigaron sistemáticamente la influencia de los sustituyentes de los diarileteres en el patrón de ruptura; observando que la fisión de la unión entre el oxígeno y el anillo sustituido (ruptura a) es promovido por los sustituyentes en el siguiente orden: o-MeO, m-MeO, m-Me, p-MeO (Fig. 3). Un ejemplo de la aplicación de estos descubrimientos, es la determinación de la estructura de la picnamina (Fig. 4) que produce tetrandrina al someterse a la acción del diazometano, seguido de tratamiento con tolueno en amoniaco líquido y una pequeña parte de sodio. Este tratamiento produjo una

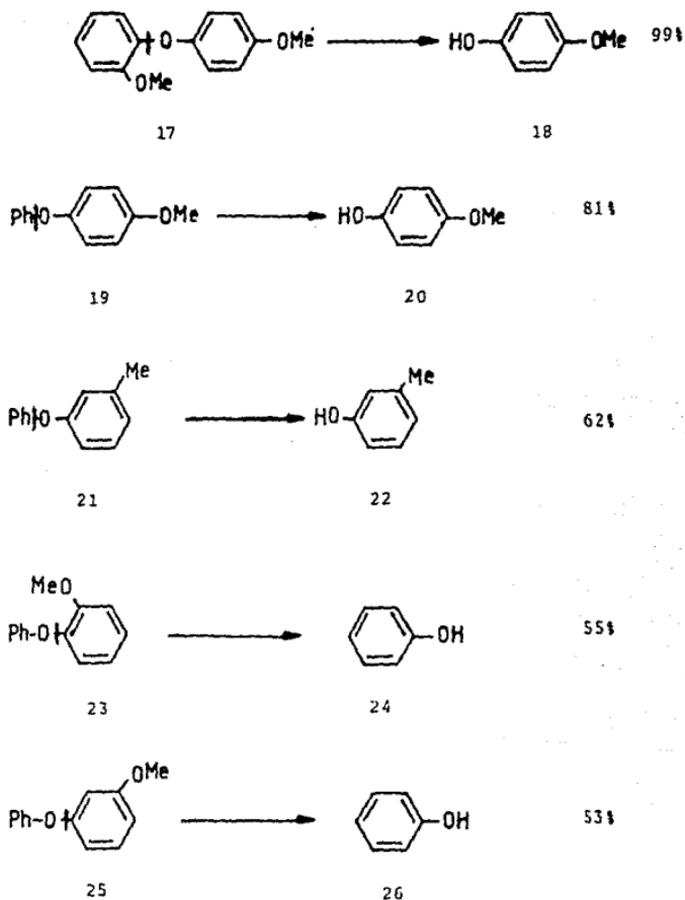


Fig. 3 Influencia de los sustituyentes de los diarileteres en el patrón de ruptura.

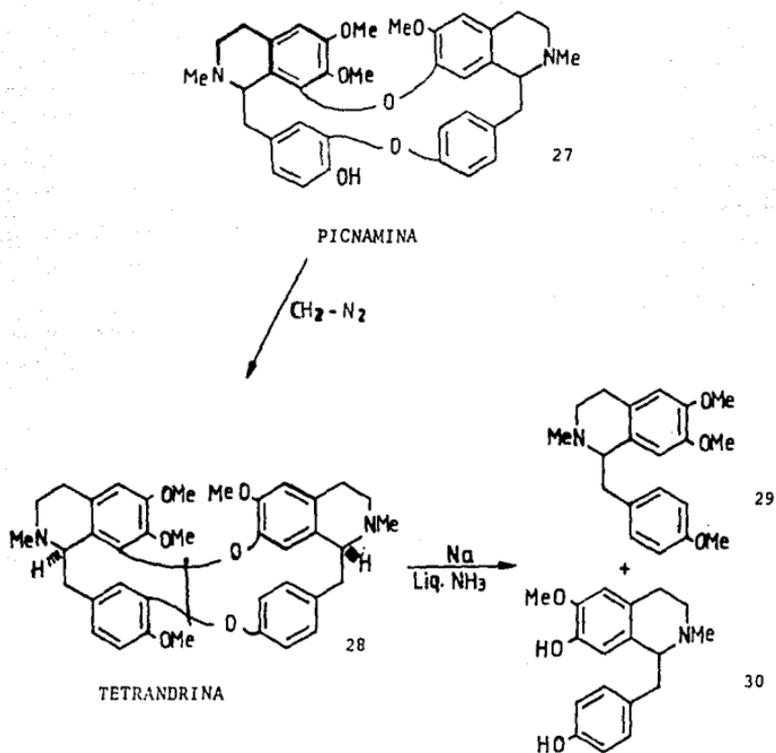


Fig. 4 Determinación de la estructura de la picnamina utilizando la degradación reductiva metalo-amoniacaal.

base fenólica y una no fenólica que luego se identificaron por comparación con muestras auténticas. La base fenólica dió la base no fenólica por tratamiento con diazometano (Pelletier, 1970 p. 41). Entre las mezclas de alcaloides BBI más interesantes por su uso tradicional se encuentra el curare usado por los naturales de las selvas sudamericanas para envenenar sus flechas. El alcaloide más enérgico de esta mezcla es la tubocurarina que bloquea la acción de la acetilcolina en la placa neuromuscular de las fibras musculares estriadas. Su efecto final es la parálisis respiratoria. Se usa como preanestésico para detener el peristaltismo del aparato digestivo. Su derivado, el yoduro de O-O-dimetiltubocurarina es 6 veces más potente y no produce depresión respiratoria (Goodman y Gilman, 1982).

Otras actividades farmacológicas relevantes de este tipo de alcaloides están presentes en la cisampereina, la talidasaina y la tetrandrina (Fig. 5) que han mostrado propiedades antitumorales en pruebas preliminares; así mismo la cefarantina es un excelente antituberculoso y antileproso (Bentley, 1982). Más recientemente se ha estudiado la actividad de la tetrandrina sobre neutrófilos y monocitos y sobre el metabolismo del calcio (Bentley, 1988), así como sobre el sistema cardiovascular (Bentley, 1987).

Una de las reacciones más comunes de oxidación de los alcaloides bencilisoquinolínicos es el acoplamiento fenóli-

co por lo que una hipotética pero lógica secuencia biogénica es la de que a partir de un alcaloide bencilisoquinolínico como N-metilcoclaurina, se produzca un dímero que puede derivar en los alcaloides BBI dauricina, oxiacantina y berbaminina por diferentes O-metilaciones de los grupos OH. (Shamma, 1978). (Fig. 6).

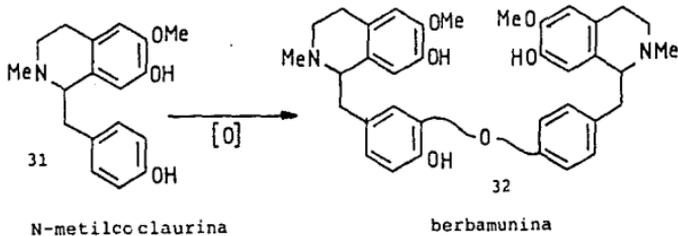


Fig. 6. Posible ruta biosintética de una BBI.

Alcaloides aporfínicos, dioxoaporfínicos y fenantrénicos.

Las aporfinas son alcaloides bencilisoquinolínicos de cuatro anillos con el nitrógeno situado en el anillo B. El único alcaloide aporfínico reportado para la familia Aristolochiaceae, es la base cuaternaria magnoflorina que esta presente en A. argentina (Ruveda, 1966), A. astrozechuanica (Fanggun, 1987), A. baetica (Carreras, 1973), A. bracteata (Hussein, 1979), A. debilis (Tseng, 1957; Beng, 1958), A. fanchi (Lizheng, 1984), A. heterophylla (Baozhi,

1982), *A. indica* (Chun-tao, 1984), *A. macedonica* (Podoloso, 1980), *A. menshuriensis* (Linsheng, 1986), *A. moupinensis* (Baozhi, 1982, Lizhen, 1984, Lizhen, 1984a), *A. clematitis* (Pailer, 1959), *A. kaempferi* (Fagbule, 1984).

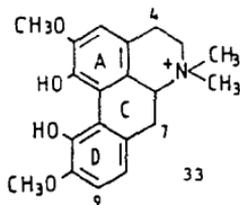


Fig. 7. Magnoflorina.

La biosíntesis de las aporfina quedó establecida en el apartado anterior, como un acoplamiento fenólico oxidativo intramolecular de una bencilisoquinolina.

Es importante destacar que las aporfina presentan un amplio rango de actividades farmacológicas, por ejemplo. La bulbocapnina tiene efectos sobre los receptores dopamínicos; la covidina sobre los vasos deferentes en ratón. La isocordina sobre músculo ventricular; la apormorfina sobre el apetito; el reflejo espinal sobre el metabolismo de la dopamina y sobre fagocitosis (Bentley, 1988). Por otra parte la Boldeina tiene acción antiparasitaria, sedante y diurética, también aumenta la secreción del hígado y de las glándulas salivales; es sólo ligeramente tóxica y no causa adicción (Bentley, 1985). Específicamente la magnoflorina presenta una actividad hipotensora probablemente por bloqueo ganglionar (Chia-Chuan, 1964).

Los métodos clásicos para la elucidación estructural de las aporfinas siguen rutas bien establecidas. Generalmente se puede formar un derivado cuya estructura sea fácilmente comparable con otra ya conocida, por ejemplo mediante una degradación de Hoffman. Como se ejemplifica en la Fig. 8 (Pelletier, 1970).

Respecto de las características espectroscópicas de las aporfinas, podemos generalizar que en el espectro de UV absorben con máximos característicos dependiendo del patrón de sustitución, por ejemplo las aporfinas sustituidas

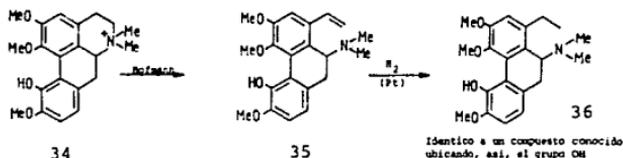


Fig. 8. Determinación de la estructura de una aporfina.

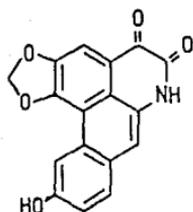
en C-1,2,9,10 muestran máximos cerca de 220, 282 y 305 micrómetros, mientras que en las sustituidas en C-1,2,10,11; los máximos están alrededor de 220, 270, 305. Las aporfinas sustituidas en C-1,2 y 9 presentan máximos a 233, 280, 310, etc. La espectroscopía de resonancia protónica es muy útil para determinar la posición de los sustituyentes en el sistema. Un grupo metoxilo en el C-1 apa-

rece consistentemente entre 3.4 y 3.7 ppm, mientras que en C-2 9 ó 10 aparece entre 3.8 y 3.9 ppm. Un grupo metilendioxi en C-1 ó C-2 se muestra como un doblete en 5.9 ó 6.0 ppm con un $J=10$ Hz, dada la asimetría del sistema bifenílico, etc. (Sharma, 1978).

Los alcaloides dioxoaporfínicos son aporfinas oxidadas en las posiciones 4 y 5 de las cuales se han reportado solo tres en la familia que nos ocupa a saber: la tuberasona (37, Fig. 9) y su glucósido (38) aislado de A. tuberosa (Dayuan, 1983; Dayuan, 1982) y de A. cinabaria (Chengzheng, 1980). La cefaradiona A y la 2-hidroxi-1-metoxi-4H-dibenzo (d, g)quinolina-4,5-(6H)-diona (39) obtenidos de A. india (Achari, 1982).

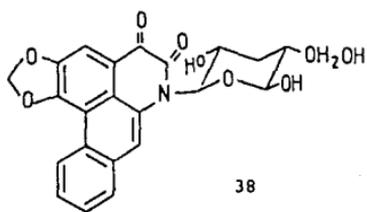
Estos alcaloides son aporfinas oxidadas generalmente en las posiciones 4 y 5. Su biosíntesis no ha sido estudiada pero es fácil suponer que también provienen de las benciliscoquinolinas ya que se han obtenido por síntesis a partir de estas (Sharma, 1978). Tampoco tenemos informes acerca de estudios farmacológicos de este tipo de alcaloides.

Alcaloides fenantrénicos. Los alcaloides fenantrénicos constituyen un pequeño grupo de bases terciarias ópticamente inactivas que podrían derivarse biogenéticamente de una aporfina cuaternaria mediante una eliminación de Hofmann (Pelletier, 1970). El único alcaloide fenantrénico reportado para esta familia es la argentinina (40 Fig. 10).



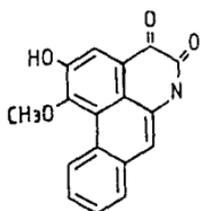
TUBEROSINONA

37



TUBEROSINONA-N-β-D-glucosido

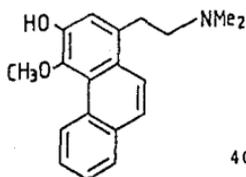
38



39

2-OH-1-MeO-4H-dibenso-
(de,g)quinolina-4,5-(6H)diona.

Fig. 9. Dioxoaporfina presentes en el género Aristolochia.



40

ARGENTININA

Fig. 10. Alcaloide aporfínico

Ácidos aristolóquicos (A.A.).

El compuesto más extendido dentro del género y al que parece que se deben muchas de las actividades biológicas de estas plantas es el ácido aristolóquico (A.A.).

En su revisión, Mix y colaboradores (1982) informan sobre 14 análogos de A.A. Presentes en este género.

Los A.A. son compuestos nitrofenantrénicos con un puente metilendioxi entre las posiciones 3 y 4 y sustituyentes oxigenados que pueden estar presentes generalmente en las posiciones 6, 7 u 8 en diversas combinaciones (ver Tabla 4). Recientemente se ha informado (Priestap, 1987) de un derivado de A.A. con un sustituyente hidroxilo en la posición 2 (Comp. 11 de la Tabla 4).

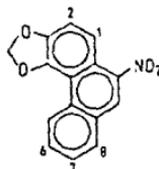
Posterior a la revisión de Mix, se han reportado ocho nuevos derivados del ácido aristolóquico, cuatro de ellos han sido aislados de A. argentina, A.A.V, A.A.Va, A.A.VIa y A.A.II Me-éter (5,10,11,14 de la Tabla 4) (Priestap, 1987). Otros dos ácidos aristolóquicos fueron aislados de A. versicolor A.A. M-éster y A.A.III M-éster (13 y 15 de la Tabla 4) (Xue, 1985). Otro nuevo análogo de A.A. fue obtenido de A. contorta el A.A.E. (21 de la Tabla 4) (Lou, 1987) y finalmente un A.A. obtenido de A. longa el ácido carboxamidopropiónico de A.A.II (19 de la Tabla 4) (De Pascual, 1983). Recientemente fué reportado un nuevo derivado de ác. aristolóquico que no posee el grupo

TABLA 4

ACIDO ARISTOLOQUICO (A.A.) Y SUS DERIVADOS*

Acido aristolóquido (A.A.)	C-1	C-2	C-6	C-7	C-8	Compuesto
I*	COOH	H	H	H	H	41
II	COOH	H	H	H	H	42
III*	COOH	H	OCH ₃	H	H	43
IV	COOH	H	OCH ₃	H	OCH ₃	44
V	COOH	H	OCH ₃	OCH ₃	H	45
VII*	COOH	H	H	OCH ₃	OCH ₃	46
Is	COOH	H	H	H	OH	47
IIIa*	COOH	H	OH	H	H	48
IVa*	COOH	H	OH	H	OCH ₃	49
Va	COOH	H	OH	OCH ₃	H	50
VIa	COOH	OH	H	H	OCH ₃	51
VIIa*	COOH	H	H	OH	OCH ₃	52
I Me-éster*	COOCH ₃	H	H	H	OCH ₃	53
II Me-éster	COOCH ₃	H	H	H	H	54
III Me-éster	COOCH ₃	H	OCH ₃	H	H	55
IV Me-éster	COOCH ₃	H	OCH ₃	H	OCH ₃	56
Aristolósido	COOH	H	O-glucosil	H	OCH ₃	57
Ac. debílico	CH ₂ COOH	H	H	H	OCH ₃	58
Ac. carboxamídopropiónico de A.A. II	CONHCH(Me)COOH	H	H	H	H	59
A.A.B.	COOH	H	OH	7--OCH ₃ --?		60
A.A.E.	COOH	H	H	OCH ₃	OH	61

*A.A.I también A.A.A. y A.A.
 A.A.III también 6MeO-A.A.C.
 A.A.VII también 7MeO-A.A.A.
 A.A.IIIa también A.A.C.
 A.A.IVa también A.A.D.
 A.A.VIIa también 7OH-A.A.A.
 A.A.I Me-éster también Metilaristolócato.



metilendioxi (ver adendum). De las 53 especies con estudio fitoquímico reportado, solamente de 7 de ellas no se ha aislado algún análogo de A.A. A. albida, (Fagbule, 1984), A. astrozechuanica (Xu, 1986), A. cymbifera (Munavalli, 1969, pp 455), A. taliscana (Maldonado, 1966 y Ionescu, 1977), A. tomentosa (Munavalli, 1969, pp 456), A. triangularis (Ruecker, 1981) y A. zenkeri (Munavalli, 1969, pp 457). De los informes antes mencionados Ruecker (1981) especifica que no logró separar A.A. de A. triangularis.

Puesto que los ácidos aristolóquicos o sus derivados láctámicos solamente se han encontrado en la familia Aristolochiaceae o en escasas especies de familias cercanamente relacionadas con aquellas como Anonaceae (Mahmood, 1986), Minispermaceae (Munavalli, 1969) y Monimiaceae (Mix, 1982). Se afirma que estos compuestos son marcadores taxonómicos (Carreras, 1973). Y el hecho excepcional de que algunas especies taxadas en este género no presenten algún ácido aristolóquico indicaría que se han estudiado poco, como lo evidencia el número de reportes publicados de estas especies, o, en su caso, como sugiere Munavalli (1969) debería revisarse su taxonomía.

De A. argentina, una de las especies más estudiadas de este género, se han aislado 12 ácidos aristolóquicos (ver Apéndice 1) lo que ha significado muchos años de tra-

bajo para los investigadores argentinos. Por otro lado, los químicos que estudian A. indica, otra de las especies que cuentan con gran cantidad de reportes, han logrado aislar solo 3 A.A. Aunado a lo anterior más de la mitad de las especies estudiadas de este género presentan más de un derivado de A.A. por lo que deberíamos esperar la presencia de estos compuestos en todas las especies.

Se ha reportado una síntesis para ácidos aristolóquicos (Kupchan, 1965) mediante una reacción de fotociclización de 2-iodoestilbenos convenientemente sustituidos, no obstante la ruta sintética seguida no es comercializable por lo que se siguen buscando fuentes de A.A. naturales con mayor rendimiento (De Pascual, 1983).

Desde el punto de vista farmacológico, de los compuestos aislados de este grupo de vegetales, el más estudiado es el ácido aristolóquico, de tal manera que los estudios farmacológicos concernientes a esta familia están muy relacionados con los estudios que se refieren específicamente al ácido aristolóquico por lo que su descripción se resume en el apartado "Actividad farmacológica del género *Aristolochia*".

La biosíntesis del ácido aristolóquico ya ha sido establecida.

Las señales espectroscópicas de RMN, UV e IR de algunos ácidos aristolóquicos se muestran compiladas en las Tablas 5 y 7 respectivamente.

Analizando la Tabla 5 podemos generalizar que los desplazamientos protónicos más frecuentes y los desplazamientos extremos son los que muestra la Tabla 6.

De tal manera que la señal que aparece a campo más bajo es la del protón 9 luego las señales de los protones 5, 2, 7 en ese orden, presentándose a campo más alto la señal metilendioxi.

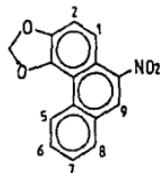
También se puede destacar que las señales de los protones 2, 9 y metilendioxi son singuletes mientras que las señales de los protones en 5 y 7 serán más o menos complejas según el patrón de sustitución que siga el compuesto específico en las posiciones 6 y 8.

En lo que respecta a la absorción en UV las absorbancias máximas son las características del anillo fenantrénico y la absorción en infrarrojo destaca el carbonilo del ácido $1690-1715\text{ cm}^{-1}$ y las dos absorbancias características del grupo NO_2 como se observa en la Tabla 7.

TABLA 5

DESPLAZAMIENTOS PROTONICOS EN RMN DE ALGUNOS ACIDOS ARISTOLOQUICOS

COMP*	1	6	8	H aromáticos					OCH ₃			-OCH ₂ O-	Disolvente	Ref.	
				2	5	6	7	8	9	1	6				8
4	COOH	H	OCH ₃	7.76s	8.45d	7.70t	7.22d		8.48s			4.04s	6.45s	DMSO-d ₆	128
	COOH	H	H	7.79s	8.96m	7.78m	7.78m	8.19m	8.50s				6.47s	DMSO-d ₆	121
	COOH	OCH ₃	OCH ₃	7.70s	7.84d		6.78d		8.32s		3.88s	3.97s	6.39s	DMSO-d ₆	124
	COOH	H	OH	7.72s	8.46d	7.66t	7.20d		8.48s				6.44s		180
	COOH	OH	H	7.76	8.48d		7.29dd	8.10d	8.48				6.49	DMSO-d ₆	144
	COOH	OH	OCH ₃	7.85s	8.11d		6.88d		8.55s			4.08s	6.55s	DMSO-d ₆	90
51	COOH	C2-OH	OCH ₃		8.29dd	7.82t	7.49dd		8.19			3.95	6.66	DMSO-d ₆	144
53	COOCH ₃	H	OCH ₃	7.77s	8.71d	7.75dd	7.11d		8.83s	3.87s		4.06s	6.38s	CCl ₄	144
57	COOH	O-g1	OCH ₃	7.78s	8.35d		7.13d		8.50s			4.07	6.44s		118
56	COOCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	7.73s	8.13d		6.70d		8.74s	3.86s	3.98s	4.01s	6.34s	DMSO-d ₆	124



*El número del compuesto es el asignado en la Tabla 4.

TABLA 6

DESPLAZAMIENTOS MAS FRECUENTES Y EXTREMOS DE LOS PROTONES NO
SUSTITUIDOS EN LOS ACIDOS ARISTOLOQUICOS

Protón	Desplazamiento extremos en ppm	Desplazamientos más frecuentes en ppm
2	7.72-7.85	7.73-7.79
5	7.84-8.96	8.11-8.71
7	6.70-7.78	6.78-7.49
9	8.19-8.83	8.32-8.74
Metilendioxi	6.34-6.66	6.38-6.55

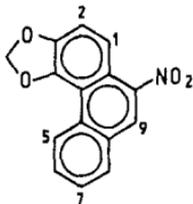


TABLA 7

SEÑALES ESPECTROSCOPICAS DE ACIDOS ARISTOLOQUICOS

Comp. #	ν_{\max}^{EtOH} cm ⁻¹ (log c)					ν_{\max}^{IR} cm ⁻¹ (KBr)					Ref.			
	-CO-		-NO ₂											
4	221(4.47)	250(4.51)		317(4.05)	390(3.78)	1695	1515	1340	1266	1036	138			
4		251(4.51)	297(4.15)		362(5.59)	1690	1415	1358	1242	1133	1055	144		
4		245(4.51)	255(4.55)	276(4.08)	299(4.06)	370(3.78)	1695	1635	1439	1358	1251	1162	1040	144
4		244(4.49)	241(4.50)	285(4.08)	315(4.03)	364(3.75)	393(3.82)	1688	1442	1386	1262	1173	1074	144
4	222	255	283	317	390									144
4		250	256	301	358	386	1692	1631	1450	1352	1271	1140	1068	144
4	220(4.37)	244(4.47)	254(4.47)	292(4.14)	325(4.04)	401(3.92)	1692	1610	1441	1372	1252	1149	1046	144
53	222(4.56)	255(4.30)		315(4.01)			1725	1600	1530	1350				29
55							1715	1620	1530	1350				29
56	220	242	255	326			1715	1610	1520	1375				90
57	222(4.41)	243(4.51)	252(4.52)	318(4.07)	392(2.93)		1695	1597	1517		1040			118

*El número del compuesto es el asignado en la Tabla 4.

ARISTOLACTAMAS

Las aristolactamas, desde el punto de vista químico, son derivados de los ácidos aristolóquicos, en las que el grupo nitro reducido a amino, forma un anillo lactámico con el grupo carboxílico.

Se han reportado 25 derivados lactámicos de los ácidos aristolóquicos (ver Tabla 8).

Estos compuestos no han sido estudiados farmacológicamente en forma directa. Schmeiser y colaboradores (1986) aislaron los correspondientes derivados lactámicos de los ácidos aristolóquicos I y II que habían suministrado a ratas. Estas aristolactamas obtenidas del hígado de las ratas, presentaron mutagenicidad en pruebas posteriores, lo cual puede indicarnos que las propiedades atribuidas a estas plantas también son debidas a la presencia de aristolactamas.

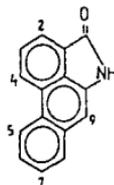
Aunque es grande la variedad de aristolactamas, estas se presentan en muy pocas especies. Tal es el caso de varias aristolactamas que se presentan solo en A. argentina (ver Apéndice 2). Finalmente, tres lactamas, doriflavina (Comp. 19 de la Tabla 8) y las dos enterocarpamas (compuestos 20 y 21 de la Tabla 8), se presentan sólo en especies que no pertenecen a la familia Aristolochiaceae, pero que están íntimamente emparentadas con esta.

Las características espectroscópicas de algunas aris-

TABLA 8
ARISTOLACTAMAS y SUS DERIVADOS

Aristolactama (Ama)	3	4	6	8	otros	Comp.
I	O—CH ₂ —O		H	OCH ₃		62
II	O—CH ₂ —O		H	H		63
III*	O—CH ₂ —O		OCH ₃	H		64
IV*	O—CH ₂ —O		OCH ₃	OCH ₃		69
Ia	O—CH ₂ —O		H	OH		66
III*	O—CH ₂ —O		OH	H		67
AII*	OH	OCH ₃	H	H		68
AIII	OH	OCH ₃	OCH ₃	H		69
BI	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃		70
BII	OCH ₃	OCH ₃	H	H		71
BIII	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H		72
CII						73
CIII						74
DII	COOH	OCH ₃	H	H	C2-OH	75
DIII	COOH	OCH ₃	OCH ₃	H	C2-OH	76
AIIa	OH	OCH ₃	H	OH		77
AIIIa	OH	OCH ₃	OH	H		78
N-b-D-glucósido	O—CH ₂ —O		H	OCH ₃	N-glucosil	79
C H-b-D-glucósido	O—CH ₂ —O		OH	H	N-glucosil	80
Bojo de aristoloquia	O—CH ₂ —O		OCH ₃	OCH ₃	C2-OCH ₃	81
Doriflavina (Nº EI)	OCH ₃	OH	OH	H		82
Enterocarpama I (Ama AVI)	OH	OCH ₃	H	OCH ₃	C9-OCH ₃	83
Enterocarpama II (Ama AIV)	OH	OCH ₃	H	OCH ₃		84

* Ama.I también Aristolactama o aristolactam
 Ama.II también Cefaranona A
 Ama.IV también 6-MeO-Ama.o A.A.D Me-éster lactama
 Ama.AII también Ama.AIa
 Ama.BII también cefaranona B
 Ama.BI también taliscanina



tolactamas están resumidas en las Tablas 10, 11 y 12.

Analizando la Tabla 9 podemos generalizar que los desplazamientos protónicos en RMN más frecuentes y los desplazamientos extremos son los que muestra la Tabla 10, de tal manera que la señal que aparece a campo más bajo es la del protón 5 y luego la señal del protón en 2 y confundiéndose a campo más alto las señales de los protones 7 y 9 también aquí cabe destacar que las señales de los protones 2 y 9 son singuletes, mientras que 5 y 7 son más o menos complejas dependiendo del patrón de sustitución en las posiciones 6 y 8 de la aristolactama de que se trate.

En cuanto a las señales que absorbe el ultravioleta en estos compuestos resulta claro que la resonancia del anillo lactámico incrementa el número de señales en forma considerable. También cabe destacar que las señales comparables del sistema fenantreno del ácido aristolóquico con las de las lactamas, se encuentran desplazadas. Por ejemplo las señales que situados entre 220 y 222 nm en los ácidos aristolóquicos, aparecen entre 207 y 212 en las aristolactamas.

En el infrarrojo aparecen las señales características del grupo NH a más de 3100 nm también es característica la absorción en IR del grupo carbonilo lactámico entre 1685 y 1725 según el patrón de sustitución en el sistema fenantrónico. Algo más abajo de la señal correspondiente del grupo carboxílico en el ácido aristolóquico.

TABLA 9

DESPLAZAMIENTOS PROTONICOS EN RMN DE ALGUNAS ARISTOLACTAMAS (Ama)

Comp *	3	4	6	8	otro	H-2	H-5	H-6	H-7	H-8	H-9	CH ₂ O ₂	3-OMe	4-OMe	6-OMe	8-OMe	Ref.
62	O-CH ₂ -O		H	OCH ₃		7.52s	7.99dd	7.41t	7.09dd		7.24s	6.43				4.01	142
63	O-CH ₂ -O		H	H		7.64s	8.48m	7.55m	7.91m	7.11	6.48						142
64	O-CH ₂ -O		OCH ₃	H		7.52s	7.86d		7.19d	7.79	7.00	6.40			3.88		142
65	O-CH ₂ -O		OCH ₃	OCH ₃		7.62s	7.65d		6.82d		7.28	6.48			3.94	4.01	142
66	O-CH ₂ -O		H	OH		7.62s	8.04dd	7.38t	7.06dd		7.38	6.46					142
67	O-CH ₂ -O		OH	H		7.60	7.96d		7.14dd	7.78d	7.05	6.47					142
68	OH	OCH ₃	H	H		7.62s	9.13m	7.54m	7.54m	7.93m	7.08			4.03			142
69	OH	OCH ₃	OCH ₃	H		7.65s	8.67d		7.25dd	7.89d	7.08			4.08	3.95		142
70	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃		7.85s	8.72dd	7.50t	7.18dd		7.43		4.04	4.04		4.04	142
71	OCH ₃	OCH ₃	H	H		7.85s	9.12m	7.55m	7.55m	7.93m	7.13		4.06	4.06			142
72	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H		7.81s	8.63d		7.20dd	7.84d	7.07		4.05	4.05	3.92		142
76	OH	OCH ₃	OH	H		7.63s	8.57d		7.09dd	7.76d	7.03			4.02			142
80	OCH ₃	OH	OH	H		7.22	9.22d		7.48dd	7.86d	8.11		3.96				106
81	OH	OCH ₃	H	OCH ₃	C9-OMe	7.53	8.58d	7.35t	7.01dd					4.08		3.91	106
82	OH	OCH ₃	H	OCH ₃		7.42	8.62d	7.36t	7.06dd		7.83			4.03		4.00	106

*El número corresponde al asignado en la tabla 8.

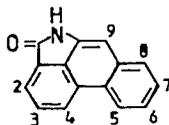
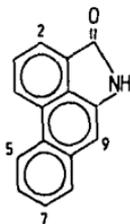


TABLA 10
DESPLAZAMIENTOS MAS FRECUENTES Y EXTREMOS DE LOS PROTONES
NO SUSTITUIDOS EN ARISTOLACTAMAS

Protón	Desplazamientos más frecuentes en ppm	Desplazamientos extremos en ppm
2	7.52-7.85	7.52-7.85
5	7.96-9.13	7.65-7.72
7	7.01-7.55	6.82-7.91
9	7.00-7.83	6.48-8.11



85

TABLA 11

SEÑALES ESPECTROSCOPICAS DE ALGUNAS ARISTOLACTAMAS

COMP.*	UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ)											Ref.	
62	210(4.38)	238(4.47)	243(4.47)	250(4.41)	260(4.55)		292(4.15)						29
63					264(4.38)	276(4.5)	287(4.43)		327(3.87)	339(3.86)	374(3.79)	391(3.79)	142
64		237(4.49)		254(4.35)	267(4.45)	281(4.48)	294(4.33)			334(4.06)	348(4.07)	396(3.92)	142
65		240(4.45)			263(4.39)		291(4.06)	302(4.04)		336(3.84)	346(3.85)	410(3.80)	142
66	212(4.38)	242(4.54)	249(4.51)	258(4.55)			291(4.18)	301(4.15)		330(4.00)		400(3.98)	142
67	212(4.46)	236(4.47)		255(4.37)	266(4.45)	280(4.41)	296(4.26)			333(4.04)	348(4.04)	398(3.93)	142
68	209(4.39)	235(4.57)			264(4.40)	277(4.47)			317(3.87)			398(3.81)	25
69	216(4.34)	238(4.58)	253(4.42)			280(4.46)	292(4.46)		322(3.96)			401(3.84)	25
70		247(4.60)	247(4.58)	253(4.59)	269(4.47)		297(3.95)			336(4.06)		397(3.39)	142
71		232(4.50)			263(4.42)	277(4.46)	288(4.47)		319(3.90)			387(3.24)	25
72		236(4.53)		255(4.58)	262(4.40)		281(4.30)	293(4.33)	313(4.01)	321(4.01)		399(3.80)	25
76	212(4.39)	237(4.53)		252(4.38)	260(4.37)	279(4.27)		292(4.28)	321(4.08)			402(3.87)	142
77		238	243	249	258		290	298		328			90
79				253(4.63)	265(4.50)		294(4.29)	300(4.28)	305(4.27)	335(3.77)	352(3.70)	395(3.91)	22
80	207(4.42)	230(4.59)		251(4.45)	260(4.41)	277(4.32)	290(4.34)			320(4.11)		400(3.91)	114
81		239(4.12)		253(4.36)	268(4.06)		298(3.80)					397(3.66)	106
82			246(4.80)	255(4.47)			293(4.40)					405(4.18)	106

*El número corresponde al asignado en la tabla 8

TABLA 12

SEÑALES ESPECTROSCOPICAS DE ARISTOLACTAMAS

COMP.*	IR _v _{max} cm ⁻¹ (KBr)							Ref.
62	1690	1650						29
63	3145	1706	1686	1377	1266	1166	1044	142
64	3195	1702		1376				142
65	3226	1689	1626	1377	1284	1264	1047	142
66	3175		1642					142
67	3311		1653	1366	1270		1044	142
68	3356	1709			1295			25
69	3226	1684				1164		25
70	3260	1715	1658	1471	1261		1046	142
71	3226	1724		1383				25
72	3236	1730		1381	1244			25
76	3106	1689	1689		1292		984	142
80	3350	1700		1500	1300		1000	114
81	3340	1680	1615					106
82	3220	1710	1670					106

*El número corresponde al asignado en la tabla 8

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA DE PLANTAS DEL GENERO ARISTOLOCHIA

La mayor información que se tiene respecto a la actividad farmacológica de este género de plantas esta relacionada con la actividad mutagénica que se le atribuye al ácido aristolóquico y a las aristolactamas. Esto resulta natural dada la tendencia de los investigadores de Estados Unidos y Europa de estudiar primordialmente efectos citotóxicos que permitan encontrar lo antes posible compuestos eficaces contra diferentes tipos de cáncer, dejando de lado el estudio farmacológico en otras áreas.

En el Apéndice 2 se resumen las actividades farmacológicas más notables reportadas hasta la fecha, las cuales están acordes con los usos que tienen estas plantas en medicina tradicional. La actividad más estudiada se relaciona con la mutagenicidad y su efecto antineoplásico como se dijo antes (Maier, 1985; Moreti, 1979; Schmeiser, 1986). También se han estudiado los efectos uterocinéticos como la antiimplantación de óvulo y su uso como abortivo (Lin-Hsin, 1980; Wenhua, 1984; Huizhong, 1983). Parece existir una relación directa entre la capacidad mutagénica de AA. y su actividad biocida. En Japón se ha patentado una formulación a base de ácido aristolóquico como herbicida para controlar el crecimiento de especies indeseables en el cultivo de soya y frijol para los cuales no es fitotóxico

(Myakado, 1984). También se ha demostrado su capacidad para esterilizar insectos (Saxena, 1979) ya sea por muerte mitótica de los oocitos, o porque dominan los oocitos letalmente mutantes.

Practicamente no existen estudios farmacológicos para demostrar la actividad de las aristolochias para contrarrestar los venenos de serpientes y escorpiones o alacranes que quizá sea uno de los usos populares más importantes que tienen estas plantas.

En 1980 apareció un artículo publicado por Li-Hsue (1980) en el que demostró la inactivación in vivo de los venenos de algunas serpientes.

Por otro lado en China e India los estudios farmacológicos de estas plantas se han encaminado principalmente hacia su uso en el control de la natalidad en la población (Che, 1984; Ho, 1980, Pakrashi, 1977 y 1977a). No tenemos noticias acerca de estudios farmacológicos desarrollados en América Latina con principios activos aislados de este género.

En un estudio al respecto se observaron los efectos tóxicos agudos de la administración de altas dosis de A.A. por vía oral e intravenosa durante 15 días. En la autopsia se observó necrosis del tubulo renal, atrofia de órganos linfáticos y grandes áreas de ulceración superficial en el estómago seguido de hiperplasia e hiperqueratosis del epitelio escamoso.

El rango de LD_{50} que obtuvieron fué de 56-203 mg/Kg vía oral y 38 a 83 mg/Kg vía intravenosa dependiendo de las especies y el sexo (Mengs, 1987).

Sin restarle importancia a los estudios dirigidos a controlar el cancer; en nuestro País serían de la mayor importancia las investigaciones tendientes a comprobar la actividad biológica relacionada con enfermedades parasitarias en general así como la comprobación de las propiedades que se le atribuyen a este género sobre mordeduras de serpientes y picaduras de alacrán. Las protozoosis intestinales, las infecciones bacterianas y otras afecciones como el paludismo que vuelve a tomar carta de naturalización en nuestro país, son problemas epidemiológicos nacionales y latinoamericanos muy importantes. Existe el grave problema del shock anafiláctico producido por el suero anticrotálico obtenido de animales como el caballo, al aplicarse por segunda ocasión y a veces a la primera. Este problema suele ser más grave que la propia picadura de alacrán del que se quiere salvar al individuo (Hoerch, 1986).

Por otro lado, aunque parece ser que una gran cantidad de propiedades biológicas atribuidas a los extractos de estas plantas son debidas al ácido aristolóquico, no podemos dejar de lado a otras sustancias a las que se les ha encontrado actividades muy importantes. Tal es el ca-

so de los alcaloides como la tetrandrina aislada de A. triangularis y otras fuentes, la cual esta siendo estudiada farmacológicamente en forma muy importante como se establece en el apartado de BBI. La magnoflorina, una base cuaternaria aporfínica no ha sido estudiada farmacológicamente y es probable que posea alguna actividad. Asi mismo sustancias no nitrogenadas han mostrado actividad biológica definida, tal es el caso de un esteroide aislado de A. versicolor (Xue, 1985) que exhibe actividad citotóxica y de un sesquiterpeno aislado de las raíces de A. indica (Pakrashi, 1977a) que mostró un 100% de actividad anticonceptiva y un 91% de actividad antiimplantación al probarse en ratones, utilizando una dosis oral de 100 mg/Kg, no observándose toxicidad a esa dosis. La actividad inhibitoria de la implantación de este sesquiterpeno podría ser debida a su efecto anties-trogénico (Pakrashi, 1977).

También es importante mencionar los estudios que se han desarrollado usando extractos de aristoloquias. El extracto de A. clematitidis se ha usado para producir daño renal y seguir el desarrollo de la reacción inmune con imurano (Milosevik, 1979). Van der Berghe y colaboradores (1978) estudiaron extractos de 100 plantas de 73 géneros seleccionados con base en la literatura, reportes médicos e informes de efectos antimicrobianos in vitro. Dichos extractos fueron probados contra virus como los agentes cau-

santes de la poliomielitis, herpes y adenovirus. De sus resultados se colige que ninguna Aristolochia fue abiertamente activa. Cabe señalar sin embargo, que los extractos de todas las plantas fueron obtenidos exclusivamente de las hojas y sabemos, por los estudios fitoquímicos y por su uso popular, que los principios activos de estas plantas se encuentran en mayor proporción en las raíces y tallos. En otra prueba de cernimiento efectuada sobre 472 plantas chinas, Zheng (1988) encontró que los extractos alcohólicos y acuosos, A. debilis forma parte del grupo de 10 plantas que probaron ser las más activas contra virus de herpes simple tipo 1 usando cultivo de tejidos.

En otro estudio con extractos acuosos de A. bracteata se observó el desarrollo patológico de lesiones en riñón e hígado de cabras cuando fueron tratados con dosis tóxicas del extracto. Dichas lesiones se relacionaron con los síntomas clínicos que incluían diarrea, disnea, arqueado del lomo, pérdida del pelo y pérdida de la conciencia (El Dirdiri, 1987).

Es importante finalmente, señalar que en un estudio desarrollado en U.S.A. (Chun-Tao, 1984) intentaron confirmar los efectos antifertilidad atribuidos por la medicina tradicional en India sobre A. indica. Partieron de 100 Kg de plantas a las que les pasaron 2000 litros de EtOH. Fraccionaron el extracto de acuerdo al monitoreo que se-

guían por actividad biológica. Aislaron e identificaron muchos compuestos y sorprendentemente ninguno fué activo en Hamster como regulador de la fertilidad.

Para revisar algunos detalles, ver el resumen de la actividad farmacológica que se presenta en el apéndice 2.

CAPITULO 3

PARTE EXPERIMENTAL

METODOS Y MATERIALES

Material vegetal

El material vegetal fue colectado en las inmediaciones de Monterrey, N.L., por el maestro Francisco González Medrano del Instituto de Biología de la UNAM quien lo identifico como Aristolochia littoralis.

El material vegetal (partes aéreas) se secó a temperatura ambiente y se molió en un molino de cuchillas (Wiley 4 usando malla No. 4).

Análisis cromatográficos

Los análisis cromatográficos en placa fina se efectuaron siguiendo las técnicas convencionales utilizando placas de vidrio recubiertas de gel de sílice (Merck 60 GF₂₅₄) y alúmina (Oxido de aluminio neutro st. con actividad II-III según Brockman, No. 90 de Merck).

Los sistemas de eluyentes y reactivos reveladores se encuentran resumidos en la Tabla 13.

Determinación de alcaloides

Para determinar su presencia, se siguió un esquema metodológico clásico de extracción de alcaloides (Esquema 1) usando una pequeña parte del extracto etanólico.

TABLA 13

SISTEMAS CROMATOGRÁFICOS

MEZCLAS ELUYENTES

No.	Composición	Proporción
1	Metanol	
2	MeOH - Agua	1:1
3	Acetona - CHCl_3 - NH_4OH	6:4:0.25
4	Acetona - CHCl_3 - NH_4OH	6:1:0.25
5	CHCl_3 - Ciclohexano	9:1
6	CHCl_3 - MeOH - NH_4OH	10:1:0.15
7	MeOH - NH_4OH - CHCl_3	1.2:0.1:8.7
8	MeOH - NH_4OH - CHCl_3	30 ml-2.5 ml cbp 250 ml

PLACAS PREPARATIVAS DE GEL DE SILICE

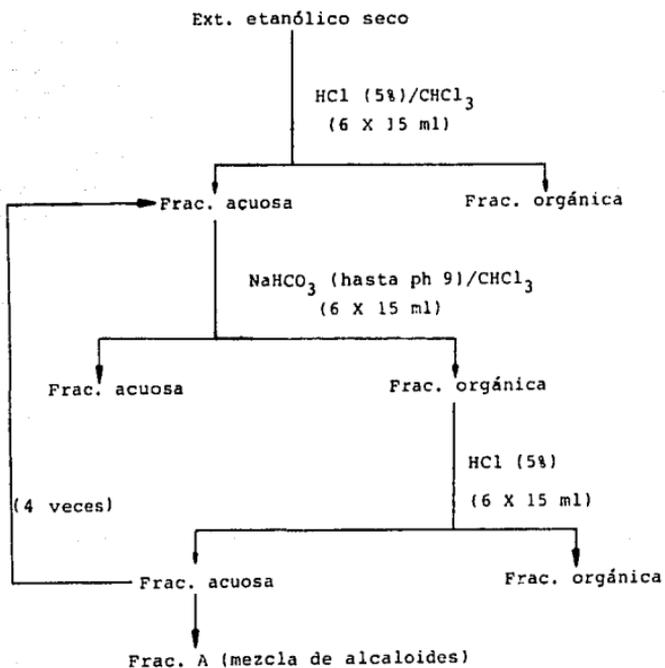
6 gramos de gel de sílice se suspenden en una solución de etanol-agua (13.5 ml + 6.5 ml) para una placa de 20 x 20. Se activaron durante 30 minutos a 60°C.

PLACAS DE ALUMINA PARA PRUEBAS PRELIMINARES

Un volumen de alúmina se suspende en dos volúmenes de agua. Las placas preparadas con esta suspensión se activan a 80° centígrados durante 60 minutos.

Esquema 1

Alcaloides: extracción preliminar



Se efectuaron reacciones cromogénicas (Dragendorff y Yodoplatinato (Pelletier, 1970) sobre las placas cromatográficas de la fase orgánica "A" la cual se disolvió en etanol.

Obtención del Crudo Alcaloideo y del Acido Aristol6quico

Considerando los resultados de las pruebas preliminares para la determinación de alcaloides, se desarrollo el esquema general de extracción de los compuestos de interés de la planta (Esquema 2).

Del material vegetal (1250 g de partes aéreas) se obtuvieron 1300 mg Aprox. de crudo alcaloideo y 20 mg de ácido aristol6quico impuro. El rendimiento del crudo alcaloideo fue de 0.1024% y el del ácido de 0.0016% calculados en base al peso seco.

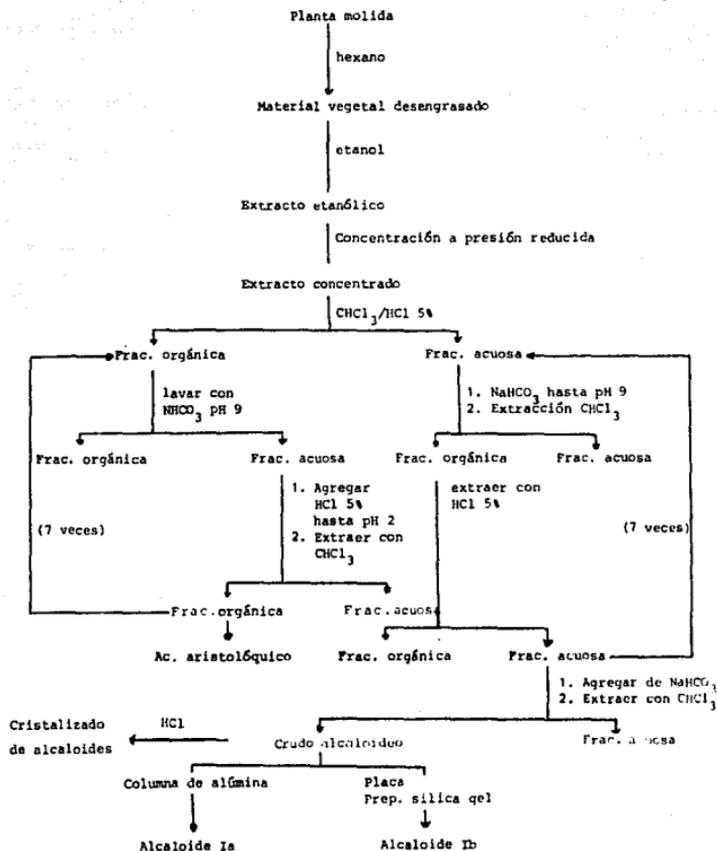
Cristalización de alcaloides (esquema 2)

Una parte del crudo alcaloideo (600 mg) se disolvió en la misma cantidad de metanol. A esta mezcla se le añadieron 2 ml (aprox.) de HCl diluido y se dejó en reposo a temperatura ambiente. Tres semanas después, se obtuvo un precipitado cristalino (500 mg) soluble en metanol que se filtró en buchner y se lavó con cloroformo.

Las pruebas cromatográfica. revelaron dos manchas importantes que absorbían fuertemente al UV y daban prueba positiva con reactivo de Dragendorff corridos sobre sílica gel y usando la mezcla 6 como eluyente.

ESQUEMA 2

ESQUEMA GENERAL DE EXTRACCION



El compuesto más polar (rf 0.76) fué llamado alcaloide Ia y el compuesto menos polar (rf 0.46) alcaloide Ib. El alcaloide Ib presentaba una intensidad aparente tres veces mayor que el alcaloide Ia.

Separación de Alcaloides (esquema 3)

Otros 600 mg de crudo alcaloideo se sometieron a cromatografía en placa fina preparativa (C-1) usando cuatro placas de 20 x 100 cm eluidos con la mezcla 6. De acuerdo a los resultados preliminares, las placas fueron eluidas tres veces.

De estas placas se separaron nueve bandas visualizadas por UV de las cuales, las cuatro más polares eran las más intensas aunque las 9 bandas dieron reacción positiva para Dragendorff que fue efectuada en el extremo de una de las placas.

Aislamiento y Purificación de Alcaloides (esquema 3)

Muestras de las bandas A a D (las más intensas) se sometieron a pruebas cromatográficas en placa fina de gel de sílice eluidas por tres veces. En esta serie de pruebas cromatográficas se encontró que cada banda se separaba en varias manchas de las cuales, algunas dieron positiva la reacción de Dragendorff. Los resultados se resumen en la Tabla 14.

Los compuestos que presentaron mayor intensidad bajo

ESQUEMA 3

ESQUEMA DE SEPARACION DE ALCALOIDES

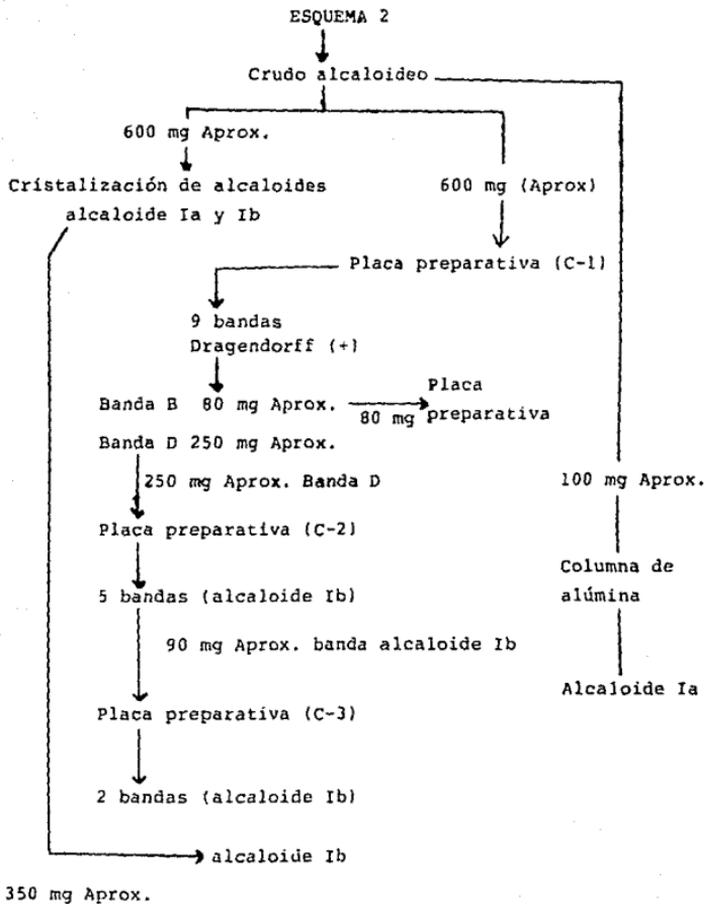


TABLA 14.

ALCALOIDES PRESENTES EN LAS BANDAS

A, B, C y D obtenidas por separacion en placa preparativa
usando la mezcla 6 como eluyente

Banda	Rf de los alcaloides			
	1	2	3	4
A	0.46	0.3		
B	0.2	0.1		
C	0.27	0.17	0.12	0.025
D	0.15	0.025		

luz UV fueron los compuestos B₁ y D₁ que por comparación cromatográfica resultaron ser los alcaloides Ia y Ib respectivamente, que se habían separado por cristalización del crudo alcaloideo. Se obtuvieron 250 mg de la banda D y 84 mg de la banda B.

Aislamiento y Purificación del Alcaloide Ib (esquema 3)

Los 250 mg de la banda D se sometieron a cromatografía en placa fina preparativa (C-2) (4 placas de 20 x 20) usando la mezcla 8 como eluyente.

En esta ocasión se separaron cinco bandas de las cuales la de rf 0.6 resultó ser el alcaloide Ib y aún presentaba un pequeño halo contaminante en su parte inferior, que reveló en UV pero que no reaccionó con Dragendorff. De esta separación se obtuvieron 95 mg de los cuales 90 se sometieron a una nueva cromatografía preparativa (C-3) eluida con la mezcla 7.

De esta nueva cromatografía (C-3), resultaron dos bandas. Solo la más importante (rf 0.75) absorbía intensamente con UV y daba reacción positiva a Dragendorff. Se le realizaron nuevas pruebas cromatográficas que mostraron todavía un pequeño contaminante, por lo que se resolvió desarrollar la extracción mediante placa preparativa, ahora usando 350 mg de cristalizado obtenido del crudo alcaloideo (Esquema 2). Esta vez se usaron disolventes purificados y bidestilados. Al final se obtuvieron 25 mg de alcaloide Ib.

Aislamiento y Purificación del Alcaloide Ia (esquema 3)

Los 80 mg obtenidos de la banda B procedente de las cromatoplas (C-1), se sometieron a cromatografía en placa preparativa, usando la mezcla 7 como eluyente. En esta placa ya no se pudo identificar el alcaloide Ia al comparar en cromatoplasca con el cristalizado por lo que se decidió, después de algunas pruebas en placa, realizar una separación en columna empleando alúmina.

Se utilizó alúmina neutra desactivada eluyendo con la mezcla 5. Se eluyeron 100 mg de mezcla cruda de alcaloides sobre 35 g de óxido de aluminio, colectándose fracciones de 150 ml c/u. De las primeras tres fracciones después del volumen muerto, se obtuvieron 18 mg de un compuesto que absorbía un UV y daba reacción positiva a Dragendorff y que fué identificado como el alcaloide Ia.

FORMACION DE DERIVADOS

Intento de formación de Yodhidrato de la Mezcla Cruda de Alcaloides

9.6 mg de la mezcla cruda de alcaloides se disolvieron en la mínima cantidad de etanol absoluto y se añadieron 0.5 g de NaI. Luego se añadió ácido acético por goteo (5 ml aprox.). No se obtuvo resultado positivo (no precipitó el yodhidrato esperado).

Formación de Clorhidrato del Alcaloide Ia

Ya que este alcaloide era virtualmente insoluble en éter, se disolvieron 15 mg en la mínima cantidad de isopropanol y se burbujeó en la solución ácido clorhídrico formado por goteo de H_2SO_4 sobre una solución de NH_4Cl en HCl . El gas que se desprendía se pasó por una trampa de H_2SO_4 para secarlo. La mezcla de reacción se dejó en reposo, en refrigeración durante 24 horas, se concentró a la mínima cantidad de isopropanol y se precipitó con éter seco.

Se obtuvieron 10 mg aproximadamente de una sustancia amorfa soluble en metanol.

Formación de Trifluoroacetato de Alcaloide Ib

A una pequeña porción del producto obtenido de la banda D de la placa (C-1) se le adicionaron 2 ml de ácido trifluoroacético. La mezcla se dejó en refrigeración durante una semana. Se obtuvo una pequeña cantidad de un precipitado amorfo.

Formación del Reinekato del Alcaloide Ib

15 mg de alcaloide Ib obtenido de la placa (C-3) se acidularon con HCl (5%) agregando solución de reactivo de Reineke. La precipitación del complejo usualmente obtenido de esta reacción no fue tan espontánea como en las pruebas preliminares con quinidina.

El precipitado se filtró y se lavó con cloroformo y

agua. Se redisolvió en etanol (25 ml), se volvió a filtrar; se añadió un volumen igual de agua evaporando el etanol con rotavapor. El nuevo precipitado suspendido en agua se basificó a pH 12 con NaOH, efectuando así la hidrólisis del complejo. El alcaloide se extrajo con 6 porciones de 25 ml de cloroformo de la solución básica. Las pruebas cromatográficas revelaron aún la presencia de una sustancia que contaminaba al alcaloide Ib.

Aislamiento y Purificación del Acido Aristolóquico

A la fracción ácida de la extracción general (Esquema 2), se le añadieron 2 ml de HCl al 5%. Se dejó en refrigeración durante 24 horas. Precipitaron cristales de color amarillo-oscuro que se filtraron y recrystalizaron de DMSO caliente con agua. Se obtuvo, así un sólido amarillo cristalino.

Caracterización de los Compuestos Aislados

Los espectros de IR fueron registrados en un instrumento Perkin Elmer 599-B en pastillas de KBr. Los espectros de RMN'H se determinaron en un instrumento Ft-80 de Varian utilizando como disolventes CDCl_3 y DMSO-d_6 y como referencia interna TMS. Los espectros de masas fueron obtenidos en un aparato Hewlett-Packard 59-88A y los espectros de UV se obtuvieron en un espectrofotómetro Perkin Elmer 202.

RESULTADOS Y DISCUSION

De las partes aéreas (1250 g) de A. littoralis siguen do una metodología de fraccionamiento ácido base, descrita en métodos materiales, fué posible obtener un crudo alcaloideo de bastante complejidad según los análisis cromatográficos efectuados en placa fina. De la fracción ácida, se obtuvieron 20 mg de un ácido nitrofenantrénico caracterizado como ácido aristolóquico I por métodos espectroscópicos.

Del crudo alcaloideo fue posible aislar y caracterizar un alcaloide identificado como bisbencilisoquinolínico llamado alcaloide Ib. También fué posible aislar y obtener algunos datos espectroscópicos de otro alcaloide también bisbencilisoquinolínico llamado alcaloide Ia.

Identificación del Alcaloide Ib

Las constantes espectroscópicas del alcaloide Ib se resumen en la Tabla 15. Se trata de un compuesto amorfo, con punto de fusión de 125°C. El espectro de UV presentó las absorciones características para un sistema bencilisoquinolínico (Shamma, 1978) (espectro 1). El espectro de IR (espectro 2) no mostró absorción de grupo carbonilo, descartándose a priori la posibilidad de una aristolactama. Pero sí presenta bandas para hidroxilos y aromaticidad en

TABLA 15

ALCALOIDE Ib

UV (mm) 235, 287

IR (cm^{-1}) 3450, 2950, 1630, 1460, 1280, 1240

m/z (IE) 206, 192

m/z (I.Q.) 610 (aparente)

$[\alpha]_D^{20}$ -58 (CH_2Cl_2)

NMR (ppm)

2.42	3H	N-Me
2.49	3H	N-Me
3.56	3H	OMe
3.76	3H	OMe
3.8	3H	OMe
5.54	2H	OH
6.7-7.08	11H	Aromático

la zona de 3000 cm^{-1} . El espectro de RMN'H (espectro 3) presenta señales características para dos grupos N-Me, tres grupos metoxilo, dos grupos OH, once protones aromáticos y doce protones alifáticos, que por no existir en el espectro señales para metilos terminales, se dedujo que se trata de protones pertenecientes a un sistema alicíclico.

El número de protones detectados mediante el espectro de resonancia magnética nuclear no puede corresponder a un compuesto de PM 206 como el que se obtuvo en el espectro de masas.

Tomando en consideración la biosíntesis de las sustancias nitrogenadas de estas plantas y con base a la descripción que hace El-Sebaki (1984) de la O-Me Cuspidalina, un alcaloide bisbencilisoquinolínico, se penso que el alcaloide extraído, podría ser del mismo tipo.

En efecto, algunos alcaloides derivados de la bencilisoquinolina producen, en forma característica ciertas señales en el espectro de masas cuando se utiliza el método de impacto electrónico (espectro 4). Estos fragmentos (Fig. 11) son tan estables que practicamente forman el espectro y caracterizan a los alcaloides bisbencilisoquinolínicos (BBI) unidos cola a cola con una sola unión éter (Baldas, 1972).

Tomando como base un análisis de la revisión que hacen Ghua y Mukherjee (1979) sobre los BBI, podemos deducir que

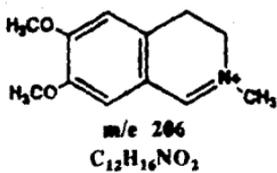
sólo tres de los 16 tipos mencionados en su revisión (Fig. 12), pueden presentar sustituyentes tales en los anillos AB y CD que justifiquen la presencia de los fragmentos m/z 192 y m/z 206 en el espectro de masas a pesar de que existen reportados un gran número de combinaciones de sustituyentes oxigenados y uniones entre los dos sistemas bencilisoquinolínicos.

Como en el espectro de resonancia (espectro 3) se observan sólo 5 señales debidas a sustituyentes oxigenados (tres metoxilos y dos oxhidrilos), podemos eliminar el tipo Ia y II de la Fig. 12 que tienen 6 sustituyentes oxigenados, quedándonos como única posibilidad el tipo I.

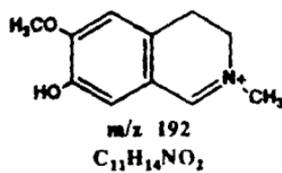
Del tipo I existen varias combinaciones posibles. La presencia de ambos fragmentos, m/z 192 y m/z 206 (Fig. 11), nos obliga a ubicar los tres metoxilos y uno de los oxhidrilos en la cabeza de la molécula y el otro oxhidrilo en la cola, preliminarmente ubicado en la posición 12.

De esta manera, sólo resta definir la posición del oxhidrilo, que deberá estar situado en una de las posiciones 6 (R_2), 7 (R_3), 6' (R_8) o 7' (R_9) (Fig. 13).

Del análisis de los trabajos publicados sobre BBI unidoscola a cola con 5 sustituyentes oxigenados, se infiere que el pico base del espectro de masas para el tipo I, está dado por el fragmento formado por los anillos AB. Así por ejemplo, el derivado de la O⁺Me Cuspidalina (9), Fig. 14) presenta el fragmento m/z 192 como pico base; la dauri-

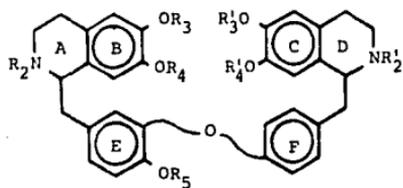


85



86

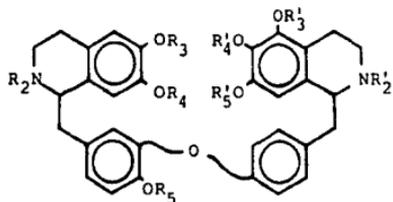
Fig. 11



87

TIPO I

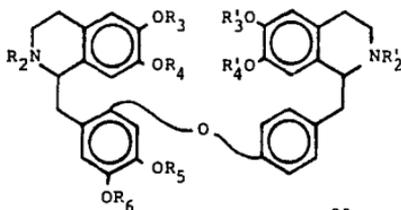
6, 7, 11*12 - 6, 7, 12*



88

TIPO Ia

6, 7, 11*12 - 5, 6, 7, 12*



89

TIPO II

6, 7, 10*12, 13-6, 7, 12*

Figura 12. TIPOS DE ALCALOIDES BISBENCILISOQUINOLINICOS

Tomado de Guha (1979) J. Nat. Prod. 42(1)1

COMP.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉
87	Me or H	Me or H	Me or H	Me or H	H	Me or H	H	Me or H	Me or H
88	Me or H	Me or H	Me or H	Me or H	H	Me or H	Me or OH	Me or H	Me or H
89	Me or H	Me or H	Me or H	Me or H	Me or OH	Me or H	H	Me or H	Me or H
90	Me	Me	H	H	H	Me	H	Me	Me

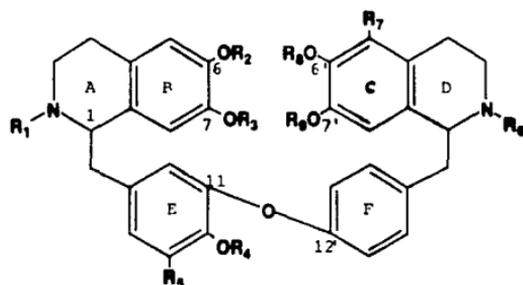
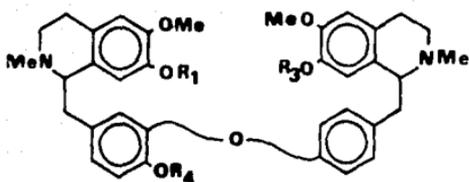


FIG. 13 POSIBILIDADES DE SUSTITUCION EN ALCALOIDES BBI

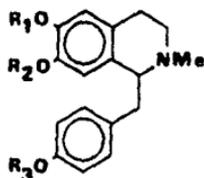
Tomado de Guha (1979) J.Nat.Prod. 42(1)1



COMP.	R ₁	R ₂	R ₃	m/z(100)
91	H	Me	Me	192
92	Me	H	Me	206
93	Me	H	Me	206

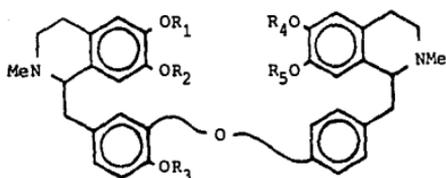
FIG. 14. Phytochem 23 (11) 2706-7 1984

J. Nat. Prod. 42 (1) 1 1979



O—Me			
R ₁	R ₂	R ₃	COMPUESTO
3.82	3.55	3.75	94
3.82	3.53	-OH	95
3.80	-Et	-OH	96
-Et	3.51	-OH-	97
3.80	-OH	3.75-	98
-OH	3.53	3.77	99
3.80	-OH	-OH	100

FIG. 15. Tomita (1965) Chem. Pharm. Bull. 13 (8) 921



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	ref.
101	H.	Me (3.64)	H	Me (3.84)	Me (3.59)	68
102	H	Me (3.62)	H	H	Me (3.59)	68
103	Me	H	Me (3.79)	H	Me (3.59)	68

FIGURA 16. SEÑALES DE METOXILOS DE BBI EN RMN¹H

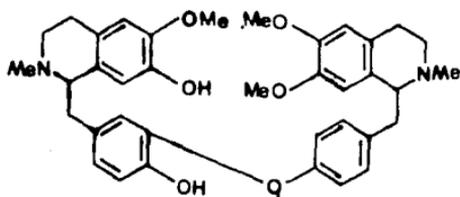
cina (92 Fig. 14) y la nortalibrina (93 Fig. 14) presentan el fragmento m/z 206 como pico base de tal manera que el oxhidrilo que estamos tratando de ubicar se encuentra en la parte de la molécula que forman los anillos AB, ya que el espectro de masas presenta la señal m/z 192 como pico base. De esta manera sólo quedaría por especificar si el OH se encuentra en la posición 6 (R_2) o 7 (R_3) (Fig. 13).

En el trabajo publicado por Tomita (1965) sobre sustituyentes metoxilados en bencilisoquinolinas, se estableció que la señal en NMR'H del metoxilo en la posición 6 aparece al rededor de 3.8 ppm (Fig. 15) y hacia campo bajo. Cuando los metoxilos están en la posición 7 las señales se presentan entre 3.5 y 3.6 ppm; finalmente los metoxilos en 4' se presentan de 3.75 hacia campo bajo. Por ejemplo la dauricinolina (1 de la Fig. 16) presenta dos metoxilos alrededor de 3.6 y uno de 3.8; la dauricolina (2 de la Fig. 16) presenta dos metoxilos alrededor de 3.6 y la espinidina (3 de la Fig. 16) presenta un metoxilo en 3.6 y uno en 3.8.

Como en nuestro espectro RMN tenemos sólo una señal entre 3.5 y 3.6 estando las otras dos señales más abajo de 3.75 (3.75 y 3.8), podemos inferir que tenemos dos metoxilos en la posición 6 de ambos sistemas bencilisoquinolinicos (ambas señales a campo más bajo) y un metoxilo en la posición 7 (3.56 ppm), de tal manera que la estructura propuesta es la representada en la Fig. 13 (90).

El peso molecular obtenido a partir del espectro de masas

efectuado por ionización química confirmó el peso calculado para la estructura propuesta.



Análisis del espectro de ^1H RMN

Las señales de los monómeros bencilisoquinolínicos de los BBI se superponen, principalmente en la zona de los aromáticos. No obstante esto, se puede intentar la asignación de las señales en el espectro con un buen rango de seguridad. (Guinaudeau, 1986). Las señales espectroscópicas de los BBI son independientes de la estereoquímica de los protones quirales 1 y 1'.

La señal de N-metilo que se localiza a campo más alto corresponde a la parte izquierda de la molécula debido a la especial distorsión que sufre esta parte por una unión etérea C-11, C-12'. La señal que corresponde a C-8 está a campo más bajo que la C-8' y su desplazamiento a 6.32 ppm confirma la ubicación del oxhidrilo en la posición C-7' según Guinaudeau (1986). El desplazamiento químico del metoxilo en C-7' corresponde a la señal de los metoxilos desplazada a campo más alto según Tomita (1969). Los protones en C-10', C-11', C-13' y C-14' se presentan como dos dobletes que corresponden a dos protones cada uno con un $J = 8.2$ Hz y finalmente se puede apreciar un sistema ABX formado por los protones C-10, C-13 y C-14 en los cuales la señal de C-10 aparece como un singulete de tal manera que las asignaciones quedan como se indica en la figura 17.

ALCALOIDE Ia

Las constantes espectroscópicas del alcaloide Ia se resumen en la Tabla 16.

El espectro de IR (espectro 5) muestra absorción para OH (centrada en 1460 amplia) y no hay absorción para carbonilo.

El patrón de fragmentación obtenido en el espectro de masas por impacto electrónico (espectro 6) muestra dos señales (206 y 192) que nos indican que la estructura de este alcaloide es del tipo bisbencilisoquinolínico diferente al alcaloide Ib. Las señales entre m/z 39 y m/z 76 son atribuibles a una cadena hidrocarbonada.

En el espectro de RMN (espectro 7) se puede apreciar dos señales N-Me, 3 metoxilos y probablemente dos oxhidrilos. También se pueden apreciar a campo alto (entre 0.7 y 2 ppm) señales correspondientes a una cadena hidrocarbonada. Puede intentarse definir el patrón de sustitución de este tipo de alcaloides analizando la zona de protones aromáticos (Guinaudeau, 1986). En esta zona, en la señal múltiple que integra para 10 protones, no aparecen las señales características del sistema ABq que producen los protones 10', 11', 13' y 14' del anillo F (Fig. 17) por otro lado, la señal a 6.31 ppm del protón en 8 está muy desplazada a campo bajo. La ausencia de la señal alrededor de 6.15 que correspondería al protón en 8' indicaría una sustitución en esta posición uniendo las cabezas de los monómeros. La cantidad de sus-

tancia aislada, así como su inestabilidad, imposibilitó, por lo pronto, obtener un mejor espectro de masas corrido por ionización química y repetir el espectro de RMN, lo que imposibilitó su caracterización.

TABLA 16

ALCALOIDE Ia

IR (cm^{-1}) 3460, 2945, 1625, 1455, 1280, 1240

m/z (%) 206 (16), 192 (22), 164 (11), 149 (32), 135 (15), 121 (16), 108 (10), 106 (13), 97 (11), 83 (17), 82 (36), 76 (11), 59 (22), 57 (23), 54 (30), 52 (13), 44 (48), 43 (100), 42 (43), 39 (24)

NMR (ppm)

2.26	3H	N-Me
2.31	3H	N-Me
3.5	3H	O-Me
3.66	6H	2(O-Me)
6.31-7.1	10H	Aromáticos

IDENTIFICACION DEL ACIDO ARISTOLOQUICO

Las constantes del ácido aristolóquido se resumen en la Tabla 18.

El espectro de UV (espectro 8) muestra el patrón de absorción característica de un sistema fenantrénico (Shamma, 1978).

En el espectro IR (espectro 9) aparece la absorción originada por un grupo carbonilo probablemente de ácido (1690 cm^{-1}) ya que este compuesto fue obtenido en la fracción ácida y dos señales características de grupo nitro (1530 y 1325 nm).

Con estos datos y considerando que el compuesto se extrajo utilizando un método característico para ácidos carboxílicos, podemos afirmar que se trata del derivado ácido de un núcleo fenantrénico lo que se confirma con las señales obtenidas en el espectro de RMN (espectro 10) sobre el que se realizó un estudio de irradiación para confirmar la procedencia del grupo metoxilo.

En el espectro de ^1H RMN se puede apreciar una señal para los tres protones de un metoxilo a 4.04 ppm y la señal de los dos protones de un grupo metilendioxi a 6.4 ppm ; ambas señales son características estructurales del ácido aristolóquico. Restaba determinar la posición del metoxilo en el anillo fenantrénico, las señales de los protones aromáticos muestran un claro sistema ABC con $J=8\text{ Hz}$ lo cual ubica inequívocamente al metoxilo en la posición 8 o sea identificando este compuesto como ácido aristolóquico.

TABLA 17

ACIDO ARISTOLOQUICO

PF 280 °C (DMF-H₂O)

UV (mm): 250, 323 nm

IR (cm⁻¹) 3420, 1690, 1530, 1345

NMR (ppm)

4.04	3H	OMe
6.4 s	2H	O-CH ₂ -O
7.22 d (J=8Hz)	1H	H-C ₇
8.48 d (J=8Hz)	1H	H-C ₅
7.70 t (J=8Hz)	1H	H-C ₆
7.80 s	1H	H-C ₂

CONCLUSIONES

Existe una amplia tradición en medicina herbolaria en nuestro país que justifica el estudio fitoquímico y farmacológico de las especies que vegetan en él y que se usan con fines curativos. De las más de 40 especies de Aristolochia que se encuentran en México, solo tenemos noticia de dos informes sobre composición química de estas plantas provenientes de laboratorios mexicanos (Maldonado, 1966 y Enríquez, 1982), de tal manera que parece importante incrementar el trabajo en torno a este género usado tan ampliamente en algunas zonas.

En la revisión botánica del género Aristolochia que publicó Pfeifer en 1966, establece que las especies endémicas de México y sur de los estados Unidos son pentandras, mientras que las especies endémicas del centro y norte de Estados Unidos y Canadá poseen seis estambres o más. Por otro lado sabemos que el ácido aristolóquico es considerado como marcador taxonómico de la familia Aristolochiaceae, ya que con muy pocas excepciones, las más o menos cincuenta especies estudiadas del género en todo el mundo poseen este alcaloide, por lo tanto resulta interesante el estudiar comparativamente la concentración de ácido aristolóquico en las especies endémicas de México (con cinco estambres) y en las llamadas especies exóticas (provenientes de otras partes del mundo y aclimatadas en nuestro país) con más de cinco estambres.

También sería interesante establecer un posible patrón de comportamiento en cuanto a contenido químico tomando en cuenta el número de estambres de la especie estudiada.

En cuanto a las excepciones mencionadas en la literatura como A. cymbifera (Munavalli, 1969) y A. triangularis (Ruecker, 1981), plantas en las que no fué encontrado ácido aristolóquico; Carreras en 1973 dice que se debe intentar el proceso de una gran cantidad de planta para encontrar aunque sea una pequeñísima cantidad de esta sustancia que ratifique su papel como marcador quimiotaxonómico.

Los usos que les dan a estas plantas en todo el mundo son más o menos uniformes con la gran excepción, ya mencionada y es que en América, los guacos no se usaron, ni popularmente se usan, con efectos uterocinéticos, siendo que por estos efectos la familia recibió su nombre en Europa.

Puede ser que por razones fenológicas el efecto sea endémico, ó producto relacionado con número de estambres. También puede suceder que en América se cuente con plantas que contienen sustancias uterocinéticas más potentes.

Es también notorio que en México, Hernández (1959) mencione estas plantas como antitumorales y en Europa Dioscórides (Font Quer, 1980) no menciona este uso. Esto es además notorio por el hecho de que actualmente la mayor cantidad de investigación sobre aristoloquias esta relacionada con el efecto antineoplásico.

Los productos naturales que poseen un grupo nitro en

su molécula son muy raros y se puede afirmar que este grupo en el ácido aristolóquico, es el responsable de la actividad antibiótica y antiprotozoica, ya que compuestos con el mismo grupo, presentan similares actividades tal es el caso del cloranfenicol, antibiótico de amplio espectro obtenido de los actinomicetos del género Streptomyces y la azomicina (2 nitroimidazol). Este efecto es compartido por algunas sustancias sintéticas como el metronidazol, notable por su actividad antiprotozoica.

En este sentido parece que el ácido aristolóquico también posee cierta propiedad alelopática sobre plantas del género Allium. (Carreras, 1973) y resultó ser un buen herbicida natural, a tal grado que una compañía japonesa patentó una formulación a base de ácido aristolóquico para controlar el crecimiento de hierbas en cultivos de gramíneas (Myakado, 1984). Obviamente toda esta actividad biológica del ácido aristolóquico proviene de su capacidad mutagénica. Por lo mismo es importante resaltar que la Oficina Federal de Salud de Alemania Federal retiró la licencia a todos los fármacos que contenían ácido aristolóquico por sospechar que este compuesto es un potente carcinógeno. A este fin Abel y colaboradores (1983) investigaron las aberraciones cromosómicas producidas in vitro sobre linfocitos humanos, inducidas por ácido aristolóquico; encontrando un severo incremento en su frecuencia lo que parece avalar la medida tomada por la Oficina de Salud.

No obstante ésto, los preparados a base de extractos de aristoloquias y de otras muchas plantas son muy frecuentemente usados en medios rurales y ciudadanos marginales, por no hablar de un uso generalizado de este tipo de "fármacos" . Esto lleva a plantearnos la cuestión del control de estos medicamentos y su uso indiscriminado, no sin antes apuntar que la concentración de una sustancia de esta naturaleza en un preparado puede ser tan baja que no llegue a producir un daño cromosómico en las células de las personas que lo ingieren. Todo parece ser un problema de evaluación de la relación riesgo-beneficio.

En términos generales los estudios farmacológicos efectuados alrededor del mundo sustentan los usos medicinales de las plantas del género aristoloquia. En la introducción de este trabajo se señalaron los 4 tipos de usos tradicionales que se dan a estas plantas, a saber: actividades antibiótica y antiprotozoica que ya se discutieron en el párrafo anterior, actividad alexitere, actividad uterocinética y actividad antitumoral. De estos cuatro tipos de usos, el que esta menos demostrado es la actividad alexitere y sería de gran interés profundizar en esta área de investigación dado el gran problema de salud que representan las mordeduras de serpiente y las picaduras de alacrán en la llamada "tierra caliente" de nuestro país y de otras zonas. Lo mismo se puede apuntar sobre el problema de disentería; contra la que también son ampliamente usadas estas plantas.

Desde el punto de vista de la formación de los compuestos nitrogenados que presentan estas plantas, es de destacar que una misma ruta biosintética produzca compuestos ácidos y alcalinos sin mencionar las sales cuaternarias de amonio. En este punto, aunque se conoce básicamente la ruta biosintética que conduce a la formación de estos alcaloides; aún hay un paso no investigado que es la formación de la aristolactama; parece ser más natural una oxidación a nitro y ácido carboxílico a partir de un anillo lactámico que la formación de éste por una reducción de aquellos. No obstante cabe apuntar que Schmeiser (1986) aisló derivados lactámicos metabolizados en hígado de rata provenientes de los respectivos ácidos aristolóquicos suministrados al animal.

Dada la variedad de efectos farmacológicos demostrados para los tipos de alcaloides presentes en estas plantas, a saber: aporfínicos, dioxoaporfínicos, fenantrénicos y nitrofenantrénicos, bencilisoquinolínicos y bisbencilisoquinolínicos, no es de extrañar y se justifica plenamente, el que estas plantas tengan tan amplia gama de usos populares.

Por último, es importante destacar el hecho de que los alcaloides bisbencilisoquinolínicos, cuya presencia se ha comprobado en este trabajo, son dos de los únicos seis alcaloides BBI reportados en esta familia. No obstante, podemos aventurar la afirmación de que este tipo de alcaloides son más frecuentes en esta familia de lo que hasta ahora hemos pensado.

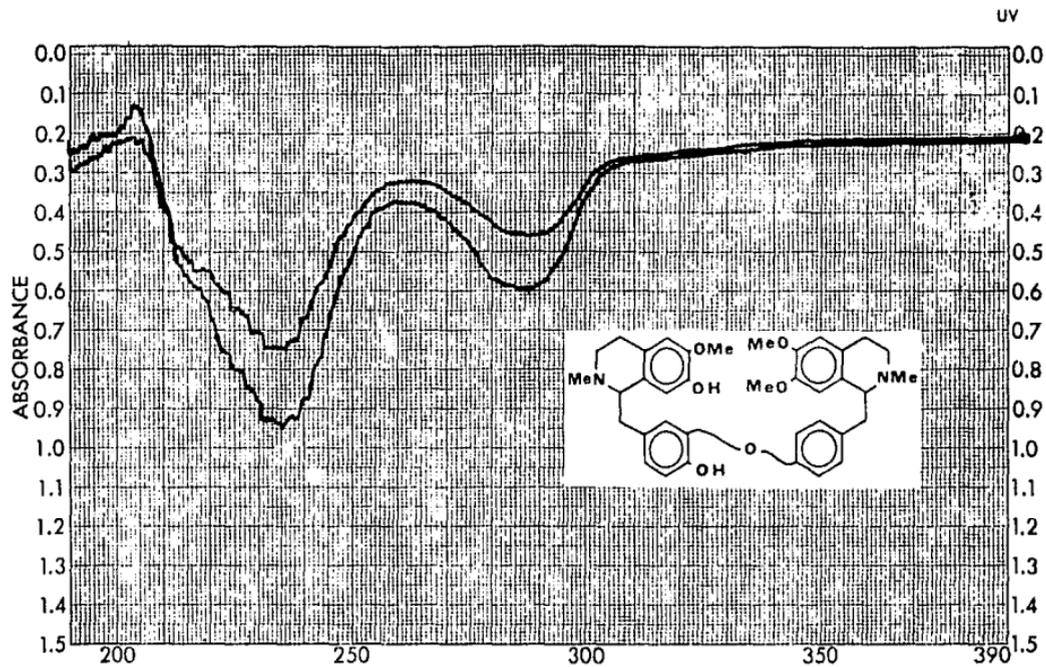
Existen informes en la literatura de trabajos en los que se reporta la presencia de alcaloides que no llegaron a identificarse, presentes en estas plantas; por ejemplo, en A. triangularis (Ambros, 1971), A. bracteata (Hussein, 1969), A. baetica (Carreras, 1976) y A. elegans (Hussein, 1974).

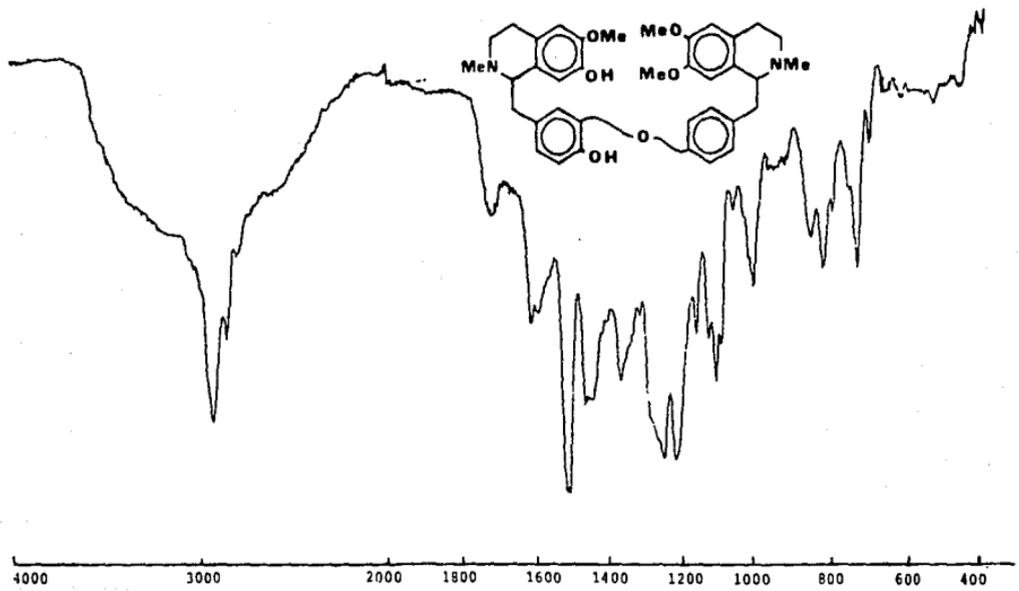
Un ejemplo de lo anterior se encuentra en el informe que Hussein publicó en 1974 sobre el contenido químico de A. elegans, y en el que mencionó la existencia de cinco bases que no pudieron ser identificadas. Diez años después, uno de sus colaboradores (El-Sebakhy 1984) como consecuencia de trabajos farmacológicos y fitoquímicos desarrollados con extractos de esta planta, pudo establecer la estructura de uno de esos alcaloides que se constituyó en la segunda bisbencilisoquinolina reportada para esa familia.

Asimismo, Ruecker (1985) quien estableció la estructura del tercer alcaloide de tipo BBI en el género (A. debilis) deja también en el tintero la identificación de otra base en la misma planta, que asegura es de naturaleza bisbencilisoquinolínica.

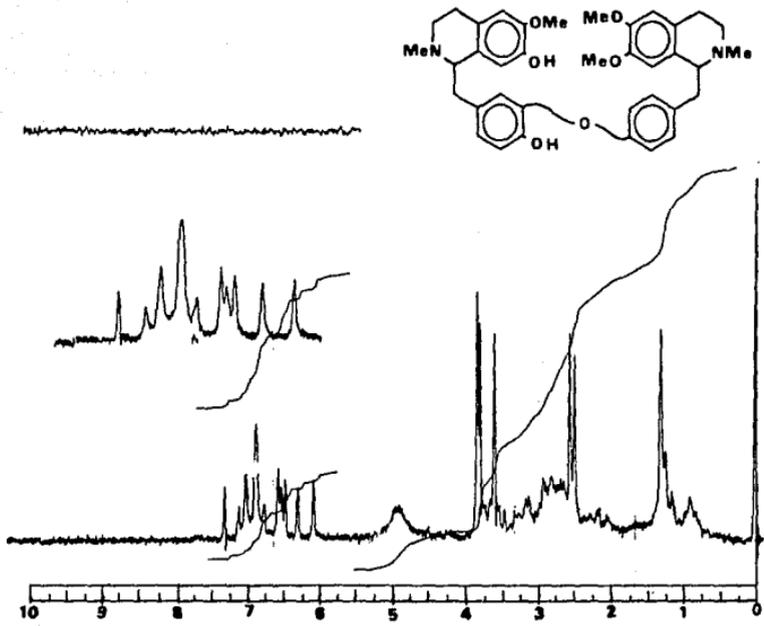
Esta situación es notoria pero explicable dada la dificultad que representa asignar la estructura de este tipo de alcaloides y porque el mayor interés puesto en estas plantas se ha dirigido, hasta hoy, hacia el contenido de ácido arisotolúico y sus derivados, que como se dijo ha probado ser el responsable de la actividad antitumoral. Existe la circunstancia de que no se ha podido establecer una ruta comer-

cialmente adecuada para la síntesis de ácido aristolóquico. Por lo que se continúa buscando una especie de alto rendimiento. (Quedan aún más o menos 300 especies de Aristolochia por estudiar). Esto ha dado como resultado que la tendencia actual sea la de trabajar principalmente con la fracción ácida y neutra y en menor grado la fracción alcaloidea sólo a las bases de tipo aporfínico cuyo ejemplo más notable presente en estas plantas es la magnoflorina.





ESPECTRO 2



ESPECTRO 3

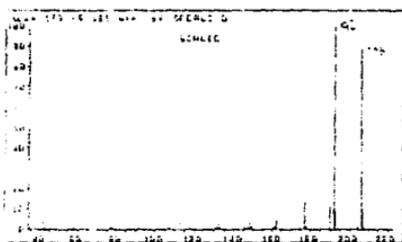
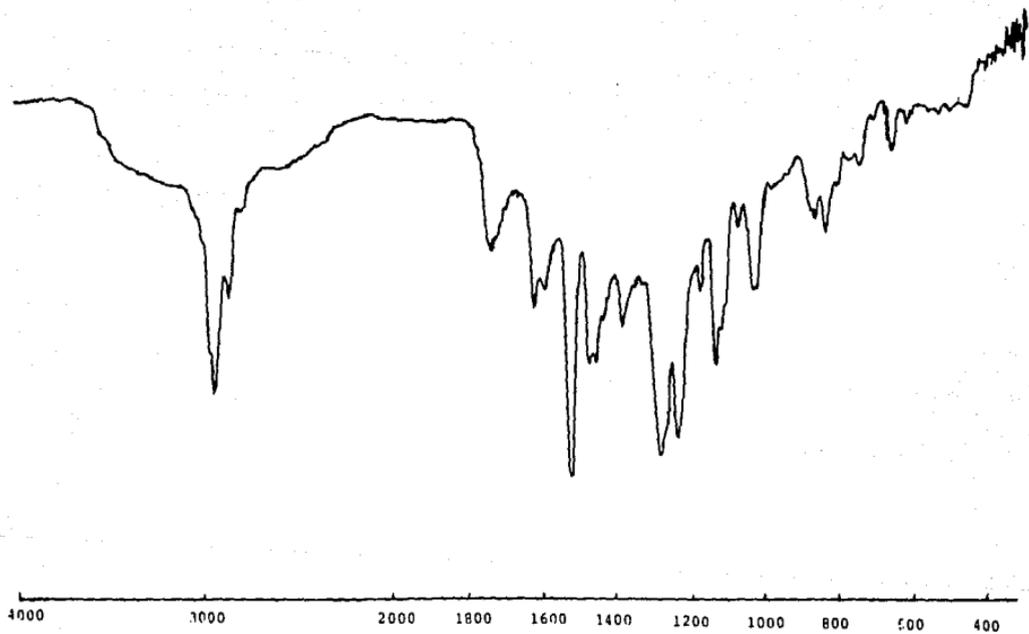
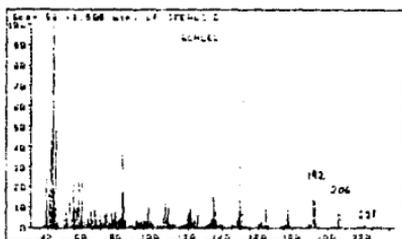


Table 1. Mass data of SCHLEIC

m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.
41.02	1	90.95	2	147.00	1	176.00	2
43.02	5	104.95	1	149.00	5	190.00	11
45.02	1	137.05	2	149.00	2	192.00	100
46.02	2	152.05	1	160.00	1	192.00	10
55.02	1	167.05	1	167.00	2	194.00	1
77.02	1	21.07	1	171.00	4	204.00	2
78.95	2	133.05	1	174.00	1	206.00	39
91.02	1	145.00	2	175.00	1	207.00	12
105.02	1	156.00	1	177.00	12	222.00	1



ESPCTRO 5

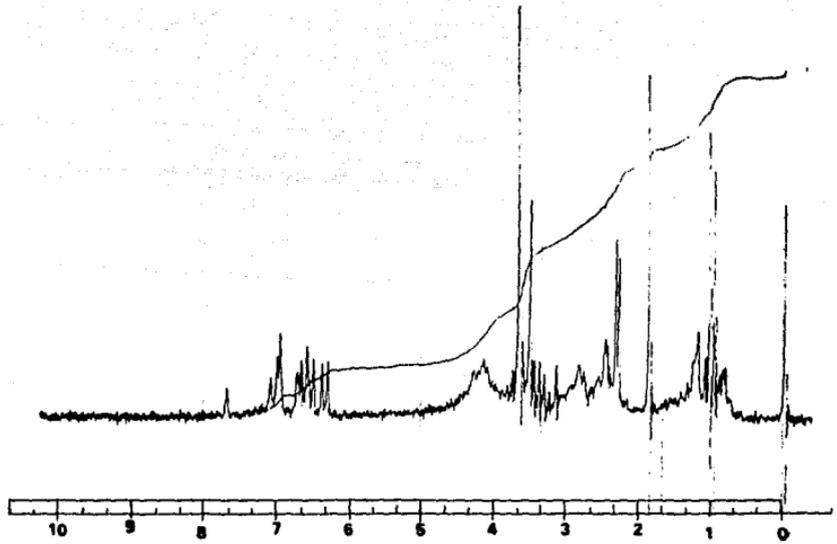


ESPECTRO 6

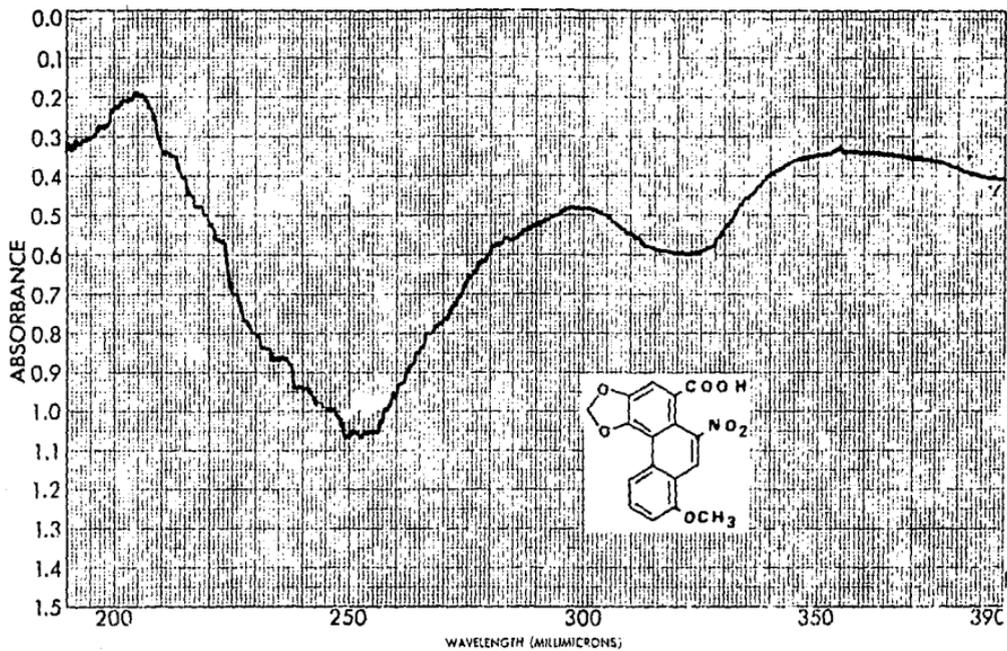
Scan 92 (3.509 min) of OFEAL.D
ALCALOIDE

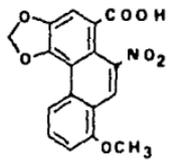
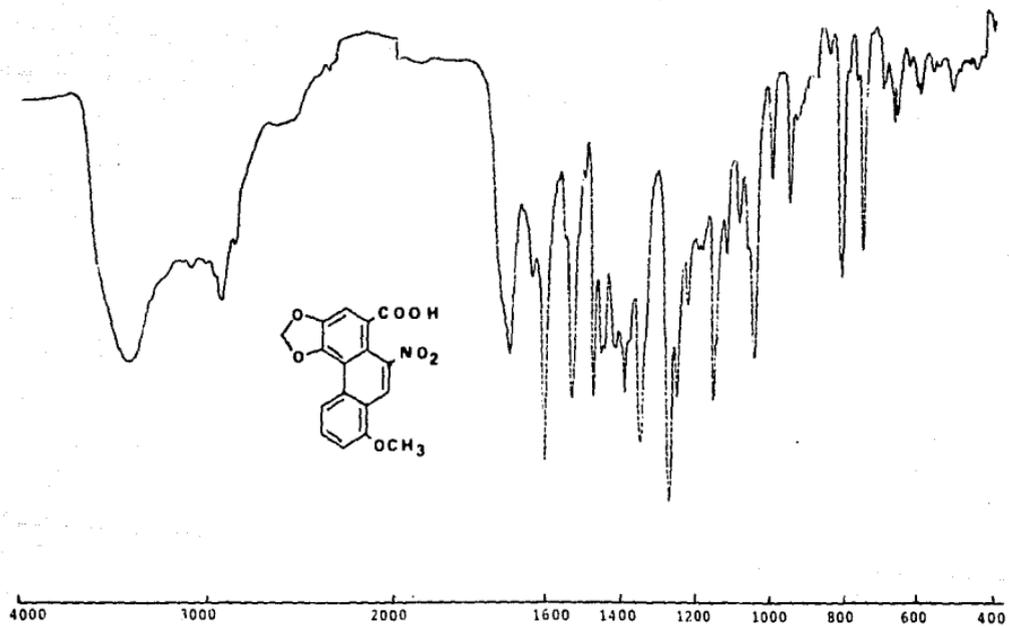
m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.
42.00	1	73.95	2	102.05	10	141.00	1
58.00	3	74.95	3	103.95	2	141.00	1
66.00	24	75.95	1	104.05	2	141.00	1
82.00	5	76.95	11	107.95	2	143.00	1
98.00	19	77.95	4	108.95	1	143.00	1
114.00	43	78.95	2	109.05	1	143.00	1
130.00	100	79.95	3	110.05	1	143.00	1
146.00	18	80.95	4	115.95	1	143.00	1
162.00	42	81.95	5	116.05	1	143.00	1
182.00	3	82.95	26	117.05	2	143.00	1
198.00	1	83.95	11	122.05	7	143.00	1
206.00	8	84.95	4	123.05	10	143.00	1
228.00	4	85.95	1	124.05	5	143.00	1
		86.95	13	125.05	2	143.00	1
		87.95	4	126.05	4	143.00	1
		89.95	30	127.05	2	143.00	1
		90.95	9	128.05	5	143.00	1
		91.95	10	129.05	1	143.00	1
		92.95	27	131.95	1	143.00	1
		93.95	5	132.05	1	143.00	1
		94.95	22	133.05	1	143.00	1
		95.95	3	134.05	2	143.00	1
		96.95	2	135.05	1	143.00	1
		97.95	4	136.95	1	143.00	1
		98.95	1	137.05	1	143.00	1
		99.95	4	138.05	2	143.00	1
		100.95	1	139.05	1	143.00	1
		101.95	2	140.05	1	143.00	1
		102.95	1	141.05	1	143.00	1
		103.95	4	142.05	2	143.00	1
		104.95	1	143.05	1	143.00	1
		105.95	1	144.05	1	143.00	1
		106.95	2	145.05	1	143.00	1
		107.95	4	146.05	1	143.00	1
		108.95	1	147.05	1	143.00	1
		109.95	1	148.05	1	143.00	1
		110.95	1	149.05	1	143.00	1
		111.95	1	150.05	1	143.00	1
		112.95	1	151.05	1	143.00	1
		113.95	1	152.05	1	143.00	1
		114.95	1	153.05	1	143.00	1
		115.95	1	154.05	1	143.00	1
		116.95	1	155.05	1	143.00	1
		117.95	1	156.05	1	143.00	1
		118.95	1	157.05	1	143.00	1
		119.95	1	158.05	1	143.00	1
		120.95	1	159.05	1	143.00	1
		121.95	1	160.05	1	143.00	1
		122.95	1	161.05	1	143.00	1
		123.95	1	162.05	1	143.00	1
		124.95	1	163.05	1	143.00	1
		125.95	1	164.05	1	143.00	1
		126.95	1	165.05	1	143.00	1
		127.95	1	166.05	1	143.00	1
		128.95	1	167.05	1	143.00	1
		129.95	1	168.05	1	143.00	1
		130.95	1	169.05	1	143.00	1
		131.95	1	170.05	1	143.00	1
		132.95	1	171.05	1	143.00	1
		133.95	1	172.05	1	143.00	1
		134.95	1	173.05	1	143.00	1
		135.95	1	174.05	1	143.00	1
		136.95	1	175.05	1	143.00	1
		137.95	1	176.05	1	143.00	1
		138.95	1	177.05	1	143.00	1
		139.95	1	178.05	1	143.00	1
		140.95	1	179.05	1	143.00	1
		141.95	1	180.05	1	143.00	1
		142.95	1	181.05	1	143.00	1
		143.95	1	182.05	1	143.00	1
		144.95	1	183.05	1	143.00	1
		145.95	1	184.05	1	143.00	1
		146.95	1	185.05	1	143.00	1
		147.95	1	186.05	1	143.00	1
		148.95	1	187.05	1	143.00	1
		149.95	1	188.05	1	143.00	1
		150.95	1	189.05	1	143.00	1
		151.95	1	190.05	1	143.00	1
		152.95	1	191.05	1	143.00	1
		153.95	1	192.05	1	143.00	1
		154.95	1	193.05	1	143.00	1
		155.95	1	194.05	1	143.00	1
		156.95	1	195.05	1	143.00	1
		157.95	1	196.05	1	143.00	1
		158.95	1	197.05	1	143.00	1
		159.95	1	198.05	1	143.00	1
		160.95	1	199.05	1	143.00	1
		161.95	1	200.05	1	143.00	1
		162.95	1	201.05	1	143.00	1
		163.95	1	202.05	1	143.00	1
		164.95	1	203.05	1	143.00	1
		165.95	1	204.05	1	143.00	1
		166.95	1	205.05	1	143.00	1
		167.95	1	206.05	1	143.00	1
		168.95	1	207.05	1	143.00	1
		169.95	1	208.05	1	143.00	1
		170.95	1	209.05	1	143.00	1
		171.95	1	210.05	1	143.00	1
		172.95	1	211.05	1	143.00	1
		173.95	1	212.05	1	143.00	1
		174.95	1	213.05	1	143.00	1
		175.95	1	214.05	1	143.00	1
		176.95	1	215.05	1	143.00	1
		177.95	1	216.05	1	143.00	1
		178.95	1	217.05	1	143.00	1
		179.95	1	218.05	1	143.00	1
		180.95	1	219.05	1	143.00	1
		181.95	1	220.05	1	143.00	1
		182.95	1	221.05	1	143.00	1
		183.95	1	222.05	1	143.00	1
		184.95	1	223.05	1	143.00	1
		185.95	1	224.05	1	143.00	1
		186.95	1	225.05	1	143.00	1
		187.95	1	226.05	1	143.00	1
		188.95	1	227.05	1	143.00	1
		189.95	1	228.05	1	143.00	1
		190.95	1	229.05	1	143.00	1
		191.95	1	230.05	1	143.00	1
		192.95	1	231.05	1	143.00	1
		193.95	1	232.05	1	143.00	1
		194.95	1	233.05	1	143.00	1
		195.95	1	234.05	1	143.00	1
		196.95	1	235.05	1	143.00	1
		197.95	1	236.05	1	143.00	1
		198.95	1	237.05	1	143.00	1
		199.95	1	238.05	1	143.00	1
		200.95	1	239.05	1	143.00	1
		201.95	1	240.05	1	143.00	1
		202.95	1	241.05	1	143.00	1
		203.95	1	242.05	1	143.00	1
		204.95	1	243.05	1	143.00	1
		205.95	1	244.05	1	143.00	1
		206.95	1	245.05	1	143.00	1
		207.95	1	246.05	1	143.00	1
		208.95	1	247.05	1	143.00	1
		209.95	1	248.05	1	143.00	1
		210.95	1	249.05	1	143.00	1
		211.95	1	250.05	1	143.00	1
		212.95	1	251.05	1	143.00	1
		213.95	1	252.05	1	143.00	1
		214.95	1	253.05	1	143.00	1
		215.95	1	254.05	1	143.00	1
		216.95	1	255.05	1	143.00	1
		217.95	1	256.05	1	143.00	1
		218.95	1	257.05	1	143.00	1
		219.95	1	258.05	1	143.00	1
		220.95	1	259.05	1	143.00	1
		221.95	1	260.05	1	143.00	1
		222.95	1	261.05	1	143.00	1
		223.95	1	262.05	1	143.00	1
		224.95	1	263.05	1	143.00	1
		225.95	1	264.05	1	143.00	1
		226.95	1	265.05	1	143.00	1
		227.95	1	266.05	1	143.00	1
		228.95	1	267.05	1	143.00	1

Varian Instrument Division



ESPECTRO 7





ESPECTRO 9

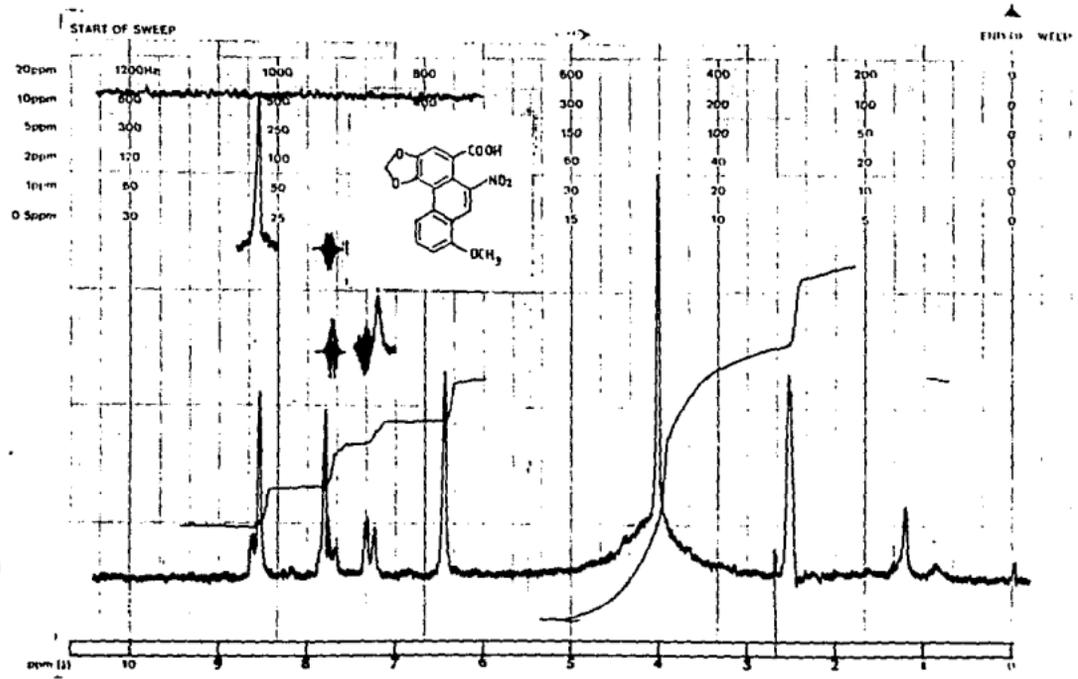
MODEL A-60

CHIEF OF SALES



varian instruments

palto s llo california



ESPECTRO 10

EM-360 60 MHz NMR SPECTROMETER

101

A P E N D I C E I

CONTENIDO QUIMICO DE LAS PLANTAS DEL GENERO ARISTOLOCHIA

CONTENIDO QUIMICO DE LAS PLANTAS DEL GENERO ARISTOLOCHIA*

ESPECIE	COMPUESTOS AISLADOS
<u>A. acuminata</u>	Ac. aristolóquicos I y D ¹¹⁵
<u>A. albida</u>	Fargesina ⁴⁹
<u>A. argentina</u> Gris.	Ac. aristolóquicos I, II, III, IV, D ¹³⁶ , V, Va, VIa, VIIa, 7-hidroxi-A.A.I, aristolósido ¹⁴⁴ , A.A.I-Me éster, A.A.II-Me éster, A.A.Ia ¹⁴¹ Aristolactamas I ¹³⁸ , AII, AIII, BII, BIII ²⁵ , III, IIIa, AIIIa, Ia, AIIa ¹⁴² , 3-hidroximetil-2,4-dimetoxi-A.Ama, 3-hidroximetil-2,4,6-trimetoxi-A.Ama, 2-hidroxi-4-metoxi-A.Ama, 2-hidroxi-4,6-dimetoxi-A.Ama ¹⁴³ , magnoflorina ¹⁵² , argentinina ^{139 137} , argenticlactona ¹⁴⁰ , A.A.I ¹⁵³ .
<u>A. astrozechuanica</u>	Magnoflorina, β -sitosterol ⁵¹
<u>A. badamae</u>	Ac. aristolóquico I ¹⁵⁹
<u>A. baetica</u>	Ac. aristolóquico I, magnoflorina ¹⁸
<u>A. bracteata</u> Retz.	Ac. aristolóquico I, rojo de aristoloquia, magnoflorina ⁷⁸⁻¹⁵⁵⁻⁸¹ , β -sitosterol, ácidos oléico, mirístico, palmítico, lignocérico y esteárico ¹¹⁰⁻¹⁵⁵ .
<u>A. cinabaria</u>	Ac. aristolóquico I, tuberosinona y tuberosinona-N- β -D-glucósido ²⁶ .

*Aquí se hace una revisión de los compuestos reportados para este género hasta Nov. de 1989. Revisiones anteriores fueron hechas por Mounavalli (1969) y Mix (1982). Para ahorrar espacio se han usado las siguientes abreviaturas, en algunos casos. A.A. para ácido aristolóquico y Ama para aristolactama. Los diferentes ácidos aristolóquicos están separados por comas así: Ácidos aristolóquicos I, II, III, E, etc., en lugar de Ac. Aristolóquido I, Ac. Aristolóquico II, etc.

CONTENIDO QUIMICO DE LAS PLANTAS DEL GENERO ARISTOLOCHIA (Cont.)

ESPECIE	COMPUESTOS AISLADOS
<u>A. clematitis</u> L.	Ac. aristolóquicos I, II ^{121, 124, 67, 158} , III, IV ¹²⁴ , D ¹⁵³ , magnoflorina ¹²² , β -sitosterol, alcohol cetílico, colina, trietilamina, dihidroxifenilalanina, ácidos málico, cítrico, caféico, paracumárico, sinápico y quínico, alantoina ^{131a} , ácidos palmítico, esteárico, oléico, linoleico, linolénico, láurico y araquídico ¹⁹ , A.A.I ^{también 70, 76, 76a, 1}
<u>A. contorta</u>	Ac. aristolóquicos I, E, magnoflorina, alantoina, β -sitosterol y daucasterol ^{57, 58} .
<u>A. cymbifera</u> Mart.	Alantoina y ác. cymbiférico ⁴⁷ .
<u>A. championi</u>	Ac. aristolóquicos I, IV-Me éster, alantoina, β -sitosterol, 3,4-metilendioxi-6,8-dimetoxi-1-carbometoxifenantreno ^{54, 55, 52} .
<u>A. chilensis</u>	Ac. aristolóquicos I y Ia ^{43, 189, 181} .
<u>A. debilis</u> Seib. et Zucc.	Ac. aristolóquicos I ^{187, 186, 122, 11, 176} , II ^{176, 132} , III, IV y A.A.-Me-éster A.A.B. ¹¹ , A.A.C. ¹⁹² , ác. debílico ^{177, 178} , 7-hidroxi-A.A., 7-metoxi-A.A. ¹⁹² , magnoflorina ^{17, 173} , tetrandrina ¹⁵⁰ , ciclanolina ¹⁷³ , 3-oxoiswarano δ^3 -aristolona, δ^1 12-aristolona ¹¹⁹ , además otros tres aristolano sesquiterpénicos oxidados ¹⁴⁹ , alantoina ^{176, 178} .
<u>A. durior</u> Hill. (Sin. A. siph. L'Herit)	Ac. aristolóquicos I y II ^{12, 21} ; rutina, isoquercetina, ramnóxido de kaemferol, glucósidos de quercetina y ácido caféico ⁷³ , flavonoides y ésteres de los ácidos gentísico, caféico y ferúlico, esculetina y pinitol ¹³² , ácidos palmítico, esteárico, oléico, linoleico y linolénico ¹³ .

CONTENIDO QUIMICO DE LAS PLANTAS DEL GENERO ARISTOLOCHIA (Cont.)

ESPECIE	COMPUESTOS AISLADOS
<u>A. elegans</u> M.T. Most	Ac. aristolóquico I ¹⁵⁹ , (-)-(R,R)-7'-O-metilcuspidalina ⁴⁵ (un alcaloide bisbencilisoquinolínico), β -sitosterol y 5 alcaloides no identificados ent-kauran-16 α ,17-diol y (-)-cubebina ⁷⁰ .
<u>A. esperanzae</u>	Ac. aristolóquidos I, II, III, IV y D, aristolactama I ¹³⁸ .
<u>A. fangchi</u>	Ac. aristolóquicos I ^{92,93} , B, C y aristolactama I ²⁴ , ác. aristolácticos IV-metilester y IV metil ester-metilester, magnoflorina, ác. paracumárico, mupinamida, ác. siríngico, ác. palmítico, N-(p-hidroxifenil)-p-cumarina y β -sitosterol ¹⁰² .
<u>A. fimbriata</u> Cham.	Ac. aristolóquico I ¹⁵⁹ .
<u>A. graffithii</u>	Ac. aristolóquico I ¹⁷⁶ .
<u>A. heterophylla</u>	Ac. aristolóquico I, magnoflorina, β -sitosterol, alantoina y ác. aristolóquico D ¹¹⁷ .
<u>A. indica</u>	Ac. aristolóquicos I ^{22,24,90,128,169,29} , D ^{90,128,29} , A.A.-Me éster ^{128,29} , aristolactamas I, II, 6-metil aristolactama ^{29,90} , aristolactama AII, aristolactama-N- β -D-glucósido ^{2,90,128,29} , aristolactama C N- β -D-glucósido, l-cumarina ⁶⁴ , una 4,5-dioxo porfina: 2-hidroxi-1-metoxi-4H-dibenzo (d, g) quinolina-4,5-(6H)-diona, β -sitosterol- β -D-glucósido ³ , cefaradiona A ^{3,29} , aristololido (lactama fenantrénica), 5 α -stigmastan-3,6-diona, (-)-cubebina, (-)-hinokanina ⁴ , stigmast-3-cl-5-en-7-ona, stigmast-4-en-3-ona-

CONTENIDO QUIMICO DE LAS PLANTAS DEL GENERO ARISTOLOCHIA (Cont.)

ESPECIE	COMPUESTOS AISLADOS
<u>A. indica</u> L. (Cont.)	6-ol , 3 β -hidroxi-stigmast-5-en-7-ona, 6 β -hidroxi-stigmast-4-en-3-ona , ác. 3,4-metilendioxi-8-metoxi-1-fenantrencarboxílico libre, metil éster, amida y el 6-metoxi derivado del metilester ¹²⁸ , ishwarona ⁶¹ , ishwarol ⁶⁵ , (12S)-7-12-secoishwaran-12-ol, (+)-ledol ²⁹⁻¹²⁹ , aristolindiquinona ²⁸ , alantoina ¹⁶⁹ , 5 β H,7 β ,10 α -selina-4(14),11-dieno ⁶⁶ , alcohol cerílico, B-sitosterol, triglicéridos de los ác. palmítico, oléico, estéarico, lignocérico, cerótico y linoleico ⁸⁷ , savinina, ledol, B-sitosterol, stigmasterol, cefaradiona A, aristolindiquinona, magnoflorina ²⁹ , Me- ester del ác. 12-nonacosenoico ¹⁰⁴ , ác. 12-nonacosenoico ¹⁰⁵ .
<u>A. italicay</u>	Ac. aristolóquico I ⁶⁷ .
<u>A. kaempferi</u> Willd	Ac. aristolóquico I, magnoflorina ¹⁷² .
<u>A. kwangsiensis</u>	Ac. aristolóquico I ⁵²⁻⁴⁸⁻⁵³⁻¹⁶³ IV Me-ester ⁴⁸ , 3,4-metilendioxi-6,8- dimetoxi-fenantren-1-metilester, alantoina, B-sitosterol ⁴⁸⁻⁵³ .
<u>A. longa</u> L.	Ac. aristolóquico I ¹⁵⁸ , II ³⁴⁻²⁴⁻⁶²⁻¹⁵⁸ , IV ³⁴ , II con CONHCHMeCO ₂ H en C-1 ³⁴ , piranos, B-carlofileno, linalool, acetato de bornilo, los sesquiterpenos tetracíclicos: calareno, maaliol, y 1-(10)-aristolun-2-ona ¹⁵ , polipre- noles, ácidos grasos y sus ésteres metílico, etílico, isobutílico y fitílico ³⁴ .
<u>A. macedonica</u>	magnoflorina ¹⁷⁴ .

CONTENIDO QUIMICO DE LAS PLANTAS DEL GENERO ARISTOLOCHIA (Cont.)

ESPECIE	COMPUESTOS AISLADOS
<u>A. manshuriensis</u> Kom.	Ac. aristolóquicos I ¹⁴⁶⁻¹⁰⁰⁻¹¹⁸ , II ¹⁴⁶ , IV y D ¹⁰⁰⁻¹¹⁸ , aristolósido ¹⁰⁰⁻¹¹⁸⁻¹²⁰ , ác. debílico ¹⁴⁶ , magnoflorina y β -sitosterol ¹⁰⁰ .
<u>A. maurorum</u>	Ac. aristolóquico ⁹⁴⁻⁹⁵ .
<u>A. maxima</u> L.	Ac. aristolóquico I ⁶² .
<u>A. mollissima</u>	Ac. aristolóquico I ⁹⁷⁻¹⁰¹⁻⁵⁶⁻¹¹³⁻¹⁸³⁻⁹⁵ , D ¹¹³ , aristolactama I y 6-metoxi-aristolactama I ¹⁰¹ , aristolactona ⁹⁶⁻¹⁰¹ , ác. vainillínico, palmitona, triacantanol, β -sitosterol, β -sitosterol-D-glucósido, ác. estedrico ¹⁰¹ , molislactona, allantoina, aristolactona y β -sitosterol ⁵⁶ .
<u>A. moupinensis</u> Franch.	Ac. aristolóquicos I ¹²⁻¹⁰³ , II, IV, IV Me-ester, IV Me-ester Me-ester ¹⁰³ , ác. aristolácticos IV Me-ester y IV Me-eter Me-ester ¹⁰² , magnoflorina, allantoina, β -sitosterol ¹²⁻¹⁰²⁻¹⁰² , mupinamida, ác. siríngico, ác. p-cumárico, ác. palmítico, N-(p-hidroxifenetil)-p-cumaramida ¹⁰²⁻¹⁰³ .
<u>A. multiflora</u>	Ac. aristolóquicos I y D ¹¹⁵ .
<u>A. ornithocephala</u> (Sin <i>A. brasiliensis</i> Mart.)	Ac. aristolóquico I ⁵⁹ .
<u>A. pallida</u>	Ac. aristolóquicos I, II y IV ¹³⁵ .
<u>A. pandurata</u> Jacq.	Ac. aristolóquico I ⁸⁷ .

CONTENIDO QUIMICO DE LAS PLANTAS DEL GENERO ARISTOLOCHIA (Cont.)

ESPECIE	COMPUESTOS AISLADOS
<u>A. radix</u>	Ac. aristolóquico I ⁹⁴ .
<u>A. reticulata</u> Nutt.	Ac. aristolóquico I y rojo de aristoloquia ²⁴⁻²³ , aristolactama ¹⁶⁷⁻¹⁶⁸ , isoramnetina ²⁴ , δ -sitosterol y δ -sitosterol-D-glucósido ²³ , reticulina, Δ^2 -careno, (-)-borneol ¹⁶⁷ (no hay informes posteriores a la revisión de Munavalli de 1967).
<u>A. rotunda</u> L.	Ac. aristolóquicos I ¹⁷⁻²³⁻¹³² , II, C. aristolactama I, δ -sitosterol y L. asparagina ¹⁷ .
<u>A. serpentaria</u> L.	Ac. aristolóquico I ²⁴⁻⁶²⁻³⁹ , rojo de aristoloquia ²⁴ , δ -sitosterol ⁸⁴ ,
<u>A. sipho</u> L'Herit	Ver A. durior Hill.
<u>A. taqala</u>	Ac. aristolóquicos I, C, 7-hidroxi-A.A.I, alantoina ⁹⁸ , 4,7-dimetil-6-metoxi-1-tetralona ¹²⁰ .
<u>A. taliscana</u> Hook et Arn.	Taliscanina (una aristolactama) ¹⁰⁸ , dihidroisoeugenol ⁸⁰ , (+)-licarina A, (-)-licarina B, eupomatenoide-7 y eupomatenoide-1 ⁶ .
<u>A. tomentosa</u> Sims.	Pinitol ¹³³ (no hay informes posteriores a la revisión de Munavalli de 1969)
<u>A. triangularis</u>	3,4-dimetoxi-3,4-desmetilendioxi-cubebina ¹⁴⁷⁻¹⁴⁸ , cubebina ¹⁴⁸⁻¹⁸⁵ , balbacina, 3',4'-dimetoxi-3',4'-desmetilendioxi-cubebina, los diterpenos (-)-kaur-16-en, (-)-kaur-16-en-18-al, (-)-kauran-16 α -ol-18-al,

CONTENIDO QUIMICO DE LAS PLANTAS DEL GENERO ARISTOLOCHIA (Cont.)

ESPECIE	COMPUESTOS AISLADOS
<u>A. triangularis</u> (Cont.)	(-)-16 α ,17-epoxi-kaurano, (-)-kaur-16-en-18-ol, (-)-kaur-15-en-17-ol, los triterpenos stigmast-4-en-3-ona, stigmastan-3,6-diona, stigmast-4-en-3,6-diona, los sesquiterpenos (-)- α -ylangeno, (-)- α -copaeno, (E)- β -farneseno, γ -elemeno, (E)-(R)-nerolidol y el ác. graso (-)-kaur-16-en-18-carboxílico ¹⁴⁸ , también se ha reportado la presencia de saponinas, gomas, mucílago, azúcares reductores, cetonas, taninos, carotenos y alcaloides ⁵ .
<u>A. tuberosa</u>	Ac. aristolóquicos I, C ^{1A8} , aristolactama-N- β -D-glucósido, aristolactama C-N- β -D-glucósido y su acetato y aristolactama C ³¹ , los alcaloides dioxoaporfínicos tuberosinona y su beta-D-glucósido ^{32,33} , aristolactama 1-N- β -D-glucopiranosido, aristolactama IIIa-N- β -D-glucopiranosido y aristolactama IIIa ³¹ .
<u>A. versicolor</u>	Ac. aristolóquicos I, 1-Me-ester, 6-metoxi-A.A.I-Me ester (A.A.IV Me-ester), stigmast-4-en-3,6-diona, stigmast-3,6-diona, β -sitosterol, β -sitosterol-D-glucósido, ác. esteárico ⁷⁷ , acetil-versicolactona B ⁸² ,
<u>A. watsonii</u>	Ac. aristolóquico C .
<u>A. westandii</u>	Ac. aristolóquico I, β -sitosterol, alantoina ¹¹¹ .
<u>A. zenkeri</u> Engl.	(-)-berneol, (-)-camfeno, ác. butírico y palmítico, alcohol cerílico, β -sitosterol, carotenos β -40 y β -41, y γ -crocetina ¹⁷ .

APENDICE 2

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA DE LOS ACIDOS ARISTOLOQUICOS

<u>PROCEDENCIA</u>	<u>TIPO DE EXPERIMENTO</u>	<u>RESULTADOS</u>	<u>Ref.</u>
A.A.I de <u>A. mollissima</u>	Estudios anticonceptivos en ratón	Demostó actividad anticonceptiva	95
A.A.I de <u>A. mollissima</u>	Efecto sobre la gravidez en rata o ratón	Efecto significativo anti-implantación e interrupción temprana de la preñez en ratón. No se observó el efecto en rata. No presentó actividad estrogénica ni antiestrogénica. Con progesterona exógena se evita la interrupción de la preñez. No se observaron cambios en la química sanguínea ni en funciones renales.	183
A.A.I	Exposición directa sobre granuloma de rata.	Alta frecuencia de mutantes con nivel relativamente bajo del coeficiente "Citostático/citotóxico".	
Metabolitos de A.A.I y A.A.II	Mutagenicidad sobre <u>Salmonella typhimurium</u>	Los metabolitos láctámicos formados en hígado de rata mostraron mutagenicidad positiva.	157
A.A.I de <u>A. acuminata</u> y <u>A. multiflora</u>	Determinación de citotoxicidad en células vegetales comparada con la que se presenta en células animales.	Gran actividad contra tumores celulares. En plantas sanas desarrolló tumores usando una concentración mayor. Se confirma su toxicidad en células animales.	
A.A.I de <u>A. radix</u>	Reacción con los venenos de serpientes de Formosa.	Es activo contra venenos de "Naja-Naja atra" y <u>Bungarus multicinctus</u> . No es activo contra otras 3 especies de serpientes.	94
A.A.I de <u>A. bracteata</u>	Actividad esterilizante sobre insectos.	Esterilizó parcialmente a <u>Dysdercus koenigii</u> , <u>Aedes aegypti</u> y <u>Tribolium castoreum</u> .	156

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA DE LOS ACIDOS ARISTOLOQUICOS

<u>PROCEDECIA</u>	<u>TIPO DE EXPERIMENTO</u>	<u>RESULTADOS</u>	<u>Ref.</u>
A.A.I	Control de hierbas indeseables en cultivos	Controló el crecimiento de <u>Stellaria media</u> , <u>Chenopodium album</u> , <u>Amaranthus retroflexus</u> , <u>Lindemia paxidaria</u> y <u>Setaria viris</u> . No mostró toxicidad a maíz ni a soya.	117
A.A.I	Toxicidad aguda	Necrosis del túbulo renal, atrofia de órganos linfáticos y grandes áreas de ulceración superficial en el estómago seguido de hiperplasia e hiperqueratosis del epitelio escamoso. El rango de LD ₅₀ es de 56 a 203 mg/Kg vía oral y 38 a 83 mg/Kg vía i.v. dependiendo de las especies y el sexo.	111

BIBLIOGRAFIA

1. Abel, G.; Schimmer, O. 1983. Induction of structural chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in human Lymphocytes in-vitro by Aristolochic acid. Hum. Genet. 64 (2), 131-133.
- 1a. Abdel, H.A.M.; Elsebaky, N. 1981. Ent-kaurane-16a, 17-diol and (-)-cubebin as natural products from *A. elegans*. Pharmazie, 36(4), 291-4.
2. Achari, B.; Chakrabarty, S.; Pakrashi, S.C. 1981. Studies on Indian medicinal plants (63) An N-glycoside and Steroids of *A. indica*. Phytochem. 20 (6), 1444-5.
3. Achari, B.; Chakrabarty, S.; Bandyopadhyay, S.; Pakrashi, S.C. 1982. Studies on Indian medicinal plants. Part 69. A. new 4,5-dioxoaporphine and other constituents of *A. indica*. Heterocycles 19 (7), 1203-6.
4. Achari, B.; Bandyopadhyay, S.; Saha, Ch.; Pakrashi, S.C. 1983. A phenanthroid lactone, steroid and lignans from *A. indica*. Heterocycles 20 (5), 771-4.
5. Achari, B.; Bandyopadhyay, S.; Basau, K.; Pakrashi, S.C. 1985. Studies on Indian medicinal plants. Part 79. Synthesis proves the structure of Aristolindiquinona. Tetrahedron 41 (1), 107-10.
6. Ambros, M.L.; De Siqueira, N.S. 1971. Phytochemical study of *A. triangularis*. Rev. Brazil Pharm. 52 (3), 125-9.

7. Ap Rees, T.; Fuller, W.A., Green, I.H. 1981. Extremely high activities of phosphoenolpyruvate carboxylase in thermogenic tissues of araceae. *Planta* 152 (1), 79-86.
8. Bailey, L.H. . *Hortus third. A. concise dictionary of plants cultivated in the USA and Canada.* Mc Millan Publishing Co. Inc. N.Y.
9. Balagué Miguel, S.D. 1953. *Diccionario Griego-Español.* Compañía bibliog. Española, Madrid, p. 103, 711 y 712.
10. Baldas, J.; Bick, I.R.C.; Ibuka, T.; Kapil, R.S.; Porter, Q.N. 1972. Mass spectrometry of Bisbenzylisoquinoline Alkaloids. Part I. Alkaloids derived from coclaurine units joined tail-to-tail. *J.C.S. Perkin I Trans I* 1, pag. 592-596.
11. Baoshan, H.; Lijon, W.; Menglong, Y.; Zhongliang, Ch. 1985. Active principles of *A. debilis* III. The isolation and identification of 5 derivatives of aristolochic acid. *Zhongcaoyao* 16 (11), 482-4.
12. Baozhi, T.; Wenquan, Z.; Shu, H.; Tianquiong, T.; Liqun, L. 1982. Studies on the chemical constituents of *A. moupinensis* and *A. heterophylla* roots. *Zhongcaoyao* 13 (3), 10-12.
- 12a. Barton, D.H.R.; Bhakuni, D.S.; Chapman, G.M.; Kirby, G.M. 1967. Phenol oxidation and Biosynthesis. Part XV. The biosynthesis of roemerine, anonaine and mecambrine. *J. Chem. Soc. (c)* 2134.

- 12b. Battersby, A.R.; McHugh, J.L.; Staunton, J. y Todd, M. 1971. Biosynthesis of the apparently "Directly coupled" aporphine alkaloids. Chem. Commun. 985.
13. Bentley, K.W. 1985. β -phenylethylamines and the isoquinoline alkaloids. Nat. Prod. Rep. 2, 82.
- 13a. Bentley, K.W. 1987. β -phenylethylamines and the isoquinoline alkaloids. Nat. Prod. Rep. 4, 681.
- 13b. Bentley, K.W. 1988. β -phenylethylamines and the isoquinoline alkaloids. Nat. Prod. Rep. 5, 269.
14. Bhakuni, D.S. 1983. Alkaloid biosynthesis in plants. Biol. Mem. 8 (1-2) 103-2.
15. Baldas, J.; Bick, I.R.; Ibuka, T.; Kapil, R.S.; Porter, Q.N. 1972. Mass spectrometry of bisbenzylisoquinoline alkaloids. Alkaloids derived from coclaurine joined tail to tail. J.C.S. Perkin I 592-601.
16. Burger, A. 1970. Medicinal Cheme Chemistry. Alfred Burger. Part I. Wiley International, New York.
17. Carboni, S.; Livi, O.; Segnini, D.; Mazzanti, L. 1966. Constituents of *A. rotunda*. Gazz. Chim. Ital. 96 (5) 641-61.
18. Carreras, L.M. 1973. Quaternaty bases and nitrophenanthrenes in *A. Baetica*. An. Inst. Bot. A. J. Cavanilles 30, 253-65.
19. Cisowski, W.; Rzadkowska, B.H.; Szymczak, J. 1977. Fatty acids of lipids from the herb and roots of *A.L.* species cultivated in Poland. Herba Pol. 23 (2), 117-20.

20. Cisowski, W.; Rzadkowska, B.H.; Lutomski, J. 1977. Investigation on Aristolochic acids in the nature species *Aristolochia* L. genus, *A. durior*. *Rocz. Chem.* (51) 2125.
21. Comer, F.; Timari, H.D. Spenser, C.D. 1969. Biosynthesis of Acid aristolochic. *Can. J. Chem.* 47 (3) 481-7.
22. Coutts, R.T.; Stenlake, J.B.; Williams, D. 1957. *J. Chem. Soc.* 4127.
23. Coutts, R.T.; Stenlake, J.B.; Williams, W.D. 1957. *J. Chem. Soc.* 4120-24.
24. Coutts, R.T.; Stenlake, J.B.; Williams, W.D. 1959. *J. Pharm. Pharmacol.* (11) 607-617.
25. Crohare, R.; Priestap, H.; Farina, M.; Cedola, M.; Ruveda, E.A. 1974. Aristololactams of *A. argentina*. *Phytochem.* 13 (9), 1957-62.
26. Chengzheng, Z.; Jiahua, L.; Zhaowu, W. 1986. Studies of chemical components of domesticated and wild *Aristolochin*. *Yaowu Fenxi Zazhi* 6 (4) 220-2.
27. Chia-Chuan, Ch.; Chi-Kuang, W.; Chang-Chu, L.; I-Teeshao, Y. 1964. Pharmacological studies on magnoflorine, a hypotensive principle from *tuqing muxiang*. *Yao Ysueh Hsueh Pao* 11 (1) 42-9.
28. Chun tao, Ch.; Cordell, G.A.; Fong, H.H.S.; Evans, C.A. (183). Studies on *Aristolochia* Part 2: Aristolindiquinone a new naphthoquinone from *A. indica*. *Tetrahedron Lett.* 24 (13), 1333-6.

29. Chun Tao, Ch.; Ahmed, M.S.; Kang, S.S.; Wellwe, D.; Bingel, A.; Martin, A., et al. 1984. Isolation and biological evaluation of constituents of *A. indica* roots for fertility-regulation activity. *J. Nat. Prod.* 47 (2) 331-41.
30. Das, V.S.R.; Rao, K.N.; Rao, J.V.S. 1966. Phenolic acid pattern and its bearing on the systematic position of Aristolochiaceae. *Current Sci.* 35 (11) 288-9.
31. Dayuan, Z.; Fuxiang, J.; Rensheng, X.; Yunping, Q.; Xiuzhen, Ch.; Dejin, Y. 1981. Studies on the chemicals constituents of *A. tuberosa* II. Structural elucidation of the lactam and glucoside. *Zhongcaoyao* 12 (12) 529-30.
32. Dayuan, Z.; Baode, W.; Baoshan, H.; Resheng, X.; Yunping, Q. 1982. Two new 4,5-dioxoaporphine alkaloids isolation from *A. tuberosa*. *Heterocycles* 17 (spec. Issue) 345-7.
33. Dayuan, Z.; Baode, W. 1983. Two new oxoaporphine alkaloids isolated from *A. tuberosa*. I. Structure of tuberosinona and tuberosinone-N- β -D-glucoside. *Huaxue XXuebao* 41 (1) 74-8.
- 33a. De la Cruz, M. (1972). *Libellus Medicinalibus indorum herbis*. Libro faccimilar. IMSS, México.
34. De Pascual, T.J.; Urones, J.; Fernández, A. 1983. An aristolochic acid derivatives from *A. Long*. *Phytochem.* 22 (12) 2745-7.
35. De Pascual, T.; Urones, J.; Fernández, A. 1983. Monoterpene derivatives from the essential oil of *A. longa*. *Phytochem.* 22 (12) 2753-4.

36. De Pascual, T.; Urones, J.; Fernández, A.; Alvarez, M.D.V. 1984. Lipid components of *A. longa*. *Phytochemistry* 23 (2) 461-2.
- 36a. Dewan, S.B., Awadhesh, NS.; Shobha, T.; Randhir, S.K. 1977. Biosynthesis of Reticuline. *J. Chem. Soc. Perkin I*, pág. 1662-66.
37. Díaz, J.L. 1976. Usos de las Plantas Medicinales en México. *Monografías Científicas. IMEPLAM, México.*
38. Díaz, J.L. 1976. Índice y sinonimia de plantas medicinales. *IMEPLAM, México.*
39. Doskotch, R.W.; Vanevenhoven, P.W. 1967. *Lloydia* (30) 141.
40. Bozortseva, P.M.; Khranchenkova, S.P. 1965. Pharmacology of aristolochine. *Farmakol i Toksikol* 28 (1) 74-7.
41. Dumont, P. 1957. *J. Pharm. Belg.* (12) 475-512.
- 41a. Dumont, P. 1958. *J. Pharm. Belg.* (13) 3-37.
42. Egbert, M. 1965. Skin care agent. *Belg.* 666, 738.
43. Eckhardt, G.; Urzua, A.; Cassals, B.K. 1982. Mass spectrometry of aristolochic acid. *Bol. Soc. Chil. Quim.* 27 (2) 247-9.
44. El Dirdiri, N.; Barakat, S.; Adam, S. 1987. The combined toxicity of *Aristolochia bracteata* and *cadaba rotundifolia* to goats. *Vet. Hum. Toxicol.* 29 (2) 133-7.

45. El-Sebakhy, N.; Waterman, P. 1984. (-)-(R,R)-7'-O-methylcuspidalina from the leaves of *A. elegans*. *Phytochem.* 23 (11) 2706-7.
46. Enriquez, R.G.; Chávez, M.A.; Reynolds, W.F. 1984. Phytochemical investigations of plants of the genus *Aristolochia* I. Isolation and NMR spectral characterization of eupomatenoid derivatives. *J. Nat. Prod.* 47 (5) 896-9.
47. Eugster, C.H. y Kavier, P. 1954. *Helv. Chim. Acta* (37) 1717-1720.
48. Fa-Hsing, Ch.; Pei-yu, L.; Chusze-Ching; Chieb, W. 1981. Chemical constituents in *A. kwangsiensis*. *Yao Hsueh Tung Pao* 16 (4) 56-7.
49. Fagbule, M.O.; Olatunji, G.A. 1984. Isolation and characterization of the Lignan fargesin. *Cellul. Chem. Technol.* 18 (3) 293-6.
50. Falco, M.R.; Devries, Z.; Maccio, Z.; Bick, I.R.C. 1969. Alkaloids of *Berberis laurina* II two new phenolic bisecolaurine alkaloids. *Experientia* 25: 1236-37.
51. Fanggun, X.; Peie, W. 1986. Studies on Chemical constituents of *A. austrozechuanica*. *Yaowu Fenxi Zazhi* 6 (1) 55-6.
52. Faxing, Z. 1981. Preparation of aristolochic acid. *Kuanghsi Huen* (4) 11-12.
53. Faxing, Z.; Peiyu, L.; Cijing, Q.; Jie, W. 1981. Studies on chemical constituents of *A. kwangsiensis*. *Yaoxue Xuebao* 16 (8) 638-40.

54. Faxing, Z.; Jie, W.; Peiyu, L.; Yan, M. 1982. Study on the chemical constituents of *A. championii*. *Zhongcaoyao* 13 (4) 3-5.
55. Faxing, Z.; Jie, W.; Peiyu, L.; Yang, M. 1982. Studies on chemical constituents of *A. championii*. *Yaoxue Tongbao* 17 (4) 243.
56. Fengchang, L.; Linsheng, D.; Meiyu, W. 1983. Studies on chemical constituents of *A. mollissima* Hance IV. Determination of chemical structure of mollislactone. *Yaoyue Xuebao* 18 (9) 684-8
57. Fengchang, L.; Linsheng, D.; Meiyu, W.; Li, L.L. 1986. Chemical studies on *aristolochia contorta* Bunge II; the structure of Aristolochic acid E. *Acta Pharm. Sin.* (Reed 1987) 21 (a) 702-705.
58. Fengchang, L. Linsheng, D.; Li, L.L.; Meiyu, W. 1986. Chemical constituents of Bei Madouling (*Aristolochia contorta* I). *Zhongcaoyao* 17 (9) 390-1.
59. Font Q.P. 1980. *Plantas Medicinales. El dioscorides renovado.* Editorial Labor, Barcelona.
60. Farnsworth, N.R.; Norman, R.; Farnsworth. 1966. Biological and Phytochemical screening of plants. *J. of Pharmaceutical Sciences* 55 (3).
61. Ganguly, A.; Gopinath, K.; Govindakari, T.P.; Nagarajan, K.; Pai, B.R. 1969. Ishwarone, a tetracyclic sesquiterpene. *Tetrahedron Lett.* (3) 133-6.

62. Ganshirt, H. 1953. Pharmazie (8) 584.
63. Garibay, A.M. 1972. Nombres Nahuas en Libellus Medicinalibus Indorum herbis de Martín de la Cruz, IMSS, México.
- 63a. Goodman, A.G.; Goodman, L.S.; y Gilman, A. 1982. Las bases farmacológicas de la terapéutica, 6a. Ed. Médica-Panamericana, México.
- 63b. González, M.F. 1988. Comunicación Personal.
64. Govindachari, T.; Viswanathan, N. 1967. The identity of aristolochine. Indian J. Chem. 5: 655-666.
65. Govindachari, T.; Parthasarathy, P. 1971. Ishwarol, a new tetracyclic sesquiterpene alcohol from *A. indica*. Indian J. Chem. 9 (11), 1310.
66. Govindachari, T.; Parthasarathy, P.; Desai, H.; Mohamed, P. 1973. 5bH,7b,10a-selina-4(14),11-diene, a new sesquiterpene hydrocarbon from *A. indica*. Indian J. Chem. 11 (10), 971-3.
67. Gracza, L.; Ruff, P. 1981. Simple method for the HPLC determination of aristolochic acids. Dtsh. Apoth.-Ztg. 121 (51), 2817-18.
68. Guha, K.P. y Mukherjee, B. 1979. Bisbenzylisoquinoline alkaloids- A review. J. of Natural Products 42 (1) 1-84.
69. Guinaudeau, H. Freyer, A.J. y Shamma, M. 1986. Spectral characteristics of Bisbenzylisoquinoline alkaloides. Natural Products reports 3 p. 477-488.

70. Halm, I. 1980. Phytochemistry of the native specimens of *Aristolochia clematitis* in country Komarom Hungary. *Herba Hung* 19 (1) 178-80.
71. Hegnauer, R. 1964. *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Band 3.
72. Hernández, F. 1959. *Obras completas tomo 3 Historia natural de la nueva España. Volumen II*. UNAM. Libro decimo séptimo.
73. Hernández, F. 1960. *Obras completas Tomo IV. Historia natural de Cayo Plinio II. Volumen I*. UNAM. Libro XXIV.
74. Hideg, K.; Hankousky, O.H.; Mehes, G. 1963. Estimation of aristolochic acid and some of its derivatives by paper chromatography in body fluids. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung*, 23 79-84.
75. Highet, R.J.; Wheeler, J.W. 1985. The study of alkaloid structures by spectral methods. *Alkaloids (Academic Press)* 24 287-348.
76. Hociung, J. 1973. Extraction of Aristolochic acid I. *Intreprinderca "Biofarm" Bucarest. Rom.* 55, 389.
- 76a. Hoersch, P.D. 1986. *Comunicación Personal*.
- 76b. Horrisberger, P. 1971. "Aristolochia". *Schweiz Apoth-Ztg.* 109 (11) 380-2.
77. Huizhong, X.; Jui, H.; Linxing, H. 1985. Isolation and identification of the constituents soluble in petroleum ether from *A. versicolor*. *Nanjing Yaoxueyuan Xuebao* 16 (3) 7-9.

78. Hussein, F.T. 1969. Phytochemical investigation of the seeds of *A. bracteata*. *Planta Med.* 18 (1) 30-5.
79. Hussein, F.T. 1974. Phytochemical investigation of the leaves of *A. elegans*. *Planta Med.* 25 (4) 310-14.
80. Ionescu, F.; Jolad, S.D.; Cole, J.R. 1977. Dehydrodiisoeugenol: a naturally occurring lignan from *A. taliscana*. *J. Pharm. Sci.* 66 (10), 1489-90.
81. Jagannadha, K.V.; Ramachandra, L.; Souyanarayana, M. 1959. Chemical examination of *A. bracteata*. *J. Sci. Ind. Research* 18B, 245.
82. Jie, Z.; Genpei, L.; Zhongguo, Ch.; Youqi, T.; Xingcheng W.; Linxing, H. 1986. Crystal and molecular structure of acetyl versicolactone B. *Huaxue Xuebao* 44 (6) 551-7.
83. Kery, A.; Askary, A.; Sharefi, K.A. 1983. Isolation of aristolochic acid in *A. maurorum*. *Int. J. Crud Drug Res.* 21 (3) 141-3.
34. Kery, A.; Askari, A.A.; Sharefi, K.A. 1981. Quantitative TLC determination of aristolochic acid in *A. maurorum*. *Fitoterapia* 52 (5) 201-7.
85. Kind, C.A.; Celentano, J.D. 1953. *J. Org. Chem.* (18) 1473-77.
86. Kranzfelder, A.L.; Verbane, J. Y Sowa, J. 1937. The cleavage of diphenyl ethers by sodium in liquid ammonia. II Metasubstituted diphenylethers. *J. Am. Chem. Soc.* 59: 1188-1190.

87. Krishnaswamy, P.R.; Menjunath, B.L.; Rao, S.V.; 1935.
J. Indian Chem. Soc. (12) 476-85.
88. Krumbiegel, G.; Mennicke, W.H.; Schneider, C. 1985.
Derivatives of aristolochic I and II as plant components
and animal metabolites. 33RD Annual Congress (Society
for Medicinal Plant Research) Regensburg West. Germ.
Sept. 23-28.
89. Kupchan, S.M. y Wormser, H.C. 1965. Tumor inhibitor X.
Phytochemical synthesis of phenanthrenes. Synthesis of
aristolochic acid and related compounds. J. Or. Chem.
30, 3792.
90. Kupchan, S.M.; Merianos, J.J. 1968. Tumor inhibitors
XXXII. Isolation and structural elucidation of novel
derivatives of aristolochic acid from *A. indica*. J. Org.
Chem. 33 (10) 3735-8.
- 90a. Leete, E. 1963. Biosynthesis of Alkaloids of *Chelidonium
majus* I. The incorporation of tyrosine into chelidonine.
J. Am. Chem. Soc. 85, 473.
91. Lemperle, G.; Herdter, F.; Gospos, F. 1971. Stimulating
or depressing effect of various drugs on the phagocytic
function of the RES. Advan. Exp. Med. Biol. 15, 87-94.
92. Lian-Tung, Ch.; Chih-Ming, Ch. 1981. Aislation and
identification of active principles from *A. fanchi*. Yao
Hsueh Tung Pao 16 (2) 51-2.
93. Liangdong, Ch.; Zhiming, Ch. Yanling, L.; Dong, Ch.;
Shaoliang, Ch. 1986. Determination of aristolochic ac.
in *Radix stephanie tetradrae* (*A. fanchi*). Zhongyao
Tongbao 11 (6) 363-5.

94. Li-Hsue, T.; Ling-Ling, Y.; Chen, Ch. 1980. Inactivation of formosan snake venoms in vivo by aristolochic acid the chemical component of *A. radix*. *Tai-wan K'o Hsue* 34 (2) 40-4.
95. Lin-Hsin; H.; Wang-Wen, H.; Hiu-Chang, H. 1980. Studies on contraceptive constituents of *A. mollisima*. *Yao Hsue Tung Pao* 15 (9), 44.
96. Ling-Sheng, D.; Feng-Chang, L. 1980. Studies on the chemical constituents of *A. mollisima*. *Ching Ts'ao Yao* 11 (11) 484-6.
97. Ling-Sheng, D.; Ho, M.S.; Lou, F.C. 1980. Studies on the chemical constituents of *A. mollisima*. *Chung T'sao Yao* (11) 487.
98. Ling-sheng, D.; Quan, Z.; Fengchang, L. 1981. Active principles of roots of *A. tagala*. *Zhongcaoyao* 12 (10) 436-8.
99. Linsheng, D. Fengchang, L. 1983. Chemical constituents of *Aristolochia* plants. *Zhongcaoyao* 14 (9) 424-32.
100. Linsheng, D.; Fengchang, L.; Mincheng, C.; Yifu, W. Conggen, H. 1986. Chemical constituents of *Guanmutong* (*A. manshuriensis*). *Zhongcaoyao* 17 (8) 347-8.
101. Lixing, H.; Huizhong, X. Yunxing, X.; Wend, J. 1984. Studies on the chemical constituents of *A. mollisima* Hance. *Zhiwu Yuebao* 26 (5) 527-31.
102. Lizhen, X.; Nanjun, S. 1984a. Preliminary comparison of chemical constituents between *A. fanchi* and its substitute *A. moupinensis*. *Zhongyao Tunobao* 9 (5) 206-7.

103. Lizhen, X.; Nanjin, S. 1984. Chemical constituents of *A. moupinensis*. *Yaoxue Xuebao* 19 (1) 48-55.
104. Mahesh, V.K.; Braumik, H.L. 1987. Isolation of methyl ester of 12-nonacosenoic acid from *Aristolochia indica*. *Indian J. Chem. Sect. B* 26B (1) 86.
- 104a. Maheshwari, J.K.; Sinh, J.P. 1987. Traditional Phytotherapy Among the kol tribe of Banda district UTTAR pradesh India. *J. Econ. Taxon Bot.* 9 (1) 165-72.
105. Mehesh V.K.; Braumik, H.L. 1987. Isolation of methyl ester of 12-nonacosenoic acid from *Aristolochia indica*. *J. Chem. Sect. B Org. Chem. Indian. INCL MED. CHEM.* 26 (1) 86.
106. Mahmood, K.; Kaicheong, Ch.; Nyung, H.P.; Yong, N.H.; Byung, H.H. 1986. Aristolactams of *Orophea enterocarpa*. *Phytochem.* 25 (4) 965-7.
107. Maier, P.; Schawalder, H.P.; Weibel, S.B.; Zbinden, G. 1985. Aristolochic ac. induces 6-trioguanin-resistant mutants in an extrahepatic tissue in rats after oral application. *Mutat. Res.* 143 (3) 143-8.
108. Maldonado, L.A.; Herrán, J.; Romo J. 1966. Taliscanina, a component of *A. taliscana*. *Span.* 24 (5-6) 237-40.
109. Martínez, M. 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de la R.M. Fondo de Cultura Económica, México.
110. Mehta, C.R.; Datta, Y.F.; Rana, N.G. 1963. Studies of the seeds of *Aristolochia bracteata*. *Indian J. Pharm.* 25, 185-7.

111. Mengs, V. 1987. Acute toxicity of Aristolochic acid in rodents. Arch Toxicol. 59 (5) 328-31.
112. Mingsan, H.; Singli, L.; Jianguiao, L.; Jianchao, L. 1983. Studies on chemical components of *A. heterophylla*. Zhongcaoyao 14 (4) 158.
113. Mingsan, H.; Hong, F.; Alping, L. 1982. Chemical studies on *A. mollissima* III. Zhongcaoyao 13 (12), 534-5.
114. Mix, D.B.; Guinaudeau, H.; Shamma, M. 1982. The aristolochic acids and aristolactams. J. Nat. Prod. 45 (6) 657-66.
115. Moretti, C.; Rideau, M.; Chenieux, J.C.; Viel, C. 1979. Isolation of aristolochic acid from two Madagascar Aristolochiaceae. Determination of toxicity on plant cells. Comparison with animal cells. Planta Médica 35 (4) 360-5.
116. Munavalli, S.; Viel, C. 1969. Chemical, taxonomic and Pharmacologic study of Aristolochiaceae. Ann. Pharm. Fr. 27 (6) 449-64, (7-8) 519-33, (9-10) 601-14.
117. Myakado, M.; Yanegi, K.; Watanabe, K. 1984. Aristolochic acid as herbicide. Sumitomo Chem. Co. Ltd. 85,209,502 Pat. 60,209,502.
118. Nakanishi, T.; Iwasaki, K.; Nasu, M.; Miura, I.; Yoneda, K. 1982. Aristoloside, and aristolochic acid derivative from stems of *A. manshuriensis*. Phytochem. 21 (7), 1759-62.
119. Nishida, R.; Kamazawa, Z. 1973. 3-Oxishwarane, a new sesquiterpenic ketone from *A. debilis*. Agr. Biol. Chem. 37 (2), 341-4.

120. Otsuca pharmaceutical Co. Ltd. 1983. Aristolochin and its esters. Kokai Tokyo Koho JP 58, 152, 897 (83, 152, 897 (Cl Co7H17/04), 10 sep. 1983, Appl. 82/36, 941, 08 mar 1982; 5 pp.
121. Pailer, M. y Schleppechnik, A. 1957. Monatsh (88) 367-87.
122. Pailer, M.; Pruckmayr, G. 1959). Monatsh. (90) 145-7.
123. Pailer, M. (1960). Progress in the Chemistry of Organic Nat. Prod. Zechmeister & Spriger V. 18, 66-86.
124. Pailer, M. Bergthaller, P. y Schaden, G. 1965. Isolation and characterization of four new aristolochic acids from *A. clematidis*. Monatsh Chem. 96 (3) 863-83.
125. Pakrashi A.; Bulbulc, A.D. 1976. Effect of the extracts from *A. indica*. Experientia 32 (3) 394-395.
126. Pakrashi, A.; Shaha, Ch. 1977. Effect of a sesquiterpene from *A. indica* on fertility in female mice. Experientia 33 (11), 1498-9.
127. Pakrashi, A.; Shaha, Ch. 1977. Ant-implantation and anti-estrogenic activity of a sesquiterpene from the roots of *A. indica*. Indian J. Exp. Biol. 15 (12), 1197-8.
128. Pakrashi, S.Ch.; Ghosh-Dastidar, P. Basu, S.; Achari, B. 1977. Studies on indian medicinal plants 46. New phenantren derivatives from *A. indica*. Phytochem. 16 (7), 1103-4.
129. Packrashi, S.; Dastidar, P.C.; Chakrabarty, S.; Achari, B. 1980. (12 S)-7,12-secoishwaran-12-ol, a new type of sesquiterpene from *A. indica*. J. Org. Chem. 45 (23), 4765-7.

130. Pelletier, S.N. 1970. Chemistry of the alkaloids. Van Nostrand Reinhold, N.Y. p. 41.
- 130a. Pfeifer, H.W. 1966. Revision of the north and central american hexandrous species of *Aristolochia* (Aristolochiaceae). An. Missouri Bot. Cart. 53 (2) 115-196.
131. Pfizer Ch. and Co. Inc. B. 1962. Substances which inhibit the growth of tumors. Brit. 895,037 April 26 USAPP/Jan 1960.
- 131a. Pilarezy, K. (W). 1958. *Planta Médica*, 6, p. 258-299.
132. Plouvier, C.R. 1956. *Acad. Sc.*, (242) 2389-92.
133. Pouvier, V. 1956. *Acad. Sc.* (242) 2389-92.
134. Podolesov, B.; Zdravkoshi, Z. 1980. Isolation and identification of the basic components of *A. macedonica*. *Acta Pharm. Jugosl.* 30 (3), 161-2.
135. Podolesov, B.; Zdravkovski, Z. 1981. Isolation and identification of acidic components of *A. pallida*. *Acta Pharm. Jugosl.* 31 (4) 249-51.
136. Prasad, C.V.; Chantak, A. 1987. A new 4c+2c annelation reaction based on tandem Michael-Claisen condensation 2. Synthesis of aristolone and fukinone. *J. Org. Chem.* 52 (1) 120-4.
137. Priestap, H.A.; Ruveda, E.A.; Albonico, S.M. and Deulofeu, V. 1967. Structure of the 1-dimethylaminoethylphenantrene base from *A. argentina*. *Chem. Commun.* (15) 754-5.

138. Priestap, H.A.; Ruveda, E.A.; Mascaretti, O.A.; Deulofeu, V. 1971. Aristolochic acids from *A. argentina* and *A. esperanzae*. *An. Asoc. Quim. Argent.* 59 (3-4) 245-50.
139. Priestap, H.; Ruveda, E.A.; Albonico, S.; Deulofeu, V. 1972. Alkaloids from the roots of *A. argentina*. *An. Asoc. Quim. Argent.* 60 (3/4) 309-16.
140. Priestap, H.; Bonafede, J.; Ruveda, E.A. 1977. Argentinolactone, a novel 5-hydroxyacid lactone from *A. argentina*. *Phytochem.* 16 (10) 1579-82.
141. Priestap, H.A. 1982. Phenantrene derivatives from *A. argentina*. *Phytochem.* 21 (11) 2755-6.
142. Priestap, H.A. 1985. Seven aristololactams from *A. argentina*. *Phytochemistry* 24 (4) 849-52.
143. Priestap, H. 1985. Two carboxy and two hydroxy methyl-substituted aristololactams from *Aristolochia argentina*. *Phytochem.* 24 (12) 3035-9.
144. Priestap, H.A. 1987. Minor aristolochic acids from *Aristolochia argentina* and mass spectral analysis of aristolochic acids. *Phytochem. (OXF)* 26 (2) 519-30.
145. Rothschild, J.; VonEuw, R. 1972. *Insect Biochem.* (2) 334.
146. Ruecker, G.; Shung, B.S. 1975. *Planta Médica* (27) 68.
147. Ruecker, G.; Langmann, B. 1978. 3,4-dimethoxy-3,4-demetilendiooxycubebin, a new lignan from *A. triangularis*. *Tetrahedron Lett.* (5), 457-8.

148. Ruecker, G.; Langmann, B.; De Siqueira, N.S. 1981. Constituents of *A. tringularis*. *Planta Med.* 41 (2) 143-9.
149. Ruecker, G.; Mayer, R.; Breitmaier, E.; Will, G.; Kirfel, A.; El Kordy, M. 1984. Oxidized aristolane sesquiterpene from *A. debilis*. *Phytochemistry* 23 (8) 1647-9.
150. Ruecker, G.; Mayer, R. 1985. Bisbenzylisoquinoline alkaloids from roots of *A. debilis*. *Planta Med.* 2, 183-4.
151. Russel, R.L. 1974. On the constituents of the commercial Fangchi in Tawan Market. *T'ai-wan Yao Hsueh Tsa Chih* (26) 31.
152. Ruveda, E.A.; Priestap, H.A.; Deulofeu, U. 1966. Alkaloids an aristolochic acids from *A. argentina*. *An. Asoc. Quim. Argent.* 54, 237-9.
153. Ruveda, Ed. A.; Albonico S.M.; Priestap, H.A.; Deulofeu, V. Pailer, M.; Goessinger, E.; Bargthaller, P. 1968. Plant constituents with a nitro group VIII constitution of aristolochic acid IV a from *A. argentina* and *A. clematitis*. *Monatsh. Chem.* 99 (6) 2349-58.
- 153a. Sahagun, F.B. . *Historia de las cosas de la Nueva España*. Editorial Porrúa Hnos. México.
154. Sarteretto, P.A. y Sowa, F.J. 1937. The cleavage of diphenylethers by sodium in liquid amonia I. Ortho and para substituted diphenyl ethers. *J. Am. Chem. Soc.* 59: 603-606.

- 154a. Sasagawa, S. 1962. Ingredients of Aristolochiaceae IV. Aristolochic acid derivatives and acid C derivatives. *Yakugaku Zasshi* 82 921-5.
155. Sastry, M.S. 1965. Chemical Investigations on *Aristolochia bracteata*. *Indian J. Pharm.* 27 (9) 264-5.
156. Saxena, B.; Koul, O.; Tikku, K.; Atal, C.; Suri, O.; Suri, K. 1979. Aristolochic acid-an insect chemosterilant from *A. bracteata*. *Indian J. Exp. Biol.* 17 (4) 354-60.
157. Schmeiser, H.H.; Pool, B.L.; Wiessler, M. 1986. Identification and mutagenicity of metabolites of aristolochic acid formed by rat liver. *Carcinogenesis (London)* 7 (1) 59-63.
158. Schunack, W.; Mutschler, E.; Rockelmeyer, H. 1965. Analytics of aristolochic acids. *Pharmazie* 20 (11) 685-8.
159. Schuette, H.R.; Orban, U. and Mothes, K. 1967. Biosynthesis of ac. aristolochic. *Eur. J. Biochim.* 1 (1) 70-2.
160. Shamma, M. y Moniot, J.L. 1978. Isoquinoline alkaloids Research 1972-1977 Plenum.Press, New York, p. 152.
161. Sharma, V.; Jain, S.; Bhakuni, D.S.; Kapil, R.S. 1982. Biosynthesis of aristolochic acid. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* (5) 1153-5.
162. Sharma, V. 1988. Seasonal variation of 8 MeO-3-Metilendioxy-10-nitrophenantrene-1-carboxylic acid in *Aristolochia-bracteata* (RETZ). *Ind. J. Chem. Sect. B. Org. Chem. Incl. Med. Chem.* 27 (8) 742-43.

163. Shu-Yang, L.; Qui, Y. 1981. Isolation and identification of aristolochic acid from *A. kwangsiensis*. Yao Hsueh T'ong Pao (16) 16.
164. Sokolov, S.D. 1959. The Pharmacology of an alkaloid of *Aristolochia clematitis*. Uchenye Zapiski, Pyatigorskii Farm. Inst. 4 234-9.
165. Spenser, I.D. y Ptiwari, H. 1966. Biosynthesis of aristolochic acid. Chem. Commun. (2) 55-6.
166. Starkiewicz, G. 1963. Free amino acids in *asarum europeum* and *Aristolochia clematitis*. Ann. Univ. Marie Curie Sklodowska, Lublin-Polonia Sect. DD, 18 91-7.
167. Stenlake, J.B.; Williams, W.D. 1954. J. Pharm. Pharmacol. (6) 1005-13.
168. Stenlake, J.B.; Williams, W.D. 1955. J. Chem. Soc. 2114-2120.
169. Subbaratnam, A.V. y Cook, W.B. 1962. Constituents of *Cocculus laevis*. Correction for mistaken botanical identity. J. Med. Pharm. Chem. 5 1376-8.
170. Tada, A.; Sasek, O.I.; Shojidtanaka, O. 1969. Aristolochiaceae plants. I isolation of aristolochic acid from *A. graffithii* Shoyakugaku Zasshi (23) 99.
171. Tomita, M.; Fujita, E. y Mural, F. 1951. Alkaloids of Menispermaceae LXXXI. Structure of biscoclaurine alkaloids 2. Steric configuration of the two asymmetric centres in the isotetrandrine molecule. J. Pharm. Soc. Japan 71: 1035-39. Chem. Abstr. 16: 5060g 1952.

172. Tomita, M.; Kura, S. 1957. J. Pharm. Soc. Japan (77) 8124.
173. Tomita, M.; Fukagawa, K. 1962. Ingredientes of aristolochiaceous plantas V. Ingredientes of *Aristolochia debilis*. Yakugaku zasshi 82 1673-5.
174. Tomita, M.; Shingu, T.; Fujitani, K. 1965. Studies on the alkaloids of Menispermaceous plants CCXVI. Nuclear Magnetic Resonance Spectra of benzylisoquinoline derivatives (1) N-methylcocclaurine type bases. Chem. Pharm. Bull. 13 (8) 921-26.
175. Tronchet, J. 1965. The flavonoids of leaves, young stems, and old stems of *Aristolochia siphon*. Ann. Sci. Univ. Besancon Botan 3 (2) 12-23.
176. Tseng, K.F.; Ku, Y.T. 1957. Constituents of *A. debilis*. Hua Hsueh Husueh Pao (23) 156.
177. Tseng, K.F.; Ku, Y.T. 1958. The structure of debilic acid. Yao Hsueh Hsue Pao (6) 316-321.
178. Tseng, K.F.; Ku, Y.T. 1958. Chemistry of *Aristolochia* I Constituents of *A. debilis*. Yao Hsueh Pao (6) 33-38.
179. Tung T.K.; Kuang, F.T. 1957. Chemical composition of *Aristolochia debilis* seeds. K'o Husueh T'ung Pao. 568.
180. Urzua, A.; Salgado, G.; Cassels, B.K.; Eckhardt, G. 1982. Aristolochic acids in *A. chilensis*. Planta Med. 45 (1) 51-2.

181. Urzua, A.; Salgado, G.; Cassels, B.; Eckhardt, G. 1983. Aristolochic acids in *A. chilensis* on the A. Feeder *Battus archidamas*. Collect Czech Chem. Commun. 48 (5) 1413-9.
182. Vander, B.; Berghe, O.; Ieven, M.; Mertens, F.; Vlietinck, A.; Lammens, E. 1978. Screening of Higher plants for biological activities II. Activiral activity. *Lloydia* 41 (5), 463-71.
183. Wang, W.; Zheng, J. 1984. Pregnancy terminating effect and toxicity of an active component of *A. mollissima*. Hance aristolochic acid A. *Yaoxue Xuebao* 19 (6) 405-9.
184. Weber, F.C. y Sowa, F.J. 1938. The cleavage of diphenyl ethers III. 4,4'-disubstituted diphenyl ethers. *J. Am. Chem. Soc.* 60: 91-95.
185. Wei-Ming, C.; Mayer, R.; Ruecker, G. 1987. Orientation of the hydroxyl group of *Levo cubebin* and its epimer. *Arch. Pharm.* 320 (4) 374-76.
186. Zhang, X.; Xu, L. 1981. Determination of aristolochic acid in *A. debilis*. *Yaoyue Tongbao* 16 (9) 57.
187. Zhang, X.; Xu, L. 1982. Analysis of active principles in Chinese herbal drug IV. Determination of aristolochic acid in *A. debilis*. *Yaowu Fenxi Zazhi* 2 (2), 72-5.
188. Zhang, X.; Xu, L. 1982. Assay of aristolochic acid in *Zhu Sha Lian (A. tuberosa)*. *Zhongcaoyao* 13 (10), 448-51.
189. Yuprahat, T.; Pachaly, P. y Zymalkows, K. 1974. Isolation and identification of further bisbenzylisoquinoline

- alkaloids of berbamina and oxyacanthinetype. *Planta Medica* 25 (4) 315-24.
190. Yu, Z.; Huang, B. 1984. Chemical constituents of oval leaf dutchmans pipe (*A. tagala*). *Zhongcaoyao* 15 (9) 13.
191. Ziquian, H.; Hiaojie, X.; Fengsing, L. Linsheng, D. 1983. Molecular and crystal structure of compound $C_{15}H_{20}O_2$ from *A. mollissima* Hance. *Jiegou Huaxue* 2 (3) 197-200.
192. Zhong-Liang, Ch.; Baoshan, H.; Da-Yuan, Z. Meng-Leng, Y. 1981. Studies on the active principles of *A. debilis* II. 7-hydroxyaristolochic acid 4 and 7-methoxy aristolochic acid A. *Huo Hsueh Hsueh Pao* 39 (3) 237-42.

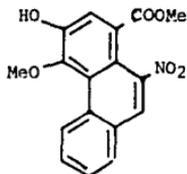
ADENDUM

Pag. 8

Atrabilis; uno de los cuatro humores principales en la terminología hipocrática. se suponía producido por el bazo y se le consideraba causa de la melancolía y de la gangrena. Sin.: Bilis negra. (Díaz 1976)

Pag. 33

Posterior a la realización del manuscrito de este trabajo fue publicado un artículo con un novedoso derivado del ácido aristolóquico que no cuenta con el grupo metilendioxi entre las posiciones 3,4.



Mizuno M, Munekiyo Oka, MUNEKASU I y Tanaka T. An aristolochic acid derivative of *Aristolochia liukiuensis*.
J. Nat. Prod. 53 (1990) 179.