

2
25.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"CONTRIBUCION AL ESTUDIO FITOQUIMICO DE
Aristolochia littoralis."

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A :
FRANCISCO AGUILAR FLORES



MEXICO, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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

	pagina
Introducción	1
Antecedentes	2
Contenido químico del Género <i>Aristolochia</i>	6
Aspectos Fitoquímicos.....	8
Esteroides.....	8
Lignanos	11
Farmacología.....	12
Parte experimental	14
Análisis de los resultados	25
Espectros	34
Conclusiones	47
Bibliografía	49

ESPECTROS

- ESPECTRO 1: IR DE β -SITOSTEROL
- ESPECTRO 2: RMNH¹ DE β -SITOSTEROL
- ESPECTRO 3: RMNC¹³ DE β -SITOSTEROL
- ESPECTRO 4: EM DE β -SITOSTEROL
- ESPECTRO 5: IR DE METILPIPERITOL
- ESPECTRO 6: RMNH¹ DE METILPIPERITOL
- ESPECTRO 7: RMNC¹³ DE METILPIPERITOL
- ESPECTRO 8: EM DE METILPIPERITOL
- ESPECTRO 9: IR DE CUBEBINA
- ESPECTRO 10: RMNH¹ DE CUBEBINA
- ESPECTRO 11: RMNC¹³ DE CUBEBINA
- ESPECTRO 12: EM DE CUBEBINA

INTRODUCCION.

Desde la antigüedad el hombre ha buscado la forma de satisfacer sus necesidades, tales como comida, ropa y abrigo. Del medio natural que lo rodeaba, buscó también el alivio de sus enfermedades a partir de los productos naturales, conociendo las propiedades de éstos sólo por observación.

El campo de los productos naturales es muy extenso, lo cual ha ocasionado que se le estudie en tan solo en una mínima parte. De todas partes del mundo se reportan nuevas moléculas, y otros usos para los compuestos ya conocidos con el fin de aprovecharlos mejor.

México cuenta con distintos ecosistemas que hacen que la variedad de especies sea muy rica. Principalmente en las regiones de clima tropical, se encuentran distribuidas las *Aristolochias*, las cuales han sido usadas por los indígenas como remedio en contra de la mordedura de serpiente y el piquete de alacrán, aparte, en otras regiones se les da otro uso, como remedio en las enfermedades gastrointestinales como la disentería y en otras regiones del país como abortivo .

El objetivo de este trabajo es contribuir al estudio fitoquímico de las *Aristolochias*, especialmente de la *Aristolochia littoralis*.

En un estudio anterior, del extracto etanol-acuoso de la *Aristolochia littoralis* se aisló ácido aristolóquico y un alcaloide del tipo bis-bencilisoquinolínico, quedando sin estudiar otros metabolitos de interés potencial, por lo que se decidió continuar el estudio de esta planta.

ANTECEDENTES

El orden *Aristolochiales*, comprende las *Aristolochiaceas* y dos formas parásitas reducidas, las *Rafflesiaceas* y las *Hidnorráceas*.

La familia *Aristolochiaceae* consta de 7 géneros, las especies son cerca de 625.

Los géneros más importantes por su proporción son *Asarum*, *Bragantleae* y *Aristolochieae*. Las *Aristolochiaceae* constituyen una familia definida de hierbas o arbustos, muchos de ellos lianas trepadoras, presentándose en el trópico; donde abundan .

BOTANICA

El género *Aristolochia* forma parte de una familia de dicotiledóneas monoclamídeas que comprende a plantas vivaces, herbáceas pubescentes o trepadoras, las hojas son alternadas, a veces palmeadas con venas, sin estípulas. Las flores son axilares, solitarias o en racimos o cimas y son bisexuales regular o irregularmente. El cáliz tiene regularmente 3 ó 4 lóbulos o irregularmente 1 a 3 lóbulos con 3 a 6 dientes y la corola está normalmente ausente. A veces se presentan 3 pétalos (vestigiales) pero éste es raro. Los estambres son de cuatro a seis, formando 1 o 2 filas o están juntos en una columna estilar (ginostemium).

El ovario es generalmente inferior con 3 ó 6 lóculos y 3 ó 6 estigmas, los frutos son usualmente como cápsulas con muchas semillas y las semillas son pequeñas con copioso endospermo (Munavalli,1969,Trease 1984).

El género *Aristolochia* comprende cerca de 500 especies ampliamente distribuidas en el mundo desde Norte y Sudamerica, Europa, Asia y Africa excluyendo Australia, en donde no se han encontrado. Predominan en clima tropical, subtropical y aun se pueden encontrar en clima templado, su abundancia

disminuye conforme desciende la temperatura ya que este tipo de plantas no soporta los climas fríos (Pfeifer,1966).

México es un país donde existen un gran número de especies de aristoloquias; debido a que cuenta con grandes extensiones territoriales que reúnen las condiciones ideales para su reproducción .

De las especies mexicanas cerca de 39 están reportadas que tienen uso en Medicina Tradicional (Díaz, Tomo 1, 1976), entre los usos que se dan a estas plantas se encuentran los siguientes: a) contra veneno de picadura de alacrán y mordedura de serpiente, b) antiinfeccioso en, vaginitis, disenterías, sífilis, diarrea, cólera etc., c) en problemas uterocinéticos, ya que tiene la capacidad de controlar metrorragias y flujos, d) y antitumoral, pero sólo 15 tienen un uso tipificado como se menciona en los archivos del Imeplan (Tomo 2,1976).

La etimología del término *Aristokeia* quiere decir "que da a luz a los mejores hijos", la palabra está formada por dos terminos: *aristos* óptimo, excelente y *toko prole* o criatura, tiene que ver con uno de sus usos principales que es del favorecer el parto y contribuir a la expulsión de la placenta (uterocinético).

En el cuadro 1 se resumen los usos tradicionales más comunes que se les da en México a las *Aristolochias*, en el cuadro 2 se enlista la localización geográfica de las plantas de este género en nuestro país.

Cuadro 1

USOS MAS IMPORTANTES DE LAS PLANTAS DEL GENERO ARISTOLOQUIA EN MEXICO

(Camacho D, 1990)

USOS	ESPECIES
Antiblenorrágico	<i>A. foetida</i> , <i>A. fragantissima</i> , <i>A. microphylla</i> , <i>A. odoratissima</i>
Antisifilítico	<i>A. mexicana</i> , <i>A. odoratissima</i>
Antidisentérico	<i>A. foetida</i> , <i>A. fragantissima</i> , <i>A. grandiflora</i> , <i>A. microphylla</i> , <i>A. uhdeana</i>
Antidiarréico	<i>A. foetida</i> , <i>A. microphylla</i> , <i>A. uhdeana</i>
Antiséptico	<i>A. foetida</i> , <i>A. fragantissima</i> , <i>A. microphylla</i>
Anticólera	<i>A. foetida</i>
Contra oftalmía purulenta	<i>A. fragantissima</i> , <i>A. grandiflora</i>
Contra vaginitis	<i>A. fragantissima</i> , <i>A. grandiflora</i> , <i>A. odoratissima</i>
Antiponzoñoso	<i>A. fragantissima</i> , <i>A. mexicana</i> , <i>A. odoratissima</i> , <i>A. subclausa</i> , <i>A. grandiflora</i>
Anticrotático	<i>A. mexicana</i> , <i>A. pilosa</i>
Emenagogo	<i>A. mexicana</i> , <i>A. fragantissima</i> , <i>A. grandiflora</i> , <i>A. macrantha</i> , <i>A. pentandra</i>
Para controlar las metrorragias	<i>A. foetida</i> , <i>A. microphylla</i> , <i>A. uhdeana</i>
Para controlar los flujos	<i>A. grandiflora</i>
Antitumoral	<i>A. grandiflora</i> , <i>A. odoratissima</i>
Antipirético	<i>A. grandiflora</i> , <i>A. odoratissima</i> , <i>A. pentandra</i>
Antiespasmódico	<i>A. fragantissima</i> , <i>A. grandiflora</i> , <i>A. mexicana</i> , <i>A. odoratissima</i> , <i>A. subclausa</i>
Antirreumático	<i>A. fragantissima</i> , <i>A. grandiflora</i> , <i>A. pentandra</i>
Astringente	<i>A. fragantissima</i> , <i>A. grandiflora</i> , <i>A. odoratissima</i> , <i>A. uhdeana</i>
Diaforético	<i>A. fragantissima</i> , <i>A. mexicana</i> , <i>A. odoratissima</i>
Estimulante	<i>A. grandiflora</i> , <i>A. longa</i> , <i>A. mexicana</i> , <i>A. odoratissima</i> , <i>A. rotunda</i> , <i>A. subclausa</i>
Tónico	<i>A. grandiflora</i> , <i>A. odoratissima</i> , <i>A. pentandra</i> , <i>A. serpentaria</i>
Analgésico	<i>A. fragantissima</i> , <i>A. grandiflora</i>
Eupéptico	<i>A. grandiflora</i> , <i>A. odoratissima</i>
Carminativo	<i>A. grandiflora</i> , <i>A. mexicana</i>
Para disolver cálculos de la vesícula	<i>A. grandiflora</i>
Para disolver cálculos renales	<i>A. grandiflora</i>

Cuadro 2

DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE ALGUNAS ESPECIES DEL GENERO ARISTOLOCHIA EN MEXICO (HERBARIO DEL INSTITUTO DE BIOLOGIA , UNAM).

Especie	Estado
<i>A. littoralis</i>	Edo de México, Guerrero, Oaxaca, Tamaulipas, Queretaro N.León
<i>A. pentandra</i>	Veracruz, Yucatán
<i>A. odoratissima</i>	Michoacán, Oaxaca, Veracruz, Colima, Tabasco, Chiapas.
<i>A. elegans</i>	San Luis Potosi
<i>A. foetida</i> H.B.K	Guerrero, Morelos, Edo de México, Michoacán, Jalisco, Guanajuato
<i>A. grandiflora</i>	Veracruz, Oaxaca, Tabasco, Chiapas, Yucatán
<i>A. subclausa</i>	Puebla, Oaxaca, Guerrero, Colima
<i>A. schipii</i>	Veracruz
<i>A. ovalifolia</i> Ducharte	Veracruz, Oaxaca, Edo de México
<i>A. taliscana</i> Hook	Jalisco, Michoacán, Guerrero, Colima
<i>A. watsonii</i>	Sonora, Guerrero
<i>A. veracruzana</i> J.Ortega	Veracruz
<i>A. tentaculata</i> Schmidt	Jalisco, Michoacán
<i>A. máxima</i>	Chiapas
<i>A. arborea</i>	Veracruz, Tabasco
<i>A. argentea</i>	Morelos
<i>A. brevipes</i> benth	Guerrero, Baja California Sur, Durango, Sinaloa, Edo de México, Hidalgo, San Luis Potosí
<i>A. carterae</i> pfeifer	Jalisco
<i>A. inflata</i> H.B.K	Chiapas
<i>A. guadalajarana</i> wats	Jalisco
<i>A. longiflora</i>	Coahuila

Contenido Químico del Género *Aristolochia*.

Los metabolitos secundarios que acumulan las especies pertenecientes al género *Aristolochia* son de muy diversos tipos : compuestos terpénicos, esteroides, ácidos grasos, lignanos, etc., pero los metabolitos secundarios más importantes, desde el punto de vista de la actividad farmacológica, son los alcaloides y los compuestos nitrofenantrénicos, como el ácido aristolóquico y sus derivados que 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 alcaloide más común encontrado en estas plantas es la base cuaternaria de amonio llamada magnoflorina que pertenece al grupo de alcaloides cuyo nombre genérico es el de aporfinas.

Otros alcaloides muy importantes por su actividad farmacológica son los del tipo bisbencilisoquinolínico, de los cuales sólo se han reportado 4 para esta familia.

Otro tipo de compuestos que ha sido muy estudiado son los ácidos aristolóquicos. Substancias del grupo de los fenantrenos de cuyo tipo se han identificado al menos 19 derivados como ácidos y otros tantos derivados lactámicos(Espejo O.,Camacho D.,1987).

A las *Aristolochias* se les ha aislado el ácido aristolóquico el cual es el marcador taxonómico de este tipo de plantas, en todo el mundo se reportan estudios sobre estas especies, lo que indica la importancia de este tipo de plantas para los investigadores de productos naturales, entre las especies que han sido más estudiadas se tiene a la *A. indica* , *A. argentina* y *A.debilis* entre otras.

De las especies que han sido estudiadas, se han aislado diferentes compuestos, entre los cuales tenemos varios tipos de ácidos aristolóquicos,

compuestos de composición alcaloidea, esteroides y otros compuestos. De las 39 especies de *Aristolochias* que hay en México sólo se han estudiado químicamente y los compuestos que se han aislado de ellas se reportan en el cuadro 3.

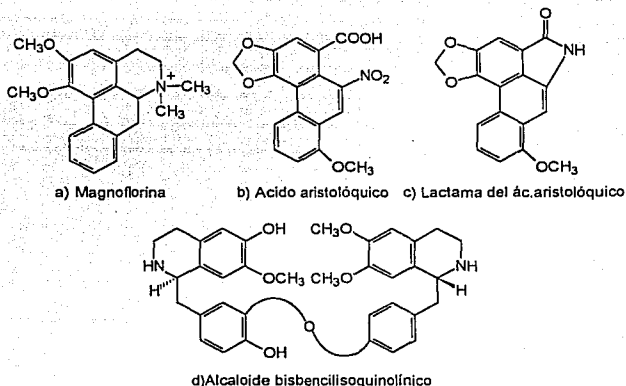


Figura No 1 . Compuestos aislados del género *Aristolochia*

Cuadro 3 (Camacho D., 1990)

ESPECIE	COMPUESTO AISLADO
<i>A. asclepiadifolia</i> 39	β -sitosterol, atantoína, ácido aristolóquico
<i>A. littoralis</i> 5	β -sitosterol, ácido aristolóquico y una bisbencilisoquinolina
<i>A. taliscana</i> 13, 20, 30	taliscanina, dehidroisoeugenol
<i>A. mexicana</i> 38	substancias antibacterianas
<i>A. serpentaria</i> 30, 38	ácido aristolóquico 1, β -sitosterol, rojo de aristoloquia
<i>A. rotunda</i> 6, 30, 38	ácido aristolóquico 1, 2, aristolactama 1, β -sitosterol y L-asparagina
<i>A. máxima</i> 30, 38	ácido aristolóquico
<i>A. longa</i> 9, 10, 30	piranos, β -cariofileno, linalool, acetato de bornilo, los sesquiterpenos tetracíclicos: calareno, maallol, y 1-(10)-aristolén -2-ona, poliprenoles, ácidos grasos y sus ésteres metílico, etílico, isobutílico y fitílico.

Aspectos fitoquímicos .

Los esteroides son alcoholes sólidos con 27 a 29 átomos de carbono, de origen animal colesterol (a) o vegetal β sitosterol (b), ergosterol (c), estigmasterol (d), cuyo esqueleto fundamental corresponde al ciclopentanoperhidrofenantreno (e), común a todos los esteroides y una cadena lateral en la que pueden insertarse radicales metilo (serie ergostano) o etilo (serie estigmastano) particularmente en el carbono 24. Todos los esteroides tienen un hidroxilo en C-3, los saturados se denominan más apropiadamente estanoles y los insaturados estenoles. Dependiendo de su origen son llamados zoosteroides (provenientes de animales principalmente vertebrados), fitosteroides (de plantas), micosteroides (de hongos), y esteroides marinos (de organismos marinos invertebrados, particularmente esponjas).

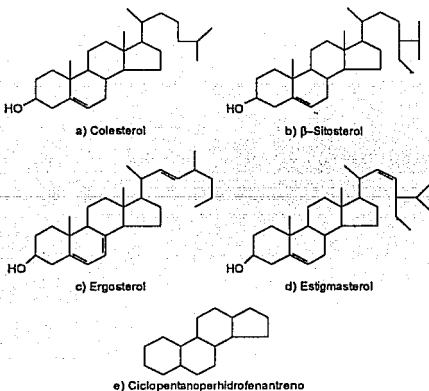


Figura No 2 Esteroides comunes encontrados en la naturaleza

Estos esteroides naturales se derivan, por una serie de transformaciones químicas, de dos precursores triterpénicos, lanosterol y cicloartenol, en general todos los esteroides animales se originan a partir del lanosterol y el cicloartenol es el precursor de los esteroides vegetales. Esto se debe a que las plantas contienen una isomerasa, la cual transforma el anillo del 9,19 ciclopropil del cicloartenol dentro del sistema 10 metil Δ^8 ; este está localizado en un punto indefinido en la secuencia de reacción, la cual transforma la estructura del triterpeno original a una esteroidal (pérdida de metilos C-4, C-14, etc.).

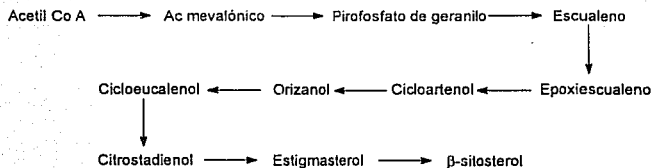


Figura No 3 Biosíntesis de esteroides ruta acetato-mevalonato

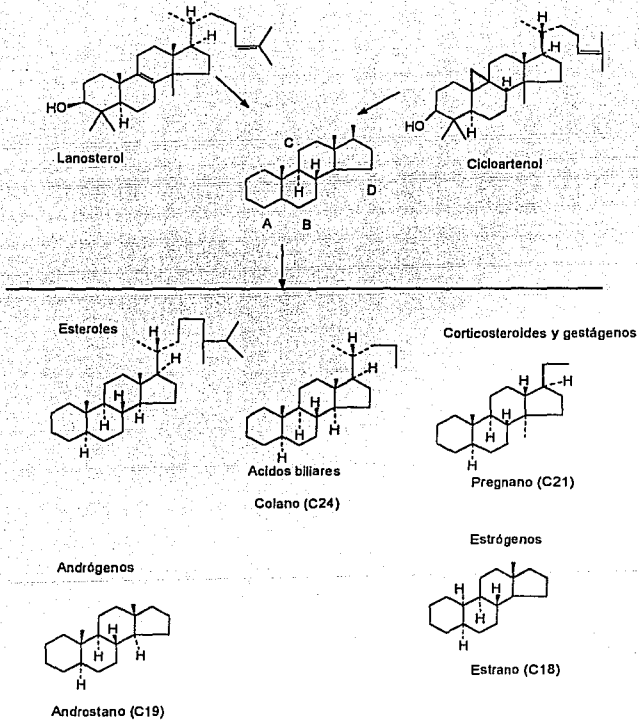


Figura No 4. Principales familias de esteroides a partir de lanosterol y cicloartenol.

LIGNANOS

Los lignanos son metabolitos que se biosintetizan a partir del ácido cinámico y sus congéneres. Desde el punto de vista químico están formados por dos unidades fenil propanoides que siempre se encuentran unidas a través del carbono 2 de cada una de las cadenas laterales de las dos unidades.

Los lignanos están divididos en dos grandes grupos: lignanos y neolignanos, a su vez los lignanos se subdividen en seis subgrupos según su estructura: dibencilbutanos, lactonas, furanos, furofuranos, que tienen un anillo furánico adicional, arilnaftalenos y bifenilos.

Los usos de los lignanos son variados. Entre sus derivados se tienen antitumorales como la podofilotoxina y otros cuya actividad es contra el cáncer: pulmonar y testicular. Otros lignanos presentan actividad fungistática y fungicida, como la otobaína, algunos tienen actividad antimicrobiana y antioxidante como el ácido norhidroguayarático.

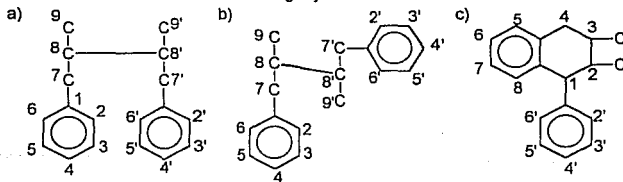


Figura No 5, Estructuras de lignanos comunes: a) asociación paralela, b) asociación antiparalela, c) asociación pseudoparalela

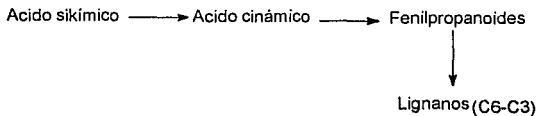


Figura No. 6 Biosíntesis de lignanos.

FARMACOLOGIA DEL GENERO ARISTOLOCHIA.

La actividad farmacológica de este tipo de plantas está poco estudiada. Los estudios se enfocan principalmente a la actividad antitumoral del ácido aristolóquico, que es lo que buscan los investigadores de Europa y de los Estados Unidos. En otros países, como en China, los estudios están dirigidos al control de la natalidad y en Latinoamérica, los estudios farmacológicos de los principios activos de estas plantas, son muy pobres (Camacho, 1990).

El género *Aristolochia* se caracteriza por atribuírsele una gran cantidad de actividades farmacológicas como son antibiótica, antidisentérica, como antídoto para ponzoñas (alexitere) y mordeduras de serpiente (anticrotálico). También presenta actividad uterocinética, emenagoga y antitumoral.

Las pruebas se realizan utilizando principalmente los extractos de las plantas, más que las sustancias aisladas de las mismas, y entre los reportes que se tienen a nivel mundial se pueden citar los siguientes .

a) La actividad más estudiada del género *Aristolochia* es la mutagénica y antineoplásica (Maeir, 1985, Moreti, 1979, Schmeiser, 1986).

Se han estudiado además los efectos uterocinéticos como la antiimplantación del óvulo y su uso como abortivo (Lin-Hsin,1980, Wenhua,1984, Chun-Tao Che,1984)). Chun-Tao Che estudió el extracto etanólico de *A. indica* y observó que tiene actividad antifertilidad cuando se inyecta poscoitalmente (de 1-10 días después del coito) en ratones hembra.

Pocos estudios se han hecho para demostrar la actividad de las *Aristolochias* para contrarrestar los venenos de serpientes y las ponzoñas de alacranes, a pesar de que éste es un uso muy popular en el mundo.

En el año de 1980 apareció un artículo publicado por Li-Hsue (CA 162353q) en que demostraba la inactivación in-vivo de los venenos de algunas serpientes, como el veneno de *N. naja* pero no inactivó el de otras serpientes.

En otros lugares de Asia, como China y la India, los estudios se enfocan al control natal (Che, 1984, Ho, 1980, Pakrashi 1977).

Los estudios hechos en otros países para poder demostrar la actividad anticancerígena son muy importantes. En nuestro país serían de gran prioridad las investigaciones que demuestren 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 (Camacho D., 1990). Este enfoque es importante, ya que las infecciones como el paludismo y la disentería se vuelven endémicas en nuestro país, además de que existe el choque anafiláctico, producido por el suero anticrotálico, obtenido de animales como el caballo, al aplicarse por segunda ocasión, y éste es un riesgo más grave que la propia picadura en sí (Camacho D., 1990).

Hay que mencionar que las *Aristolochias* también pueden ser activas contra virus (herpes simple tipo 1) como lo menciona Zheng (1988) de la *A. debilis*.

PARTE EXPERIMENTAL

MATERIALES Y METODOS .

El material vegetal fué colectado en las cercanías de Tamaulipas durante los meses de noviembre y diciembre, por el Biólogo Francisco González Medrano del Instituto de Biología de la UNAM, quien lo identificó como *Aristolochia littoralis*. Una muestra fue depositada (No de registro 16858) en el herbario del Instituto de Biología de la UNAM (MEXU).

Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro Nicolet FT-5SX, en pastilla de KBr. Los espectros de RMN- H^1 se determinaron en un aparato Varian VXR-300S (200 MHz) empleando como disolvente $CDCl_3$ y los espectros de RMN- C^{13} , se determinaron en un Varian VXR-300S (75 MHz). Los desplazamientos químicos están dados en ppm (δ) referidos al tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los espectros de masas se determinaron en un espectrofotómetro Hitachi Perkin-Elmer RMU 6D de doble foco, por ionización química. La rotación óptica de los compuestos se determinó en un polarímetro digital Jasco DIP-360.

Análisis cromatográficos .

Los análisis cromatográficos en placa fina analítica y la cromatografía preparativa, se efectuaron siguiendo técnicas convencionales, utilizando placas de vidrio recubiertas de gel de sílice Merck 60 F₂₅₄, espesor 0.25 mm y Merck 60 F₂₅₄, espesor 2.0mm, respectivamente. Los sistemas de elución y reveladores se enlistan en los cuadros 4 y 5. Para la cromatografía en columna se utilizó gel de sílice 60 (malla 70-230) y para la cromatografía relámpago se utilizó gel de sílice 60 (malla 230-400).

Cuadro 4

Sistemas de elución para CCF analítica		
Eluyente	hexano /acetato de etilo	cloroformo/acetona
A	7/3	
B	8/2	
C	6/4	
D	5/5	
E		9/1
F		95/5

Cuadro 5

Reveladores de CCF analítica
REVELADORES
 1 ácido sulfúrico 5N
 2 sulfato cérico al 0.2 %

El material vegetal (partes aéreas) se secó a temperatura ambiente y se molió en un molino de cuchillas (Wiley 4 usando malla 4). A 10 kg de la planta molida y seca, se les sometió a maceración con hexano. Se pusieron 60 L (aprox) de hexano, 4 veces durante 3 a 4 días, hasta que ya no salió colorido el disolvente, después se concentró el extracto, a presión reducida, para posterior estudio.

FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO HEXANICO.

Se disolvieron 40 gramos del extracto hexánico en cloroformo y se adsorbieron en 160 g de gel de sílice, por otra parte se colocó en una columna de vidrio (diámetro=9 cm, h=150 cm) 1200 g de gel de sílice (malla 70-230) en húmedo (hexano); posteriormente, se colocó la muestra adsorbida, se empezó la elución con hexano y se aumentó la polaridad del sistema de elución con acetato de etilo, se tomaron alícuotas de 1000 ml, las cuales se concentraron a presión reducida.

Cuadro 6

HEXANO %	ACETATO DE ETILO %
100	0
95	5
85	15
70	30
65	35

Para seguir el desarrollo de la columna se utilizó CCF analítica, los eluyentes y reveladores utilizados se resumen en los cuadros 4 y 5.

Del fraccionamiento del extracto hexánico se obtuvieron 124 fracciones; de acuerdo con el análisis por CCF analítica, las fracciones 1 a 21 tenían ceras principalmente, por lo que no se trabajó con ellas; posteriormente, se unieron las fracciones de composición semejante.

Cuadro 7

FRACCION	CLAVE	FRACCION	CLAVE
22	A	64-70	I
25 Y 26	B	72-77	J
23 -24	C	78-88	K
27-30	D	89-93	L
31-40	E	94-100	M
41-49	F	111-117	N
50-58	G	118-120	O
59-62	H	121-124	P

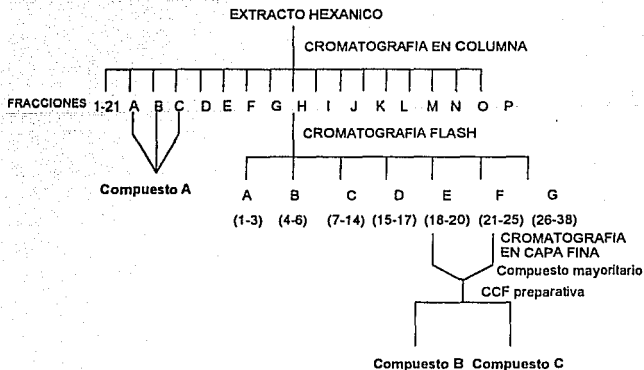


Figura 7. Separación de los compuestos A, B y C.

Aislamiento del compuesto A.

En las fracciones 23 y 24 cristalizó una sustancia con ligero color amarillo, su análisis por CCF analítica (eluyente A, cuadro 4, revelador 1, cuadro 5) indicó la presencia de un compuesto mayoritario, el cual también se detectó en las fracciones 22, 25 y 26 pero con más impurezas. Se unieron las fracciones 23 y 24 dando un peso de 380 mg, el punto de fusión de los cristales fue 118-120 °C. Las fracciones 22, 25 y 26 se unieron (peso total 2.251 g), se les adicionó 68 ml de etanol absoluto y 200 mg de carbón activado, la mezcla se llevó a reflujo por 30 min, filtró en caliente a través de un Büchner con celita y dejó cristalizar. Se obtuvieron 409.0 mg de cristales que por CCF (eluyente A, rev 1) mostraron ser una sola mancha con $R_f=0.7361$ (hexano/acetato de etilo 7:3). El punto de fusión de este compuesto cristalino fue de 122-124 °C, y fué denominado Compuesto A. Este material cristalino se utilizó para determinar sus constantes espectroscópicas :

COMPUESTO A

Las constantes espectroscópicas del compuesto A son las siguientes:

IR (película) (Espectro 1) 3650-3200 O-H, 3000-2850 C-H sat, 1470-1430 CH₃-, -CH₂-, 1395-1365 CH₃-, 1125-1100 CH-OH.

RMN-H¹ (CDCl₃) Espectro 2 δ = 5.4 H vinílico, 3.6 ppm H base del alcohol, 0.7-2.4 ppm varias señales para metilos del isopropilo y metilos angulares, 1.55 señal ancha que intercambia con D₂O.

El compuesto se comparó por CCF (eluyente A, revelador 1) con una muestra original de β -sitosterol encontrándose que ambos compuestos tenían el mismo R_f y al ser revelados se tenía la misma coloración en ambos.

RMNC¹³ (CDCl₃) Espectro 3.

Cuadro 8

Señal	δ	Señal No	δ
1	140.71	14	31.58
2	121.67	15	29.09
3	71.72	16	28.22
4	56.72	17	26.01
5	56.00	18	24.27
6	50.08	19	23.01
7	45.77	20	21.05
8	42.25	21	19.79
9	39.73	22	19.36
10	37.21	23	19.00
11	36.46	24	18.75
12	36.11	25	11.95
13	33.89	26	11.83

EM:Espectro 4 m/z (intensidad relativa) =414 (M⁺, 4.68), 412.3 (0.8), 57.2 (40.7), 55.1 (36.1), 43.2 (100), 41.2 (35).

Aislamiento de los compuestos B y C

La fracción H (4.2 g) de la columna primaria, presentó en análisis por CCF analítica (sistema D, cuadro 4), un compuesto mayoritario. Para intentar aislar este compuesto, la fracción se sometió a una cromatografía relampágo, bajo las siguientes condiciones .

Se tomaron 2 gramos de la fracción H y se adsorbieron en gel de sílice (malla 230-400). La columna (diámetro =5 cm, h=50 cm) se empacó con gel de sílice (malla 230-400) hasta una altura de 5-6 pulgadas, (eluyente A, cuadro 4). Se colocó la muestra adsorbida en la parte superior y se empezó la elución de la columna tomándose alícuotas de 50 ml aproximadamente. Se colectaron 38 fracciones, que se analizaron por CCF analítica (eluyente A, B , C) uniéndose las de composición semejante.

Cuadro 9

FRACCION	CLAVE
1-3	A
4-6	B
7-14	C
15-17	D
18-20	E
21-25	F
26-38	G

Las fracciones de esta columna que tenían el compuesto mayoritario fueron las 18-20(195.7 mg) y 21-25 (180.5 mg), esta última con algunas impurezas.

De las fracciones 21-25 se tomaron 110.4 mg para purificarlos por CCF preparativa (eluyente Dx2) se obtuvieron 41.1 mg del compuesto mayoritario.

Los 69.7 mg restantes se sometieron a las mismas condiciones de purificación y se obtuvieron 35 mg . Para compararlo con la fracción 18-20, se

analizaron en CCF (eluyente D), se vió que eran semejantes en composición, por lo que se tomó una muestra de 49.4 mg de dicha fracción, juntándose éstas (125.5 mg). Esta mezcla se purificó por cromatografía preparativa (eluyente E), separándose en dos fracciones con los siguientes R_f B=0.89 y C=0.56. Se obtuvieron 18 mg de B y 12.4 mg de C. A ambas fracciones, se les sometió a una nueva purificación, en una placa preparativa (por separado, eluyente E x2) obteniéndose 9.5 mg de B y 3.5 mg de C. A estos compuestos se les determinó sus constantes espectroscópicas. A los 146.3 mg de las fracciones 18-20 restantes, se les efectuó placa preparativa (eluyente F x 2) y se obtuvieron 2 compuestos B=31.9 mg, C=51.1 mg. Por CCF analítica se encontró que ambas manchas tenían el mismo R_f que los encontrados anteriormente. Al compuesto C, se le adicionaron 3 ml de metanol absoluto para recristalizarlo, se obtuvieron 37.7 mg de un producto cristalino blanco, cuyo punto de fusión fue de 119-120 °C. A ambos compuestos se les determinaron sus constantes espectroscópicas.

COMPUESTO B

El compuesto B, aislado de la fracción H, es un sólido amorfo el cual se recristalizó de benceno/éter de petróleo, su punto de fusión fue de 70-72 °C. IR (película, cm^{-1} . Espectro 5). 2930 señal de aromático, 2868 éter $-\text{OCH}_3$, 2000-1600 varias bandas indican aromaticidad, 1300-1100 C-O-C intensa, 1030 señal de $\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$, 900-600 aromático trisustituido. RMN- H^1 (CDCl_3 , Espectro 6) δ : 6.9 -6.7, hay una señal que indica la presencia de protones aromáticos que integra para 6 H (multiplete), 5.95, hay un singulete que integra para 2H ($-\text{OCH}_2\text{O}-$), 4.752-4.7191, señal doble de dobles, integra para dos protones ($J=2$ Hz, $J'=4.48$ Hz), 4.3- 4.19, señal de un multiplete que integra para 2H, 3.90 doblete integra para 6H (OCH_3), 3.9, multiplete que integra para 2H, 3.2-3.0, multiplete que integra para 2H.

RMNC¹³ (CDCl₃) Espectro 7.6 Ver cuadro 10 de resultados,

Cuadro 10.

Señal No	δ	Señal No	δ
1	149.156 (s)	12	109.099(d)
2	148.595(s)	13	108.141(d)
3	147.935(s)	14	106.454(d)
4	147.073(s)	15	101.028(l)
5	135.024(s)	16	85.720(d)
6	133.421(s)	17	71.665(l)
7	130.870	18	68.070
8	128.773	19	55.835(q)
9	119.334(d)	20	54.221(d)
10	118.226(d)	21	54.049(d)
11	110.933(d)		

EM Espectro No 8. m/z(intensidad relativa).=370.4 (M⁺, 19.9), 165.2 (45.4), 149.3 (100.0), 135.3 (46.8).

COMPUESTO C

El compuesto **C** se recrystalizó en metanol absoluto obteniéndose unos cristales blancos cuyas características fueron las siguientes:

IR (película, cm⁻¹) . Espectro 9. A 3680-3200 banda de OH, 3080-3030 banda de aromáticos, 1625-1475 varias bandas de aromático, 1094 señal de interacción OCH₂O, 1034 señal de OH secundario, 950-650 sustitución del aromático.

RMN-H¹ (CDCl₃) Espectro 10. δ= 6.74-6.48 protones aromáticos (multiplete) integra para 6H, 5.91 singulete integra para 4H (-OCH₂O-), 5.23-5.2 señal ancha que integra para 1H (CH-OH), 4.129-3.950 (ddd) señal que integra para

2H, 2.95 señal ancha que desaparece con D₂O, integra para un protón, 2.8237-2.3675 multiplete que integra para 6H. [α]= -47.05.

RMN C¹³ (CDCl₃) Espectro 11.δ:Ver cuadro11 de resultados.

Cuadro 11

Señal No	δ	Señal No	δ
1	147.613(s)	9	100.803(l)
1a	147.529(s)	10	98.800(d)
2	145.908(s)	11	77.631
2a	145.757(s)	12	76.996
3	134.491(s)	12a	76.362
3a	134.112(s)	13	72.545(l)
4	133.842(s)	13a	72.163(l)
4a	133.287(s)	14	53.039(d)
5	121.712(d)	15	51.990(d)
5a	121.586(d)	16	45.852(d)
5b	121.379	17	42.874(d)
6	109.295(d)	18	39.180(l)
6a	109.151(d)	19	38.861(l)
7	108.895(d)	19a	38.861(l)
7a	108.064(d)	20	33.593
8	103.339(d)		

E.M. Espectro No 12. m/z (intensidad relativa) = 356 (M⁺, 25.0), 136.1 (43.0), 135.1 (100.0), 81.1 (39.0), 77.1(32.4).

EVALUACION BIOLOGICA DEL EXTRACTO HEXANICO.

El extracto hexánico de la *Aristolochia littoralis* se sometió a pruebas de actividad farmacológica en órgano aislado (útero).

En estas pruebas se utilizaron ratas Wistar hembras jóvenes de peso promedio entre 200 y 250 g las que se sacrificaron por dislocación cervical y se les colocó en posición supina sobre la mesa, posteriormente se realizó una incisión longitudinal en el abdomen, se levantan las vísceras expuestas separándolas de la porción inferior del hipogastrio y se identificaron los cuernos uterinos (equivalente al útero en humanos); se ligó con pinza el extremo superior de cada cuerno y disectó el órgano íntegro, una vez realizado esto se colocó en una caja Petri con solución Ringer-Krebs-Bicarbonato a 37° C y con burbujeo de una mezcla de gas carbógeno, se realizaron cortes obteniéndose segmentos de aproximadamente de 1 cm de longitud, estos se colocan en un sistema para tejido aislado convencional; el tejido se dejó estabilizar por un lapso de 30 minutos, posteriormente se adicionaron las soluciones a diferentes concentraciones de los extractos, para *A. littoralis* fueron: 0.05, 1.0, 2.0, 4.0 mg/ml.

Con estas concentraciones se obtuvieron respuestas del tejido en amplitud y frecuencia, datos que permitieron determinar curvas dosis-respuesta.

Los datos obtenidos con las administraciones del extracto de la *A. littoralis* se compararon con el registro basal y así se determinó el efecto sobre el útero.

EVALUACION FARMACOLOGICA DEL EXTRACTO HEXANICO

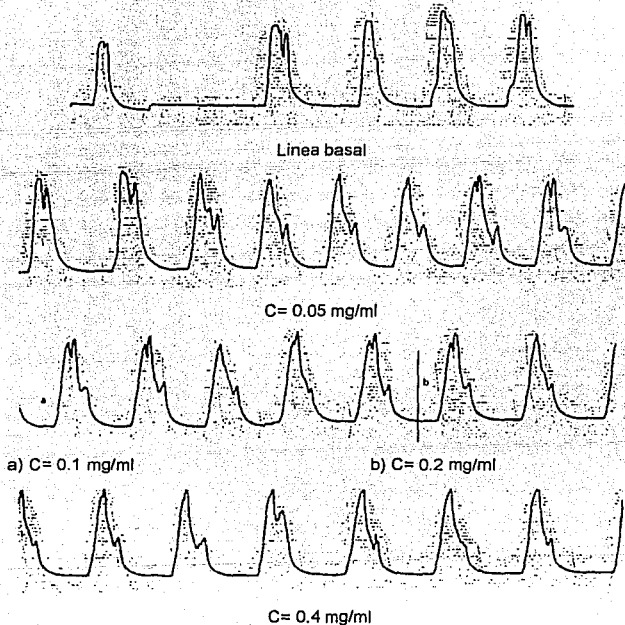


Figura N° 8 . Registros dosis/respuesta del extracto hexánico.

La información que nos dan los registros es la siguiente: Aumentando la concentración del extracto no se observa que haya aumento o disminución en la contracción del tejido, por lo que se deduce que no afecta este extracto al tejido.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Aristolochia littoralis es una planta nativa del país que se localiza principalmente en regiones con clima cálido. Esta planta no ha sido estudiada en una forma completa desde el punto de vista químico, por lo que se continuó trabajando sobre ella, estudiando el extracto hexánico de las partes aéreas (hojas) y tallos.

De este extracto se aislaron y caracterizaron un esteroles, que se encuentra en gran cantidad (β -sitosterol), y dos lignanos, uno al cual denominamos compuesto B y otro llamado cubebina, cuyas estructuras son las siguientes:

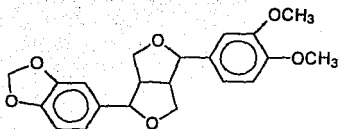
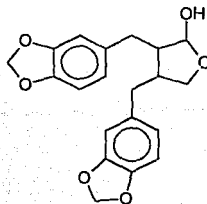
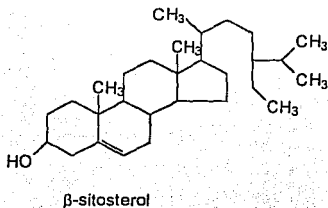


Figura No 9. Compuestos aislados del extracto hexánico de *A. littoralis*

COMPUESTO A

Este compuesto cristalizó espontáneamente en las fracciones 23 y 24, dando unos cristales de color blanco, los cuales fueron recrystalizados de metanol.

En el espectro de infrarrojo (espectro 1), se observa una señal ancha que va de 3650-3200, que indica que hay un grupo hidroxilo, lo cual se confirma al ver la señal que aparece en 1125-1100 que corresponde a un alcohol secundario. Además en el espectro se observa también interacción de C-H saturado, la señal que aparece en 3000-2850, y lo confirmamos en 1470-1430 señal de probable CH₃-, -CH₂-.

RMN-H¹ (espectro 2). La información que nos da el espectro es la siguiente: Señal centrada en 5.34 que integra para un protón, y que de acuerdo a su desplazamiento; es un protón vinílico; a 3.6 ppm se encuentra un multiplete que integra para un protón, el cual es base de un grupo hidroxilo; de 2.4 a 0.7 ppm se encuentran señales para metilos de un grupo isopropilo y metilos angulares, a 1.55 ppm se encuentra una señal ancha que intercambia con óxido de deuterio. Estos datos concuerdan con los reportados por Frausto E. (1990) para la molécula de un esteroide reportado por ella anteriormente.

La comparación de las señales de RMN-C¹³ del compuesto A con las reportadas por (Severini R., 1978) concuerdan para la estructura propuesta del β-sitosterol.

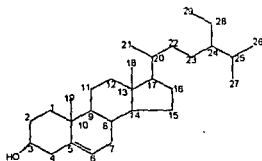


Figura 10 .Estructura del β-sitosterol

CARBON	Cuadro No.12 REPORTADO	COMPUESTO A
C5	140.7	140.71
C6	121.5	121.67
C3	71.7	71.72
C14	56.7	56.72
		56.00
C9	50.1	50.08
C24	45.8	45.77
C13	42.3	42.25
C4	42.3	39.73
C12	39.8	37.21
C1	37.3	36.46
C10	36.5	36.11
C20	36.1	33.89
C22	33.9	31.85
C7	31.9	31.58
C8	31.9	29.09
C2	31.6	28.22
C25	29.2	26.01
C16	28.2	24.27
C23	26.2	23.01
C15	24.3	21.05
C28	23.1	19.79
C11	21.1	19.36
C26	19.8	19.00
C19	19.4	18.75
C27	19.1	11.95
C21	18.8	11.83
C29	11.9	
C18	11.9	

El compuesto A aislado, se comparó por CCF (Eluyente A, revelador 1), con una muestra original de β -sitosterol, comprobando que era el mismo compuesto ya que ambos tenían el mismo R_f y al revelarlos con el ácido sulfúrico se observó la misma coloración para ambos.

El espectro de masas (espectro 4) presenta un m/z a 414, que representa el peso molecular del compuesto, presenta un pico 57.2 por pérdida de un fragmento de $C_4H_9^+$, del pico de 57 pierde dos unidades probablemente pérdida de protones, dando la estructura $C_4H_7^+$, de este pico se pierde un carbono y da la estructura que representa al pico base en 43.2 ($C_3H_7^+$). Esta información concuerda por lo reportado por Aizawa K.(1974).

COMPUESTO B

El compuesto se aisló de la fracción H, es un sólido amorfo con punto de fusión de 70-72°.

IR (espectro 5). Se observó señal de aromático a 2930, que se confirmó al ver la señal de 2000-1600, ya que existen diversas bandas en esa zona que indican aromaticidad, se observa también que de 900-600 la sustitución del aromático. Además, hay una banda, 2868, que indica la presencia de un probable grupo metoxilo (-OCH₃), también se encuentra otra señal intensa a 1300-1100 interacción de C-O-C, y a 1030 se confirma esta señal de O-CH₂-O .

RMN-H¹(espectro 6) : Se encuentra una señal (multiplete) de 6.9-6.7 ppm, que corresponde a protones de tipo aromático, integra para 6H, en 5.95 ppm hay un singulete que integra para 2H, los cuales forman parte de un grupo metilendioxi, de 4.75-4.72 ppm se encuentra un dd, integra para 2H (J= 2, J'=4.48 Hz posición, 4 y 8 de la estructura propuesta), 4.3-4.19 ppm, señal múltiple, que integra para 2H (posición 4 y 8 de la estructura propuesta). en 3.9 ppm se encuentran dos señales simples, que integran para 6H que son de metoxilo , ahí mismo se encuentra una señal múltiple que integra para 2H (posición 2 y 6 de la estructura propuesta), y 3.2-3.0 ppm se encuentra otra señal múltiple que integra para 2H (posición 1 y 5 de la estructura propuesta). Los resultados concuerdan por lo encontrado por Kakizawa H (1972) para un lignano del tipo de la sesamina .

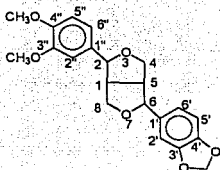
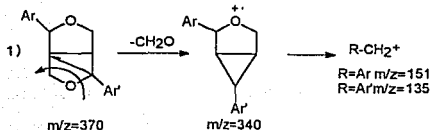


Figura No 11 . Estructura propuesta para el compuesto B

RMNC¹³(espectro 7). La comparación de las señales reportadas por nosotros con las reportadas por Pelter A.(1976) indican que el compuesto es el metilpiperitol(ver cuadro No 13) lo que confirma los resultados de la RMNH¹.
Cuadro No 13

METILPIPERITOL	COMPUESTO B	METILPLUVIATOL
148.99	149.15	148.66
148.43	148.59	147.82
147.74	147.93	147.72
146.87	147.07	146.93
134.94	135.02	135.08
133.38	133.42	130.86
119.15	119.33	119.28
118.07	118.22	117.56
110.93	110.93	110.97
109.10	109.09	108.93
107.99	108.14	107.91
106.33	106.45	106.33
100.90	101.02	100.86
85.66	85.72	87.48
85.61	71.66	81.82
71.61	55.83	70.84
55.84	54.22	69.58
54.26	54.04	55.77
54.07		54.32
		50.03

En el espectro de masas (espectro 8). Se tiene un M^+ de 370 (pico del ión molecular) que corresponde al peso molecular del compuesto, este pierde un fragmento de 165.2 ($M^+ - ArCO^+$), otra unidad de 149 (ArC^+), y pierde otro fragmento de 135 ($M^+ - ArCH_2^+$)



Ar= 3,4-dimetoxifenilo
 Ar'=metilendioxifenilo

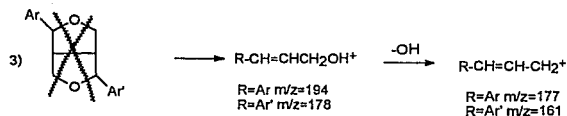
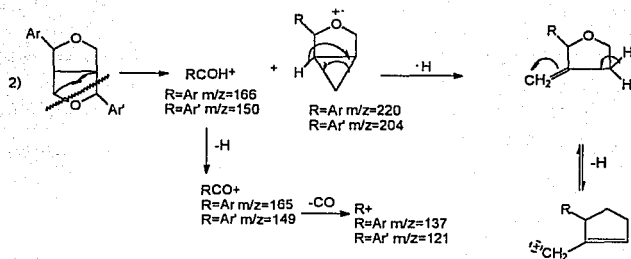


Figura No 12. Diagrama de fragmentación del compuesto B propuesto por Kakizawa (1972).

COMPUESTO C

El compuesto **C**, se recristalizó de metanol obteniéndose unos cristales blancos cuyas características fueron las siguientes :

IR (espectro 9) : A $3680-3200\text{ cm}^{-1}$ se encuentra una banda ancha de hidroxilo, ésta se confirma en 1034 cm^{-1} señal de alcohol secundario, $3080-3030\text{ cm}^{-1}$ se encuentran varias bandas de aromático así también se encuentran más de éstas en $1625-1475\text{ cm}^{-1}$, y la sustitución del aromático se observa de $950-650$. Hay interacción de C-O-C a 1094 cm^{-1} , probable éter.

RMN- ^1H (espectro 10): En $6.74-6.48\text{ ppm}$ hay una señal múltiple que integra para 6H, que por su desplazamiento son protones de tipo aromático, a 5.91 ppm se encuentra una señal simple que integra para 4H, que por su desplazamiento corresponde a dos grupos metilendioxi, a $5.23-5.2\text{ ppm}$, hay una señal ancha que integra para 1H que es la base del hidroxilo, $4.13-3.90\text{ ppm}$, señal que integra para 2H (ddd), a 2.95 ppm está una señal que intercambia con agua deuterada y de $2.82-2.36\text{ ppm}$ se encuentra una señal múltiple que integra para 6H.(ver datos reportados por Rucker, 1978, Chatterje, 1968).

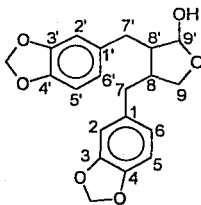


Figura No 13. Numeración asignada por Rucker (1978) para la cubebina.

RMNC13(espectro 11): Se compararon los resultados obtenidos con los reportados por Koul (1983) y se observaron los valores obtenidos concluyendo que el compuesto es la cubebina.

Cuadro No 14

CARBON	CUBEBINA	COMPUESTO C
α	39.5	39.18 38.86
α'	38.7	38.38
β	53.1	53.03 51.99
β'	45.1	45.85 42.82
χ	103.5	103.33 98.80
χ'	72.7	72.54 72.16
1	132.3	133.84 133.28
1'	133.9	134.49 134.11
2	108.3	108.89
2'	109.3	108.06
3	147.5	147.61
3'	147.5	147.52
4	145.9	145.9
4'	145.9	145.75
5	109.5	109.29
5'	109.0	109.15
6	121.9	121.71
6'	121.6	121.58
OCH ₂ O	101.1	100.80

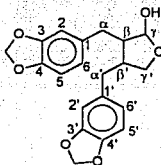


Figura No 14. Asignación de los carbonos para la cubebina (Koul, 1983).

Su espectro de masas (espectro 12) tiene un pico de 356 (M^+) el cual es el peso molecular del compuesto, este pierde 135 unidades para dar el pico base. Ver los datos reportados por Chatterje (1968) para la cubebina y su diagrama de fragmentación para el compuesto que concuerda con los datos experimentales :

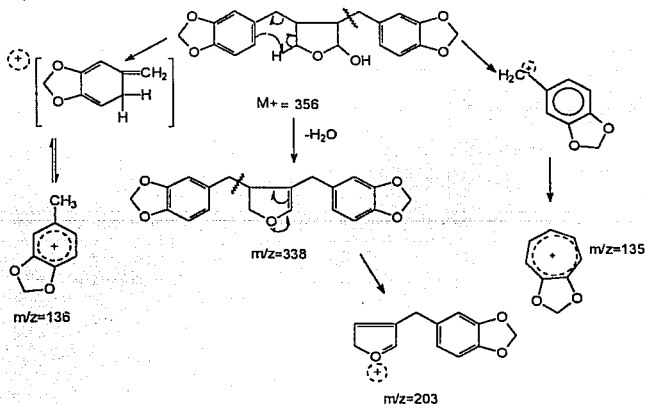
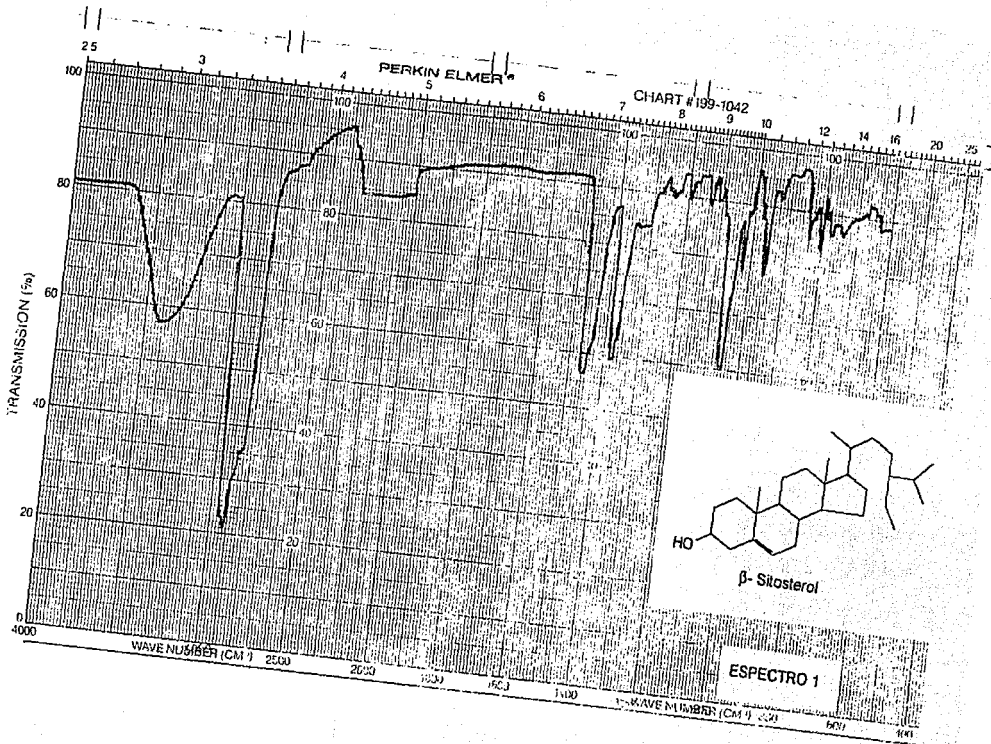


Figura No 15 . Diagrama de fragmentación de la cubebina propuesto por Chatterje(1968).

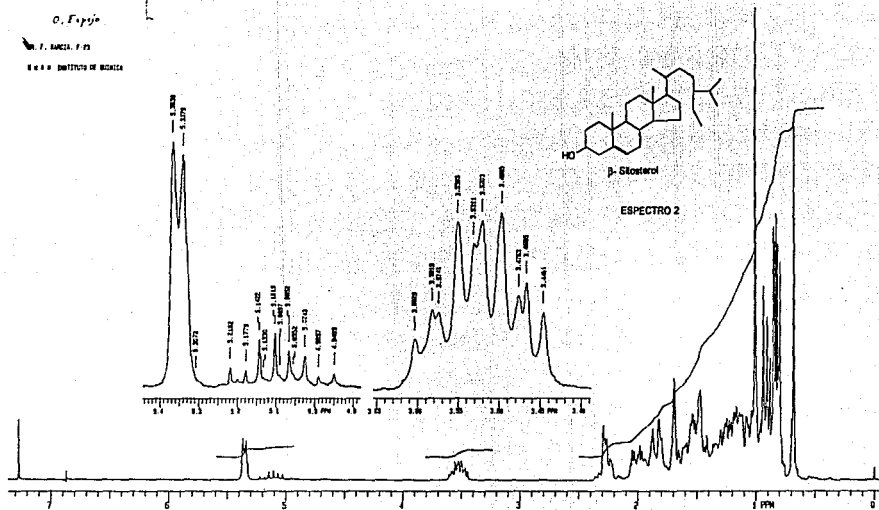
ESPECTROS



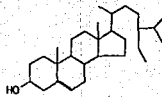
C. Espino

F. BANCIA, F. 23

M. I. I. INSTITUTO DE QUÍMICA

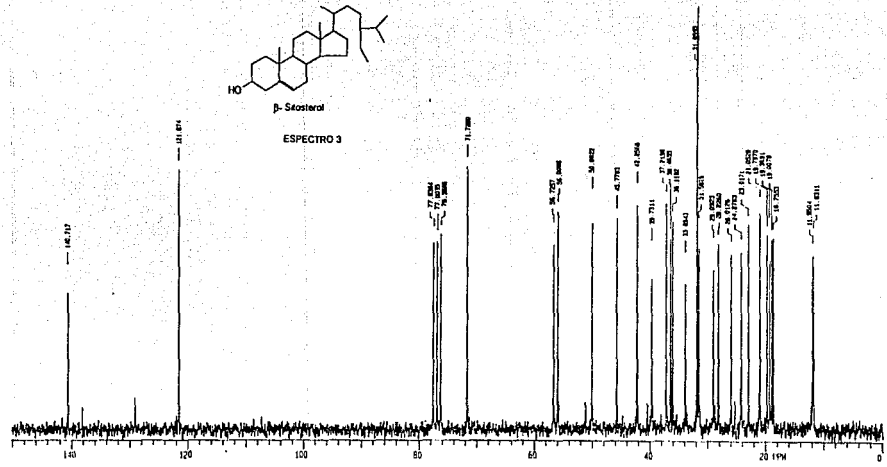


1.73 0.139146 Hz

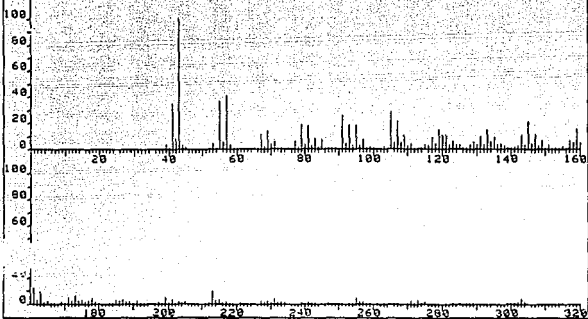


β -Sosterol

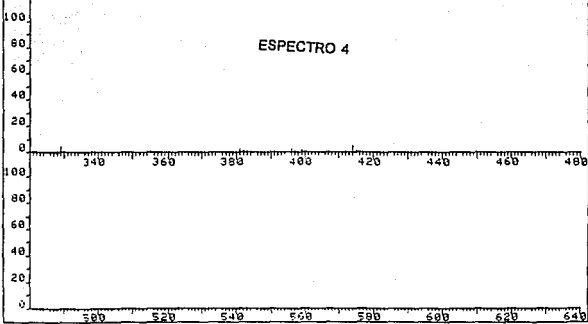
ESPECTRO 3



FRN 9935	SPECTRUM 121		RETENTION TIME 8.1	
LARGST 4: 43.2, 100.0	57.2, 40.7	55.1, 36.1	41.2, 35.8	
LAST 4: 412.3, .8	414.2, 4.8	415.2, 1.7	416.2, .5	
				PAGE 1 Y = 1.00



FRN 9935	SPECTRUM 121		RETENTION TIME 8.1	
LARGST 4: 43.2, 100.0	57.2, 40.7	55.1, 36.1	41.2, 35.8	
LAST 4: 412.3, .8	414.2, 4.8	415.2, 1.7	416.2, .5	
				PAGE 2 Y = 1.00



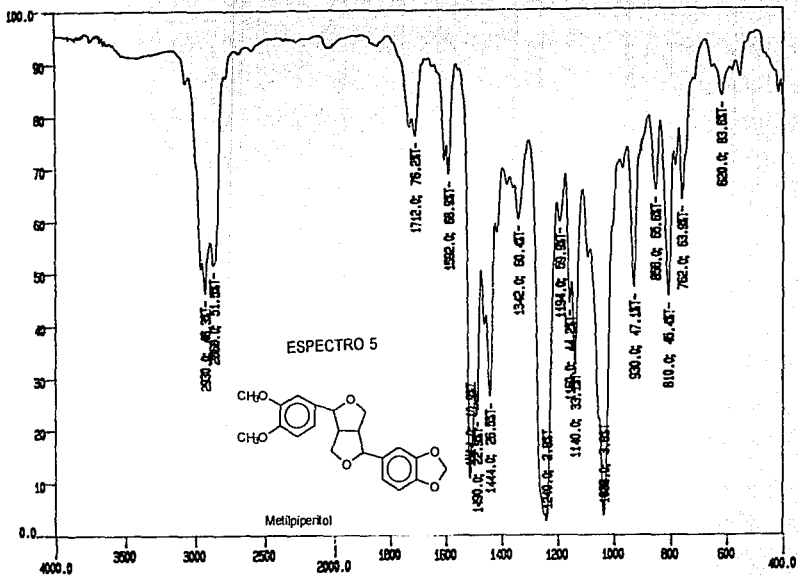
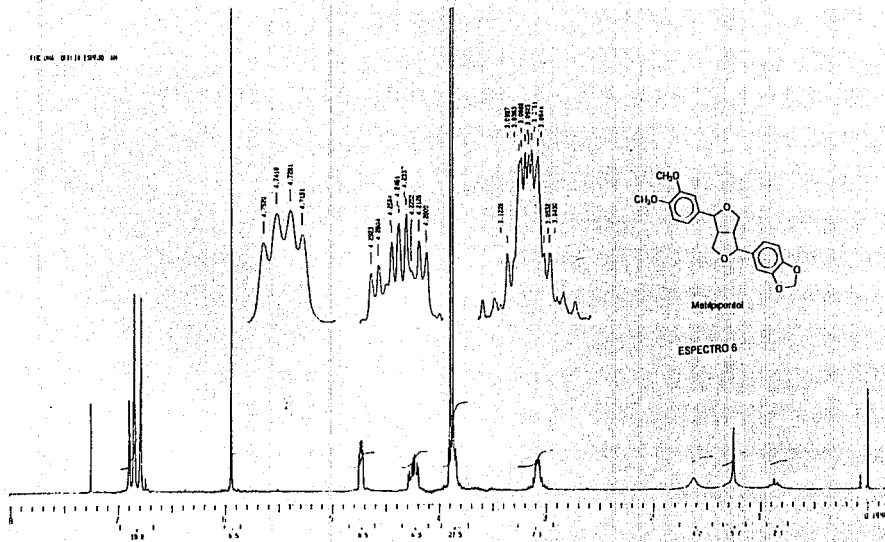
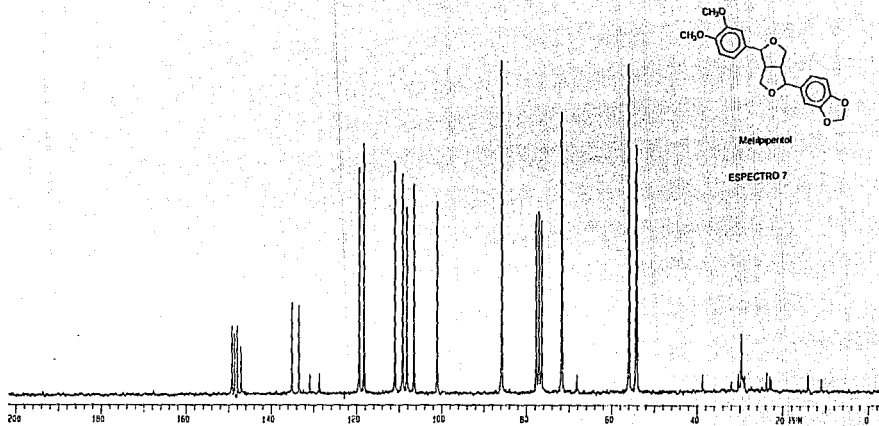


FIG. 14. 051119740 14

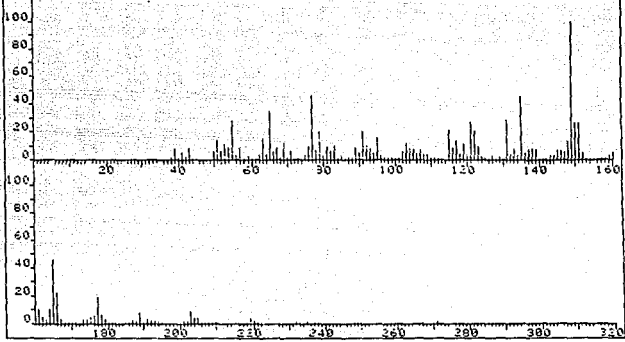


448 8 ESPLA 146 ABC

00000 INSTITUTO DE QUIMICA



FRN 9815	SPECTRUM 52	RETENTION TIME 3.6
LARGST 4: 149.3, 100.0	77.3, 46.8	135.3, 45.8
LAST 4: 370.4, 19.5	371.4, 2.8	372.4, .6
		412.6, .5
		PAGE 1 Y = 1.88



FRN 9815	SPECTRUM 52	RETENTION TIME 3.6
LARGST 4: 149.3, 100.0	77.3, 46.8	135.3, 45.8
LAST 4: 370.4, 19.5	371.4, 2.8	372.4, .6
		412.6, .5
		PAGE 2 Y = 1.08

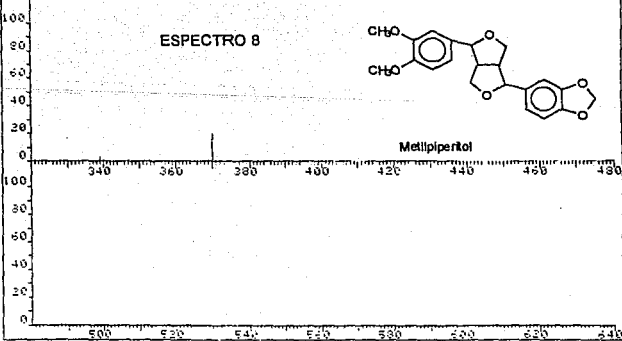
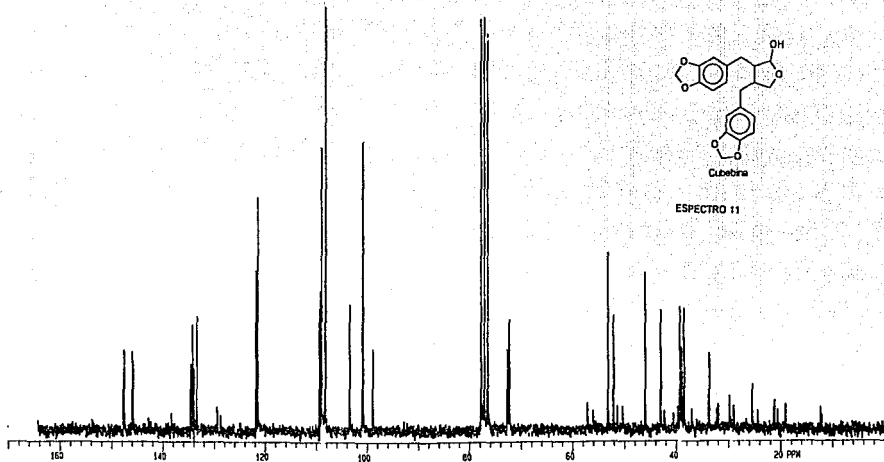
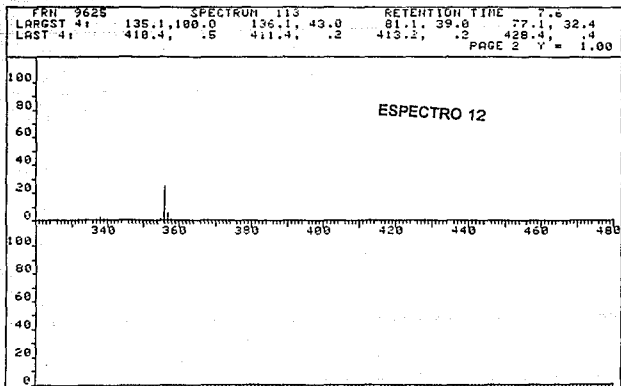
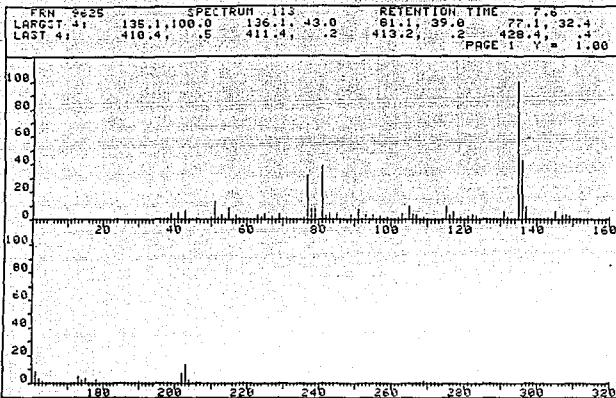


FIG-1 DR. F. GARCIA JR





CONCLUSIONES

Del extracto hexánico de la *Aristolochia littoralis*, se aislaron e identificaron tres compuestos: un esteroles, el β -sitosterol, y dos lignanos, uno del tipo de la sesamina, el metilpiperitol y otro del tipo del ácido nordihidroguarayético, la cubebina. La elucidación y caracterización estructural de estos compuestos se realizó por métodos espectroscópicos.

La evaluación farmacológica del extracto hexánico en útero de rata, indicó que a diferentes concentraciones del extracto, no hay respuesta en la que aumente el tono del tejido, por lo que se puede concluir que no presenta actividad.

Cabe mencionar que estos compuestos son una característica de las *Aristolochias* ya que se encuentran reportados en la literatura, como en el caso de *A. elegans* (Halm, 1980) y *A. triangularis* (López L., 1990), las cuales contienen a la cubebina y al esteroles, así como también recientemente se reportó que en la *A. esperanzae* y la *A. brasiliensis* (López L., 1990) se encontraron a la cubebina y la fargesina (estereoisómero del metilpiperitol) y en la *A. albida* se encontró a la fargesina únicamente (Fa-Hsing, 1981).

Este estudio del extracto es una contribución más, al trabajo empezado previamente en el laboratorio de la Dra. Ofelia Espejo, para conocer químicamente a esta especie.

Los usos que se le dan a las distintas especies del género *Aristolochia* en México, son variados, pero se pueden señalar cuatro, como se mencionó en la introducción: a) actividad alexitere, b) actividad antibiótica y antiprotozoica, c) actividad uterocinética y d) actividad antitumoral.

El uso antitumoral es el que ha sido estudiado, principalmente por investigadores Americanos y Europeos los cuales se enfocan a encontrar compuestos que sean eficaces contra los distintos tipos de cáncer.

Pero en nuestro país son aun más importantes los estudios que se deben hacer para controlar enfermedades infecciosas y parasitarias (bacterianas y protozarias), así como los enfocados a la comprobación de la actividad contra el veneno de serpiente y la picadura de alacrán.

Este último uso no ha sido demostrado y es de gran interés profundizar en este estudio, ya que en tierra caliente, es muy frecuente que la gente sea mordida por serpientes o picada por alacranes (Camacho D, 1990).

Hay que mencionar también que en nuestro país una parte de la población acude en forma casi exclusiva a la Medicina Tradicional para resolver sus problemas de salud, ésto justifica el estudio fitoquímico y farmacológico de todas las especies que hay en México y que son usadas con fines curativos. Por esta razón, es necesario aumentar el estudio de las especies del género *Aristolochia* que existen en el país ya que no se han estudiado ampliamente.

BIBLIOGRAFIA

1. Abe F., *Chem. Pharm. Bull.*, 1974, **22**(11), 2650-2655
2. Achari B., *Heterocycles*, 1985, **20** (5).
3. Aizawa K., *Organic Mass Espectrometry*, 1974, **9**, 470-479
4. Batterbee J. E., et al, *J.Chem. Soc*, 1969.(c), 2470
5. Camacho Uribe Daniel R., *Estudio Químico de Aristolochia littoralis*, Tesis de maestría, UNAM, 1990.
6. Carboni S., Livi O., *Gazz. Chim.Ital.*, 1966, **96**(5), 641-661.
7. Chatterjee A., *Jour. Indian Chem. Soc.*, 1968, **45**(8)
8. Corrie E. T., *Aust. J. Chem.*, 1970, **23**, 133-145
9. De Pascual Teresa J., *Phytochemistry*, 1983, **22**(12), 2745-2747.
10. De Pascual Teresa J., *Phytochemistry*, 1983, **22**(12), 2753-2754.
11. Domínguez A. X., *Métodos de investigación fitoquímica*, Ed Limusa, México, 1979.
12. Dr.P. Font quer, *Diccionario de botánica*, Editorial Labor S.A., Barcelona, (1973).
13. Enriquez R.G., Chavez M. A., *J. Nat. Prod.*, 1984, **47**(5), 896-899.
14. Espejo O., Camacho D., "Los guacos, un ejemplo del uso de la herbolaria en la medicina tradicional.", Cuernavaca 1987.
15. Fa-Hsing Ch., *Yao Hsueh Tung Pao*, 1981, **16**(4),56-57.
16. Freudenberg K., *Tetrahedron*, 1961, **15**, 115-128
17. Halm I., *Herba Hung*, 1980, **19**(1),178-180.
18. Howard W. Pfeifer, *Ann.of the Missouri Botanical Garden*, 1966, **53** (1), 1-144.
19. Hussein F.T., *Planta Medica*, 1974, **25**, 310-314.
20. Ionescu F., Jolad S., *J. Pharm Sci.*, 1977, **66**(10), 1489-1490.
21. Kakisawa H., *Phytochemistry*, 1972, **11**, 2289-2293

22. Koul, S. K., *Phytochemistry*, 1983, **22**, 999.
23. López L. M., *Rev. Latinoamer. Quím.*, 1988, **19**(3), 113-117
24. López L. M., *Phytochemistry*, 1990, **29**(2), 660-662
25. López M. X., *Phytochemistry*, 1988, **27**(7), 2265-2268.
26. Luckner M, *Secondary Metabolism in plants and animals*, Academic Press, New York, 1972.
27. M. Martínez, *Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas*, Fondo de Cultura Económica, México (1987).
28. Manitto P., *Biosynthesis of Natural Products*, Ellis Horwood Limited, 1981.
29. Massanet G. M., *Fitoterapia*, 1989, **LX**, 3
30. Mix D.B.H. Guinaudeau and Shama M., *J. Nat. Prod.*, 1982, **45**(6), 657-666.
31. Pelter A., *Tetrahedron*, 1976, **32**, 2783
32. Pelter A., *J. Heterocyclic Chem.*, 1966, **3**, 191
33. Pelter A., *J. Chem. Soc.*, 1967, **C**, 1376
34. Prabhu., *Phytochemistry*, 1985, **24**, 329
35. Pretsch E., *Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos*, Ed Alhambra, 1980.
36. Rucker G., *Tetrahedron Letters*, 1978, **5**, 457-458
37. Ruecker G., *Planta Medica*, 1981, **41**, 143.
38. S. Munavalli et al. *Ann. Pharm. Fr.*, 1961, **27**(6), 449-464
39. Sandoval Frausto Elisa, *Contribución al estudio químico de las raíces de Aristolochia asclepiadifolia*, tesis de licenciatura. UNAM, 1990.
40. Severini G., *Gazz. Chim. Ital.*, 1978, **108**(11-12), 713-715.
41. Silverstein R., *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, Ed John Wiley and sons, Singapore, 1981.
42. Trease G. E., *Farmacognosia*, Ed Continental, México, 1984.
43. Whiting D. A., *Nat Prod Rep*, 1985, **2**, 191