

100



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ALCALOIDES Y OTROS COMPUESTOS NITROGENADOS DE *Aristolochia asclepiadifolia*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

VERONICA MARIA ROJAS DE LA PARRA



MÉXICO, D.F.

282338

2000.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente	Profra. Ofelia Espejo González
Vocal	Profr. Jaime Medina Oropeza
Secretario	Profra. Elia Brosla Naranjo Rodríguez
1 ^{er} Suplente	Profra. Martha Yolanda González Quezada
2 ^o Suplente	Profr. Guillermo Huerta Ménez


Sitio donde se desarrolló el tema,

Laboratorio 121, Departamento de Farmacia; Conjunto "E", Facultad de Química-UNAM.

ASESOR:

Dra. Ofelia Espejo González

SUSTENTANTE:



Verónica María Rojas de la Parra

A Guillermo y María de los Dolores:

"No desmayes ante las despedidas. Un adiós es necesario antes de que puedas encontrarte de nuevo con quien amas. Los reencuentros, ya sean después de segundos o de años, siempre ocurren entre quienes verdaderamente se aman."

Richard Bach

A Luis Guillermo, Alma, Javier, Silvia
(Q.E.P.D.) y Mariana:

*"Hope is the thing with feathers-
That perches in the soul-
And sings the tunes without the words-
And never stops- at all."*

Emily Dickinson

A Guillermina, Luis (Q.E.P.D.), Leonor e
Isaac (Q.E.P.D.):

"Un abuelo es una persona demasiado sabia para
no portarse como un niño con sus nietos"

Phil Moss

A las familias Rojas y De la Parra:

"Muchas cosas pueden hacer que cambiemos,
pero comenzamos y terminamos con la familia"

Anthony Brandt

A Alejandro, Edgar, Gaby, Miguel, Tanya
y Dulce:

"Un amigo es alguien que conoce la canción en
tu corazón y puede cantártela cuando has
olvidado la tonada"

Anónimo

"Friends help you move. Real friends help you
move dead bodies"

A la Dra. Ofelia Espejo:

"Un maestro es la persona que puede hacer que
dos ideas florezcan donde sólo una crecía antes"

Elbert Hubbard

A la Universidad Nacional Autónoma de
México:

Por haberme dado no sólo oportunidades, sino la
oportunidad de crecer como persona y como
profesionista

Agradecimientos

A la Dra. Ofelia Espejo González, por la confianza que depositó en mí para realizar este proyecto; por sus enseñanzas.

A la Dra. Elia Naranjo Rodríguez, por facilitarme su tiempo y equipo para llevar a cabo las pruebas biológicas.

Al subprograma 127 "Formación Básica en la Investigación", por el apoyo económico otorgado para concluir este proyecto.

A los miembros del H. Jurado, por sus comentarios y correcciones al presente trabajo.

A las maestras Maricela González y Graciela Chávez, de la U.S.A.I., Facultad de Química, U.N.A.M., por la realización de los espectros de Infrarrojo.

A los Q.F.B. Rosa Isela del Villar y Óscar Yáñez, de la U.S.A.I., Facultad de Química, U.N.A.M., por la realización de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear.

A la Q. Georgina Duarte, de la U.S.A.I., Facultad de Química, U.N.A.M., por la realización de los espectros de Masas.

A todos mis compañeros y amigos de los laboratorios 121 y de Farmacología, por sus consejos, su ayuda y sobre todo, su compañía.

Índice

INTRODUCCIÓN	
OBJETIVOS	1
I. ANTECEDENTES	
A. <i>Aristolochias</i>	2
B. <i>Aristolochia asclepiadifolia</i> Brandeg.	9
C. Compuestos Nitrogenados de <i>Aristolochia</i>	10
C.1. Ácidos Nitrofenantrénicos	11
C.2. Lactamas Fenantrénicas	14
C.3. Alcaloides Isoquinolínicos	17
C.4. Otros	22
D. Actividad Biológica	23
II. DESARROLLO EXPERIMENTAL	
A. Parte química	27
A.1. Material y métodos	28
A.2. Aislamiento y caracterización espectroscópica del ácido aristolóquico	28
A.3. Aislamiento y caracterización espectroscópica de alcaloides	30
B. Pruebas biológicas	32
III. ANÁLISIS DE RESULTADOS	
A. Ácido I	36
B. Alcaloide I	37
C. Alcaloide II	40
D. Parte Biológica	42
CONCLUSIONES	46

BIBLIOGRAFÍA 48

ANEXOS

A. Espectros

B. Registros de actividad biológica

C. Glosario de términos

Introducción

El hombre ha explotado las plantas desde la antigüedad, dándoles una gran variedad de usos: como fuente de alimentos, como combustible, para construir sus viviendas, para obtener fibras e, incluso, como fuente de inspiración artística. Además, se las ha empleado en ritos religiosos, otorgándoles propiedades mágicas y atributos divinos, por lo que no resulta extraño que también se las use para curar enfermedades.

Muchas plantas siguen siendo usadas como remedios contra enfermedades por un gran número de personas en todo el mundo, lo que ha incitado el interés de los científicos, tanto para confirmar la aplicación terapéutica que se les da, como para encontrar nuevas sustancias con actividad farmacológica.

El estudio de los productos naturales ha adquirido gran importancia debido a que las sustancias aisladas poseen, en muchos casos, estructuras que resultan novedosas, lo que constituye un excelente punto de partida para llevar a cabo síntesis de nuevas moléculas con mayor potencia y menos efectos adversos. Además, el conocimiento de los compuestos que sintetiza una planta permite realizar estudios taxonómicos más profundos, pues la presencia o ausencia de un grupo de estas sustancias ayuda a establecer si dos o más familias se encuentran relacionadas entre sí.

México es un país que posee una enorme riqueza en especies vegetales, muchas de ellas endémicas, y con variados usos en la medicina tradicional (que se remontan a la época precolombina), pero que han sido poco estudiadas a nivel fitoquímico, por lo que adquiere gran importancia el realizar investigación en este campo.

OBJETIVOS

Aislar e identificar los compuestos nitrogenados presentes en la parte aérea de *Aristolochia asclepiadifolia*, empleando técnicas de extracción ácido-base y cromatográficas convencionales.

Contribuir a los estudios fitoquímicos que se han realizado sobre *Aristolochia asclepiadifolia*.

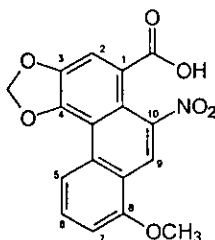
Determinar la actividad que ejercen los extractos y compuestos aislados de esta planta sobre el ileon de rata, así como obtener las curvas dosis respuesta de la actividad correspondiente.

I. ANTECEDENTES

A. *Aristolochias*

La familia *Aristolochiaceae*, está constituida por aproximadamente 700 especies que se agrupan en tres géneros: *Asarum*, *Bragantia* y *Aristolochia*. La característica quimiotaxonómica más importante que posee esta familia, es la presencia de ácido aristolóquico I (Figura I) en gran número de especies de los tres géneros.

Figura I



Ácido aristolóquico I

Las plantas del género *Aristolochia* son enredaderas perennes herbáceas leñosas o semileñosas (lianas) -aunque algunas son arbustos o pequeños árboles-, que presentan en sus tallos nódulos protuberantes de los que brotan las hojas; éstas son casi siempre alternadas en espiral, cordadas en la base, reniformes u ovals, planas y su color varía desde el verde claro hasta el verde grisáceo.

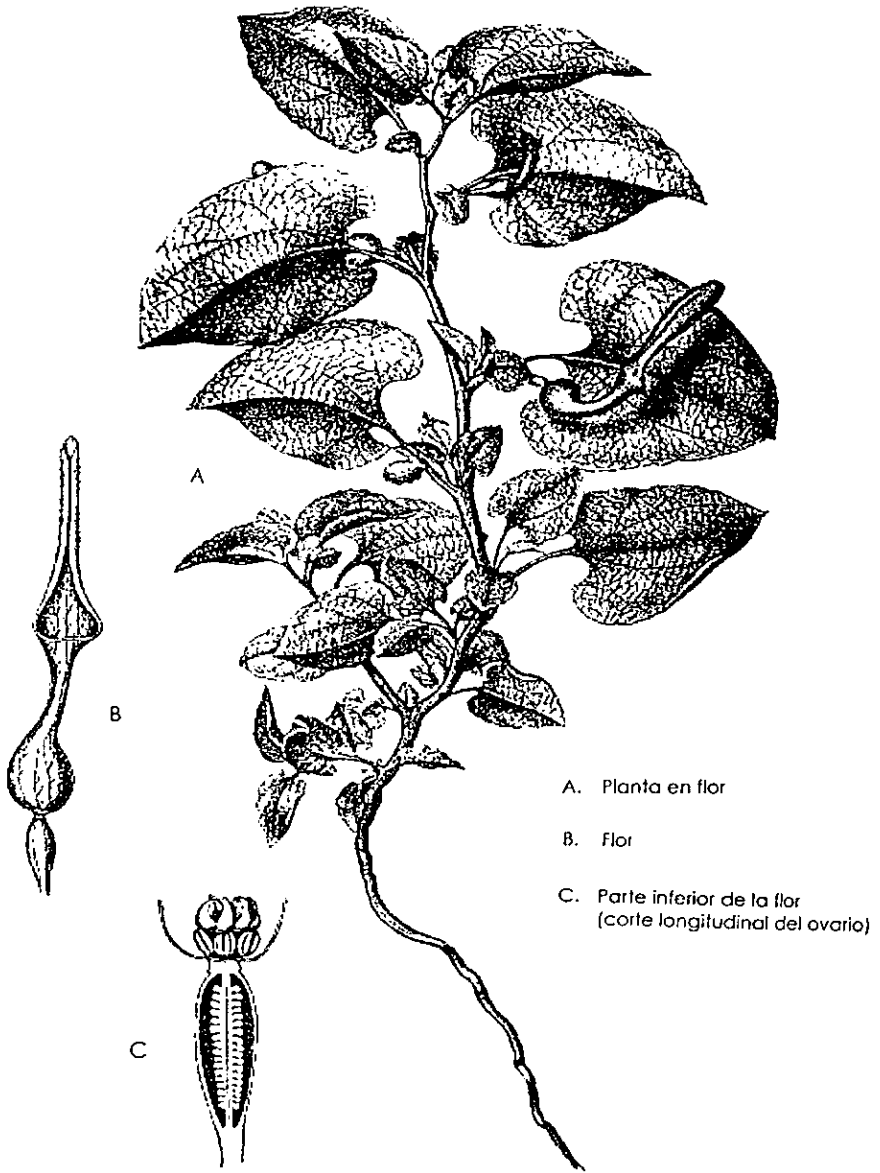
Las flores son hermafroditas, solitarias, de forma irregular y carentes de pétalos, algunas de ellas con aroma desagradable, que atrae a los insectos polinizadores (entomófilas). Los sépalos se encuentran fusionados formando una lengüeta, por su parte, los estambres también están fusionados para formar un ginostemo, que tiene las anteras separadas_{1,2}. El fruto es una cápsula. Las semillas contienen albúmen en abundancia y un embrión pequeño aclorofílico. Las raíces son aromáticas y de sabor amargo; poseen células secretoras de aceite_{1,3} (Figura II).

Existen alrededor de 500 especies de aristoloquias, que se distribuyen en los climas templado o subtropical a tropical de todo el mundo, excepto en Australia. Las áreas geográficas más ricas en especies endémicas son Brasil y la isla de La Española. Estas plantas tienen una gran importancia económica, ya que son usadas como plantas de ornato (por la belleza de los colores de sus hojas y flores), y por sus propiedades curativas^{1,2} (Tabla I).

Tabla I Usos medicinales de algunas *Aristolochias*

Nombre científico	Lugar donde se localiza	Usos medicinales
<i>Aristolochia chilensis</i>	Chile	Disminución de loquos, emenagogo, ¹
<i>Aristolochia clematitis</i>	Europa	Cáncer de pecho y de nariz, pólipos (nariz), tumores, ²
<i>Aristolochia gigantea</i>	Brasil	Abortifaciente, anticrotálico, emenagogo, enfermedades de la piel, ³
<i>Aristolochia indica</i>	India	Abortifaciente, antiartrítico, cáncer, cólera, dispepsia, emenagogo, estomáquico, fiebre, vermífugo, ⁴
<i>Aristolochia kankauensis</i>	Taiwan	Analgésico, antiasmático, anticrotálico, espectorante, ⁵
<i>Aristolochia serpentaria</i>	Estados Unidos	Amenorrea, analgésico, anticrotálico, cardiotónico, diurético, malaria, neumonía, tifo, vermífugo, viruela, ⁶
<i>Aristolochia petersiana</i>	África	Alexitere, disentería, fiebre, ⁸

Figura II



- A. Planta en flor
- B. Flor
- C. Parte inferior de la flor
(corte longitudinal del ovario)

Aristolochia bracteata Retz. (Tomada de la referencia 1)

Además de las propiedades medicinales que tradicionalmente se les ha atribuido a las aristoloquias, recientemente se han descubierto actividades biológicas interesantes, como las de los siguientes estudios: extractos de *A. manshuriensis* son agentes sinérgicos para pesticidas organofosforados, lo que es útil para reducir el uso de insecticidas en el control de ciertas plagas₄; también se ha visto que ciertos extractos de *A. brasiliensis* (acuosos, hexánicos y etílicos) tienen actividad moluscida, (contra caracoles de tierra)₅; incluso se han preparado lociones con el extracto acuoso de *A. debilis* Sieb. et Zucc. que se emplean como estimulantes para el crecimiento del cabello y como parte del tratamiento para enfermedades de la próstata, ya que se ha visto que estos extractos inhiben a la testosterona-5 α -reductasa₆.

La palabra *Aristolochia* quiere decir "que ayuda al el nacimiento", y está formada por dos términos: *aristos* óptimo, excelente y *lochía*, parto, alumbramiento, que describe uno de sus usos principales, que es el de favorecer el parto y contribuir a la expulsión de la placenta (abortifaciente)₇. Esta propiedad tal vez haya sido descubierta, en la antigüedad, por la semejanza que presenta el botón de la flor, con el feto humano.

En México, existen alrededor de 40 especies de aristoloquias, algunas de ellas endémicas, teniendo como característica común que la mayoría poseen 5 estambres en sus flores (especies pentandras)₂. El nombre nahua es *tlacopatli* y proviene de las palabras: *tlacotl*, vara y *pathi*, medicina, lo que describe tanto el uso que se le daba a la planta, como su aspecto físico; en concordancia con el sistema de nomenclatura usado por este pueblo, en el que en una sola palabra se encuentran las propiedades esenciales del cuerpo al que se refiere. Actualmente sólo se aplica a *Aristolochia mexicana* Moc y Sees. Vulgarmente, se les llama raíz de guaco y, se distribuyen ampliamente en el territorio mexicano₃.

Aunque en general se las emplea para curar diarrea, parasitosis, mordeduras de víbora, trastornos de la menstruación y facilitar el parto, en cada estado se les dan diferentes usos, como puede observarse en la Tabla II.

Las aristoloquias también juegan un importante papel dentro de los ecosistemas de que forman parte; por ejemplo, en la India, *A. indica* se ha convertido en especie en peligro de extinción, lo cual ha colocado a la mariposa cola de golondrina (*Tros aristolochae*) también en riesgo, ya que ésta no sólo deposita sus huevos sobre la planta, sino que además, las orugas aprovechan las sustancias químicas que ingieren al alimentarse de las hojas de ésta (probablemente ácidos aristolóquicos) como defensa contra sus depredadores.

Adicionalmente, existe evidencia que una mezcla de sequoyitol y ácido aristolóquico de las hojas de las aristoloquias poseen la propiedad de estimular a las hembras de esta mariposa a poner huevos.

Tabla II *Aristolochias* mexicanas

Nombre científico	Nombre común	Localización Geográfica	Usos medicinales	Referencia
<i>A. anguicida</i> Jacq	Guaco	Chiapas	AI, AG	12, 19
<i>A. arborea</i> Linden y Hook	Flor de Chapo, Hawkte', Pachuli	Chiapas, Veracruz, Tabasco	AR, F	20, 21
<i>A. argentea</i> Willd.	Sacapedo, Tlacopati, Valeriana, Yerba de la Ventosidad	Guerrero, Morelos	A, E, M, O	20
<i>A. asclepiadifolia</i> Brandeg	Guaco Raiz de guaco	Veracruz	AI, AD, ADi	3, 17, 20
<i>A. batucensis</i> Wiggins y Rollins	Hierba del indio	Sonora	AG	20
<i>A. brevipes</i> Benth.	Contrayerba, Guaco, Hierba del indio, Raiz de guaco, Tlacopate, Yerba del Indio	Aguascalientes, Baja California Sur, Coahuila, Colima, Durango, Estado de México, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nuevo León, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora	A, AC, AD, AR	3, 12, 22, 23
<i>A. fragantissima</i>	Guaco	Yucatán	AI, A, AR, E	24
<i>A. foetida</i> Kunth	Gallinitas, Garcitas, Hierba del indio, Ipeca, Patito, Pipilos, Raiz de guaco, Raiz del indio, Tlacopati, Tlacopaxtle, Tlacopaxte,	Estado de México, Jalisco, Guanajuato, Guerrero, Michoacán, Morelos,	A, AD, En Fracturas, M, V	3, 12, 20, 19
<i>A. glossa</i> Pfeiffer	Tlacopaque	Michoacán, Morelos,	AR	20
<i>A. grandiflora</i> Swartz	Boneta del diablo, Chan-wa-k'o, Flor de cisne, Flor de pato, Flor de pelicano, Guaco, Guaco grande, Raiz de guaco, Hierba del indio, Pato, Sombrero de Don Zope, Uah-k'o, Uahkoh	Chiapas, D.F., Oaxaca, Veracruz, Tabasco, Yucatán	AI, A, AM, AR, AS, Antitétánico E, S	3, 12, 22, 23
<i>A. impudica</i> J. Ortega	Sauco de montaña	Veracruz	AD	20
<i>A. littoralis</i> Parodi	Palito	Guerrero, Nuevo León, Oaxaca, Querétaro, Tamaulipas, Veracruz	AI	20
<i>A. longicaudata</i> Watson	Guaco, Raiz de guaco, Tlacopati	Morelos	AI	20
<i>A. maxima</i> Linn	Canastilla, Farolito, Guaco del sur, Raiz de guaco	Campeche, Chiapas, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz, Yucatán	AI	12, 19
<i>A. mexicana</i> Moc y Sees	Chanuah-k'oh, Guaco, Raiz de pato, Raiz para el flato Tlacopatlé, Tlacepatli	Guerrero	AT, Carminalivo, Neuralgia, S,	12, 19 20

Tabla II Continuación

Nombre científico	Nombre común	Localización Geográfica	Usos medicinales	Referencia
<i>A. monticola</i> Brandegee	Hierba del indio	Baja California Sur	ADi, AP, Curar ojos	20
<i>A. myctena</i> Pfeiffer	Guaco	Edo. de México, Guerrero, Michoacán	AG	20
<i>A. odoratissima</i> Linn	Cabeza de viejo, Cocobá, Cocoba, Cococoba, Bejuco, Hierba del indio, Hoenoetzontecomatl, Tlacopale, Tlacopate, Tlacopatle, Tlacopastle, Zazanacxochill	Chiapas, Colima, Jalisco, Michoacán, Oaxaca, Veracruz, Tabasco, Yucatán	AI, A, AD, AS, Ciática, Diurético, Estomáquico, F, Pústulas, Salpullido	3, 12, 19, 25
<i>A. orbicularis</i> Duchr	Tlacopatli	Guerrero, Morelos, Nayarit, San Luis Potosí, Tamaulipas	AD	20
<i>A. ovalifolia</i> Duchr	Bejuco de viento, Chachanque de pastor, Guaco mexicano, Raíz de guaco	Estado de México, Guerrero, Oaxaca, Veracruz, Tabasco	AI	20
<i>A. pardina</i> Duch	Bejuco amargo, Raíz de guaco	Colima, Guerrero, Sinaloa, Veracruz	F	3, 12, 19
<i>A. pentandra</i> Jaqc	Bejuco, Camotillo, Chan-wah-koh, Gatillo morado, Guaco, Guaco chico, Izamal, Mehen-wah-k'o	Morelos, Guerrero, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz, Yucatán	AI, AD, AG, AR, E, F, Tónico, V	3, 12, 19, 20, 25
<i>A. pilosa</i> H. B. K.	Curarina, Huehuecho, Huehueche, Pecho de paloma, Pipa de indio, Tlacopatli	Chiapas, Guerrero, Michoacán, Oaxaca, Veracruz	A	3, 19, 20, 21
<i>A. pringlei</i> Rose	Guaco, Tlacopatli, Zapato del Diablo	Jalisco, Morelos, Sinaloa	AI	3, 19, 20
<i>A. quercetorum</i> Standley	Hierba del indio	Chihuahua, Sonora, Durango	AG, AD, Antiséptico	12, 20
<i>A. schippii</i> Standley	Contra-yerba, Sa'utsai	Oaxaca, Veracruz	AI	19, 20
<i>A. subclausa</i> Wats	Pedo de vivora, Tlacopatle, Tlacopaxtle	Colima, Hidalgo, Guerrero, Puebla,	A, AT	12, 19, 20
<i>A. taliscana</i> Hook y Arn	Canastilla, Guacho, Guaco, Huaco Hueyepactli, Patito, Matarone de mar, Zapatito	Colima, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Sinaloa, Veracruz	AI, AD	3, 12, 19, 20,
<i>A. trilobata</i> L.	Kokuamohtele	Veracruz	AI, A, ADi, AG, Dismenorrea, F, Hipertensión.	12, 20
<i>A. uhdeana</i> Duch	Guaco de Michoacán	Michoacán	AD, Metrorragia	3, 24
<i>A. veracruzana</i> J. Ortega	Guaco	Veracruz	AC	20
<i>A. versabilifolia</i> Pfeiffer	Hierba del indio	Guanajuato	AG	20

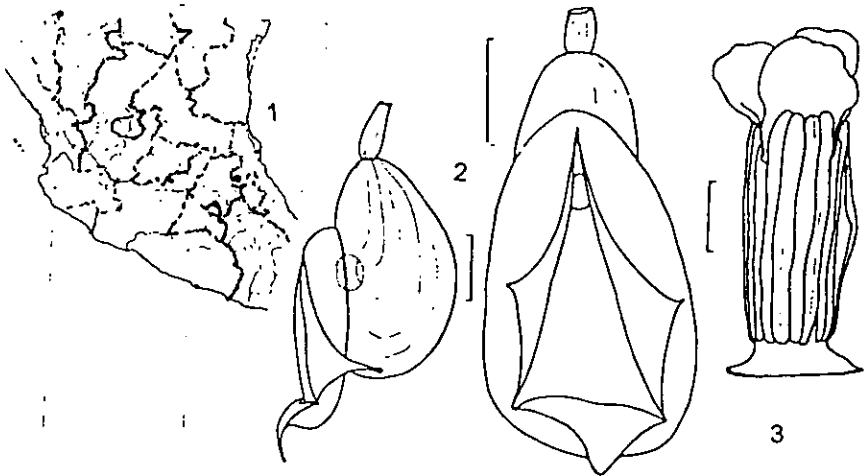
Abreviaturas: AI= Alexitere, A= Analgésico, ADi= Antidiabético, AD= Antidiarréico, AG= Antigastrálgico, AM= Antimalárico, AP= Antiparasitario, AR= Antirreumático, AT= Antitumoral, AS= Antiasmático, E= Emenagogo F= Febrífugo, M= Metrorragia, O= Ocitóxico, S= Sudorífico, V= Vulnerario.

B. *Aristolochia asclepiadifolia* Brandeg.

Aristolochia asclepiadifolia Brandeg. es una enredadera de entre tres y 10 metros de longitud, cuya superficie se encuentra ligeramente cubierta de pelos (tomentulosa). Sus hojas poseen un pecíolo muy corto, abrazan el tallo, son auriculadas, elíptico-obovadas, o sea que presentan forma aovada con la parte ancha en el ápice, el cual, es romo. Miden aproximadamente 5-10 cm de ancho y 8-17 cm de longitud. Su anverso es muy áspero, por la presencia de pelo; su reverso es tomentuloso.

Las flores se dan en racimos con pocos elementos, son moradas trilobuladas, ovoides, bracteoladas y de tres cm de largo por dos cm de ancho. Su ginostenio es angosto y con forma de columna también trilobulado, de cinco mm de alto y dos mm de ancho con seis anteras distribuidas en tres grupos horizontales₂ (Figura III)

Figura III

Distribución (1), flores (2) y ginostenio (3) de *Aristolochia asclepiadifolia*

La raíz es muy aromática, en tanto que los frutos son muy leñosos, su dehiscencia se desarrolla desde la base hasta el ápice midiendo 3.5-6.0 cm de largo por 2-3 cm de ancho con semillas numerosas de 5 mm de ancho, 5 mm de largo y tres mm de grueso₁₇.

Tal como el nombre "*asclepiadifolia*" sugiere, las hojas de esta *Aristolochia* son muy parecidas a las de algunas especies de *Asclepias*: pesadas, largas y afelpadas. Crece en rocas de poca elevación a lo largo de la costa este de Veracruz. Localmente se le conoce como guaco. Una infusión alcohólica de la raíz se administra oralmente para combatir el veneno de alacranes y víboras; también se la emplea para tratar la disentería y la diabetes_{2,17} (Tabla II).

No se han llevado a cabo estudios del contenido químico de la parte aérea de *A. asclepiadifolia*, pero sí existen dos reportes sobre las raíces: el de Waller₇, en el que identifica 38 compuestos (vainillina, carvacrol, acetato de anisilo, etc.) en el aceite esencial de ésta; y el de Sandoval₁₈, que aisló e identificó alantoína, β -sitosterol y ácido aristolóquico I de los extractos metanólico-acuoso, hexánico y etéreo, respectivamente.

C. Compuestos Nitrogenados de *Aristolochia*

Los compuestos nitrogenados de las aristoloquias constituyen el grupo más estudiado en estas plantas (se han reportado más de 45 sustancias de este tipo), a pesar de presentarse en concentraciones muy pequeñas. Esto se debe a dos razones principalmente:

- * Las relaciones estructurales y biosintéticas que existen entre ácidos aristolóquicos, aristolactamas, 4,5 dioxaporfina y otros alcaloides isoquinilínicos.

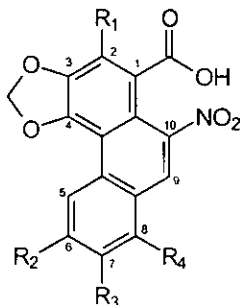
- * La variedad de actividades biológicas que presentan, desde tratamiento de la tuberculosis, hasta antitumorales.

Chen y Zhu₂₆ han clasificado los compuestos nitrogenados de *Aristolochia* en 3 grupos, de acuerdo a su estructura: ácidos nitrofenantrénicos, lactamas fenantrénicas y alcaloides isoquinolínicos.

C.1 Ácidos Nitrofenantrénicos

Los Ácidos aristolóquicos constituyen el grupo más importante de los ácidos 10-nitrofenantrénicos sustituidos. La estructura general de los ácidos aristolóquicos puede observarse en la Tabla III.

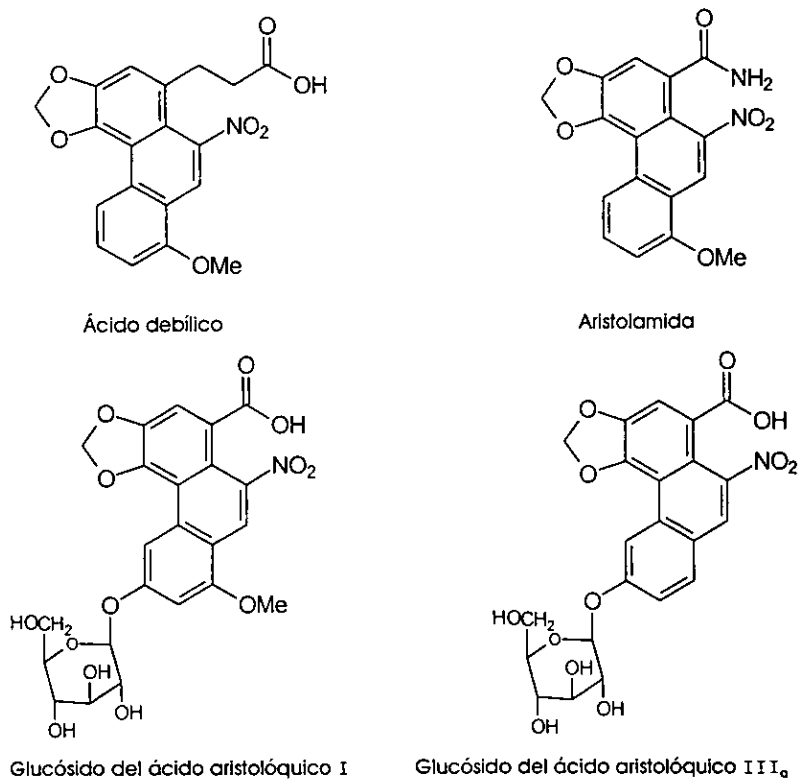
Tabla III Ácidos Aristolóquicos_{26, 27, 28}



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Ácido aristolóquico I (A)	H	H	H	OMe
Ácido aristolóquico I _a	H	H	H	OH
Ácido aristolóquico II (B)	H	H	H	H
Ácido aristolóquico III	H	OMe	H	H
Ácido aristolóquico III _a (C)	H	OH	H	H
Ácido aristolóquico IV	H	OMe	H	OMe
Ácido aristolóquico IV _a (D)	H	OH	H	OMe
Ácido aristolóquico V	H	OMe	OMe	H
Ácido aristolóquico V _a	H	OH	OMe	H
Ácido aristolóquico VI _a	OH	H	OH	OMe
Ácido aristolóquico VII _a	H	H	OH	OMe
Ácido 7-metoxiaristolóquico	H	H	OMe	OMe
Ácido aristolóquico E	H	H	OMe	OH

Además, se han reportado algunos compuestos inusuales, como el ácido debílico, la aristolamida, los glucósidos del ácido aristolóquico I (aristolósido)₂₆ y del ácido aristolóquico III_o 29, cuyas estructuras pueden encontrarse en la Figura IV, y el metil éster de los ácidos aristolóquicos I, II (metil aristolocato) y IV₂₆.

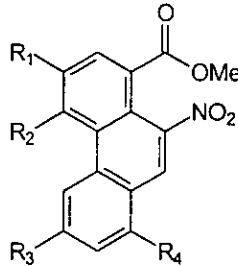
Figura IV



Los ácidos aristolóquicos, al disolverse en álcalis, forman sales de que pueden recuperarse por acidificación. Generalmente, son poco solubles en éter, alcohol, cloroformo y acetona, mientras que en dimetil sulfóxido, piridina y otros disolventes alcalinos, resultan sumamente solubles₂₆.

Recientemente, se ha reportado una serie nueva de derivados del ácido aristolóquico: las ariskaninas, aisladas de *Aristolochia kankauensis*. En la Tabla IV, se encuentran las que han sido caracterizadas₃₀.

Tabla IV Ariskaninas



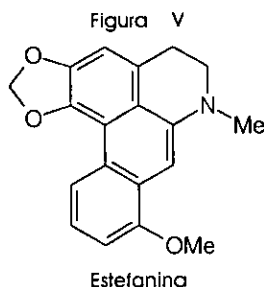
Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Ariskanina A	OMe	OMe	H	H
Ariskanina B	OH	OMe	OH	H
Ariskanina C	OMe	OMe	OH	H
Ariskanina D	OH	OMe	H	OMe
Ariskanina E	OMe	OMe	H	OMe

La importancia de los ácidos aristolóquicos puede examinarse tanto desde el punto de vista quimiotaxonómico como farmacológico:

- ❖ Como se mencionó, estos compuestos son considerados los marcadores quimiotaxonómicos de la familia *Aristolochiaceae*, pues sólo se han aislado en plantas que pertenecen a ésta: *Asarum canadense* var. *reflexum*, *Bragantia wallichii* y más de 53 especies de *Aristolochia*: *A. baetica*, *A. heterophylla* y *A. pallida*, por ejemplo.
- ❖ Los compuestos nitrados de origen biológico son raros, además tienen la característica de poseer actividad biológica, como el cloramfenicol y la azomicina (aislados de actinomicetos del género *Streptomyces*), que son antibióticos, o la miserotoxina (aislada del *Astragalus miser*), responsable de intoxicaciones del ganado vacuno y otros rumiantes. Por tanto, no resulta extraño que los ácidos

aristolóquicos presenten una gran variedad de actividades biológicas₃₁.

De acuerdo a los estudios publicados, se considera que la biosíntesis de los ácidos aristolóquicos comienza con precursores como tirosina, dopa, dopamina o noradrenalina y continúa vía intermediarios aporfínicos, de esta forma, el grupo nitro del ácido aristolóquico I deriva del grupo amino de la tirosina, mientras que su precursor inmediato es la estefanina₂₆ (Figura V). Sin embargo, Priestap₃₂ ha sugerido que, como los patrones de sustitución de las aristolactamas son muy similares a los de los ácidos aristolóquicos que las acompañan, éstos derivarán de las primeras, y no de un alcaloide aporfínico.



Aunque ya se ha logrado sintetizar el ácido aristolóquico, el proceso no ha podido ser optimizado para que pueda ser industrialmente viable; como las plantas de este género constituyen la única fuente de compuestos de esta naturaleza, es necesario que éstas continúen siendo estudiadas, para tratar de encontrar mejores fuentes de ácidos aristolóquicos.

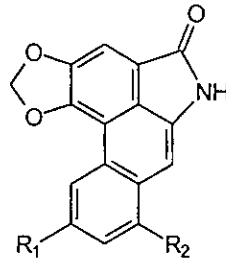
C.2 Lactamas Fenantrénicas

Estos compuestos no sólo se han aislado de plantas de la familia *Aristolochiaceae*, sino también en *Menispermaceae*, *Annonaceae* y *Monimiaceae*, lo que sugiere que están relacionadas taxonómicamente.

Hasta el momento, las aristolactamas que se han aislado pueden tener dos diferentes esqueletos.

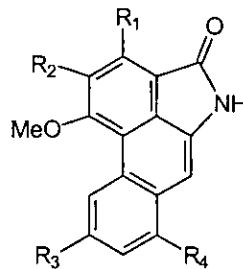
(Tablas V y VI)

Tabla V Aristolactamas I₂₆



Compuesto	R ₁	R ₂
Aristolactama I	H	OMe
Aristolactama I _o	H	OH
Aristolactama II (Cefaranona A)	H	H
Aristolactama III	OMe	H
Aristolactama III _o	OH	H
Aristolactama IV	OMe	OMe

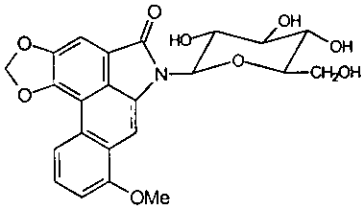
Tabla VI Aristolactamas II_{26, 32}



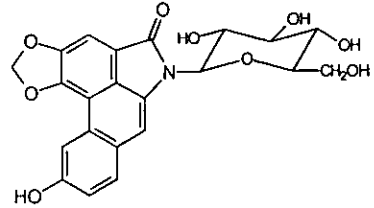
Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Aristolactama AI _o	H	OH	H	OH
Aristolactama AII	H	OH	H	H
Aristolactama AIII	H	OH	OMe	H
Aristolactama AIII _o	H	OH	OH	H
Aristolactama BI (Talscanina)	H	OMe	H	OMe
Aristolactama BII	H	OMe	H	H
Aristolactama BIII	H	OMe	OMe	H
Aristolactama CII	OMe	CH ₂ OH	H	H
Aristolactama CIII	OMe	CH ₂ OH	OMe	H
Aristolactama DII	OH	CH ₂ OH	H	H
Aristolactama DIII	OH	CH ₂ OH	OMe	H

También se han aislado: N-glucósidos de la aristolactama I, de la aristolactama C₂₆, de la cefaranona A₂₉ y el N-(6'-trans-p-cumaroil)-β-D-glucósido de la aristolactama I₃₃; una aristolactama a la que no se le ha podido determinar completamente su estructura, rojo de aristoloquia₂₆, (Figura VI), la 2-hidroxi-8-metoxi-cefaranona A₂₉ y las 9-metoxiaristolactamas I, II y III₂₈.

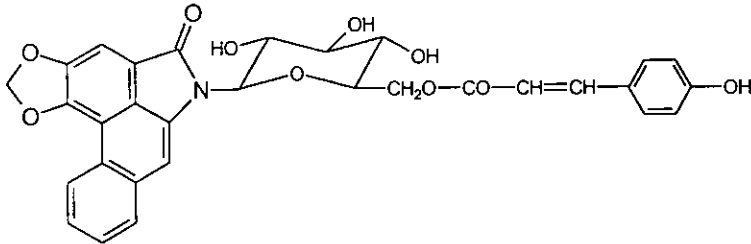
Figura VI



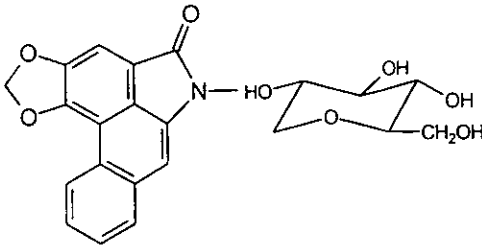
Aristolactama N-β-D-glucósido



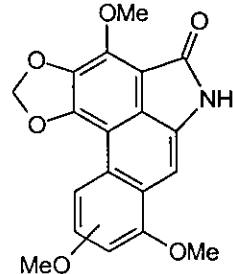
Aristolactama C N-β-D-glucósido



N-(6'-trans-p-cumaroil)-β-D-glucósido de la aristolactama I



Cefaranona A N-β-D-glucósido



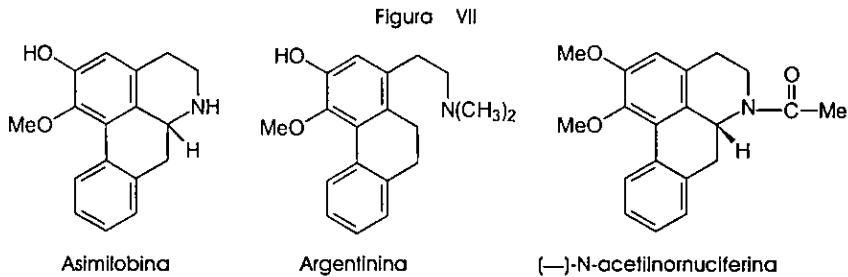
Rojo de Aristoloquia

Aunque se conoce poco sobre la biosíntesis de las aristolactamas, su estructura sugiere que pueden provenir de la oxidación de alcaloides aporfínicos, del tipo 4-hidroxi, 5-oxo y 4,5-dioxiaporfínicos³⁴.

C.3 Alcaloides Isoquinolínicos

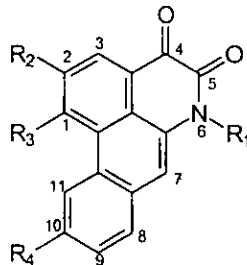
En este grupo se encuentran alcaloides de diferentes tipos:

- * Aporfinas, como la asimilobina, argentinina₂₆, (—)-N-acetilnornuciferina₃₅, (Figura VII)



- * 4,5-dioxiaporfínicos, como la tuberosinona y su N-β-D-glucósido₂₆, las tuberosinonas B y C₃₆, la 4.5 dioxodehidro-asimilobina, la aristolodiona, y la Cefaradiona A₃₇(Tabla VII).

Tabla VIII 4,5-dioxiaporfínicos



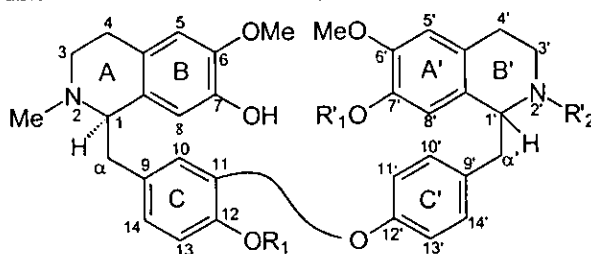
Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Tuberosinona	H	O-CH ₂ -O		OH
Tuberosinona N-β-D-glucósido	Glu	O-CH ₂ -O		OH
Tuberosinona B	Me	O-CH ₂ -O		OMe
Tuberosinona C	Me	OMe	OMe	OMe

4,5-dioxodehidro-asimitobina	H	OH	OMe	H
Aristolodiona	Me	OH	OMe	H
Cefaradiona A	Me	O-CH ₂ -O		H

* Bisbencilisoquinolinas, formados por dos unidades de bencilisoquinolinas, unidas por enlaces difenil-éter. La numeración de estos alcaloides puede observarse en la Tabla IX. Por convención, se le llama cabeza a la parte formada por los anillos A-B (A'-B') y cola, al anillo C (C') (Tabla IX).

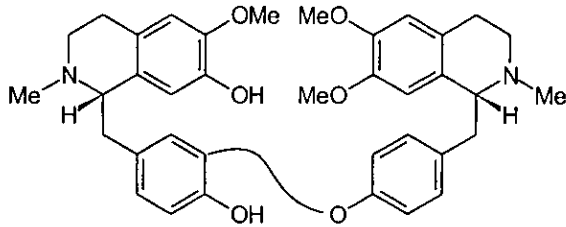
Así, es posible clasificar a estos compuestos en 26 grupos, variando el número de enlaces difenil-éter y las partes que se encuentran unidas por éstos (cabeza-cabeza, cola-cabeza, cola-cola). Los alcaloides de este tipo que se han reportado para aristoloquias están: unidos cola a cola, como la (-)-pampulhamina, la (-)-geraldoamida, la (-)-pedroamina₁₃, la (-)-(R,R)-7'-O-metilcuspidalina₂₆ (Tabla IX) y la (-)-temuconina₂₈ (Figura VIII); unidos cabeza a cola por dos enlaces difenil-éter como la (-)-curina₂₆ (Figura IX); y unidos cabeza a cabeza y cola a cola, como la (+)-tetrandrina. (Figura X)

Tabla IX Alcaloides bisbencilisoquinolínicos unidos cola a cola



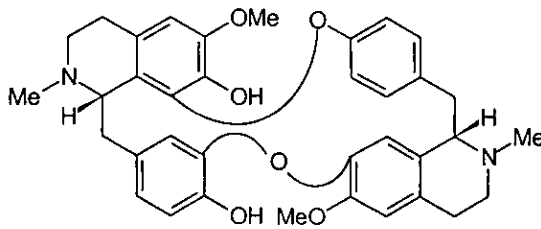
Compuesto	R ₁	R' ₁	R' ₂
(-)-Pampulhamina	H	Me	H
(-)-Geraldoamida	Me	Me	H
(-)-Pedroamina	H	H	H
(-)-(R,R)-7'-O-metilcuspidalina	Me	Me	Me

Figura VIII

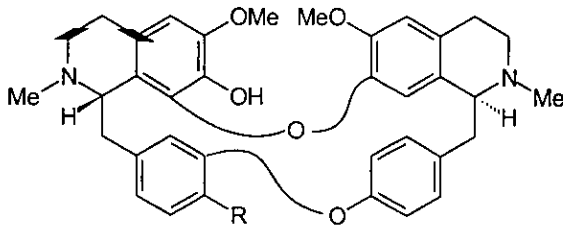


(-)-Temuconina

Figura IX



(-)-Curina

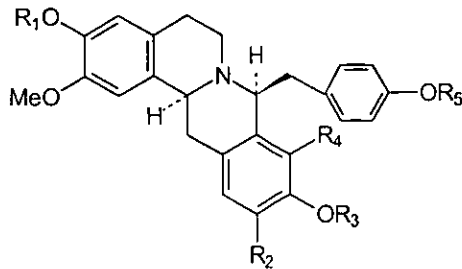
Figura X_{38,39}

R = OH

R = OMe → (+)-Tetrandrina

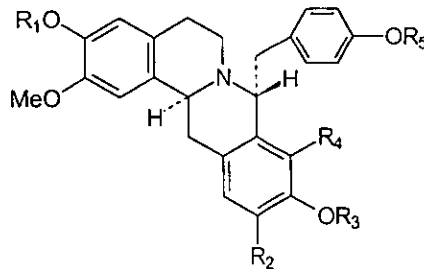
* 8-bencilberbínicos, como los que pueden observarse en las tablas X y XI₄₀ y el (-)-8β-(4'-hidroxibencil)-2,3-dimetoxiberbin-10-ol₄₁ (figura XI)

Tabla X Alcaloides 8-bencilberbínicos



R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
H	OH	β-Glu	H	H
H	OH	α-Xil	H	H
H	OH	H	H	H
Ac	H	Ac	α-Glu-Ac ₄	Ac
Ac	OAc	Ac	H	Ac

Tabla XI Alcaloides 8-bencilberbínicos



R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Ac	OAc	β-Glu-Ac ₄	H	Ac
H	OH	H	H	Me
H	H	β-Xil	OH	H
H	H	β-Glu	OH	H
Ac	H	Ac	OAc	β-Glu-Ac ₄

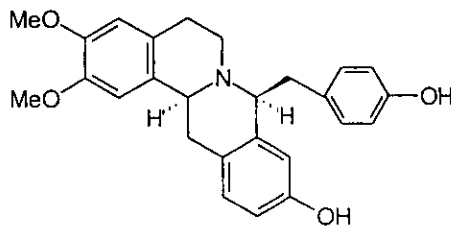
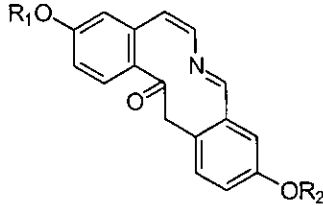


Figura XI (-)-8-(4'-hidroxibencil)-2,3-dimetoxiberbin-10-ol

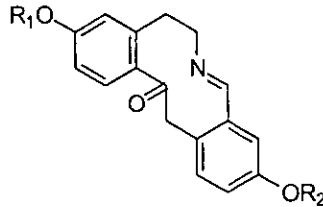
+ Protopinicos, como las constrictosinas (Tablas XIII y XIV)

Tabla XIII Constrictosinas



Compuesto	R ₁	R ₂
3,5-di-O-metilconstrictosina	Me	Me
Constrictosina	H	H
3-O-metilconstrictosina	Me	H

Tabla XIV Constrictosinas



Compuesto	R ₁	R ₂
5,6-dihidro-3,5-di-O-metilconstrictosina	Me	Me
5,6 dihidroconstrictosina	H	H

Finalmente, también se han encontrado alcaloides de tipo cuaternario:

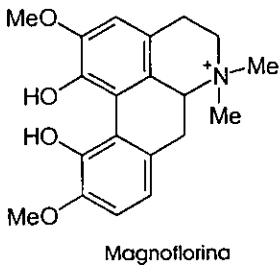


Figura XI₂₆

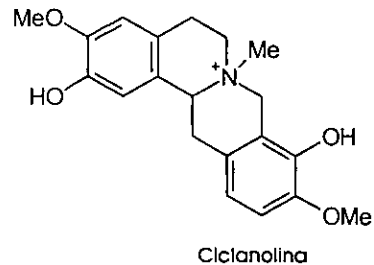
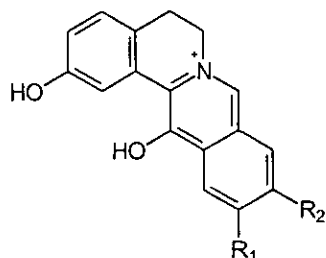
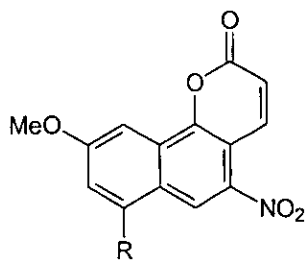


Tabla XV Alcaloides 13-oxidodibenzo[a,g]-quinolizínicos₄₁

R ₁	R ₂
H	OH
H	O-Glu

C.4 Otros

En este grupo pueden mencionarse tanto compuestos biosintéticamente relacionados con los ácidos aristolóquicos, aristolactamas y alcaloides bencilisoquinolínicos, como las tariacupironas que también son compuestos nitrados (Tabla XVI), o la moupinamida y la otra amida que se muestran en la figura XII y algunos de origen biosintético diferente, como la alantoína (Figura XIII).

Tabla XVI Tariacupironas₂₀

R
H
OMe

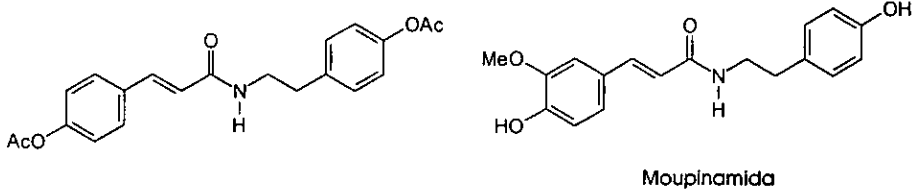
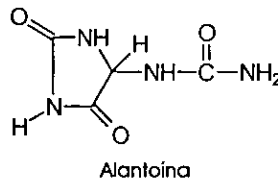
Figura XII₄₈

Figura XIII



D. Actividad Biológica

Si se compara la cantidad de compuestos nitrogenados de *Aristolochia* que se han aislado y caracterizado, con los reportes de actividad biológica de los mismos, existe una gran discrepancia en cuanto al número, esto se debe a varias razones; una, como ya se mencionó, es la pequeña cantidad que contienen las plantas, razón por la cual, se aísla sólo el suficiente para caracterizarlos, impidiendo llevar a cabo las pruebas biológicas.

Otra razón por la cual hay tan pocos reportes de actividad individual (hay mayor cantidad de estudios de los extractos obtenidos de las plantas) se debe a que los estudios se centran principalmente en buscar actividad anticancerígena, lo cual centra la atención en los ácidos aristolóquicos.

Es necesario considerar que, como la mayor parte de estos experimentos se llevan a cabo en países desarrollados, donde algunas enfermedades, como las infecciones intestinales o las mordidas de animales ponzoñosos, no representan problemas de salud pública, una gran parte del potencial de los compuestos aislados no se toma en cuenta (considerando su

uso tradicional), limitando en gran medida los resultados obtenidos. Sin embargo, en países como México, la situación de salud pública es diferente, por lo que se vuelve muy importante el explorar las posibilidades de aplicación de los compuestos que se aislen.

A continuación se enumeran las moléculas que se han reportado como activas:

Ácido aristolóquico I:

(Tabla III)

- Citotóxico contra células de leucemia linfocítica P-388 y NSCLN6 (carcinoma epidermoide bronquial de origen humano)
- Antibacteriano contra: *Staphylococcus aureus*, *Sta. epidermides*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*₄₃
- Produce contracción del útero aislado de rata preñada
- Estimula el íleo de cobayo₄₅
- Estimula la fagocitosis de leucocitos
- Inactiva el veneno de *Naja atra* y *Bungarus multicinctus*
- Quimioesterilizante de insectos₂₆

Ácido aristolóquico IV:

(Tabla III)

- Mutagénico débil₄₄

Aristolósido:

(Figura III)

- Antitumoral₂₆

Ariskaninas:

(Tabla IV)

- Inhiben la agregación plaquetaria inducida por ácido araquidónico [100 μ M], colágeno [10 μ M] y factor de agregación plaquetaria [2ng/mL] en conejos₃₀

<u>Aristolactama I_g</u> : (Tabla V)	<ul style="list-style-type: none"> --Citotóxico contra células de leucemia linfocítica P-388 y NSCLN6 (carcinoma epidermoide bronquial de origen humano) -Antibacteriano contra: <i>E. coli</i>, <i>P. aeruginosa</i>, <i>S. faecalis</i>, <i>Sta. aureus</i> y <i>Sta. epidermides</i>₄₃
<u>N-(6'-trans-p-cumaroil)- β-D-glucósido de la aristolactama I:</u> (Figura V)	<ul style="list-style-type: none"> -Antibacteriano contra microorganismos Gram (+)₃₃
<u>Alcaloide bisbencilisoquinolínico unido cabeza a cabeza y cola a cola:</u> (Figura X)	<ul style="list-style-type: none"> -Inhibidor de la estearasa de la acetilcolina₃₉
(-)-Curina Figura IX	<ul style="list-style-type: none"> -Vasopresor -Intensifica la contracción uterina₄₇
<u>(+)-tetrandrina:</u> (Figura X)	<ul style="list-style-type: none"> -Antiparasitario contra <i>Plasmodium falciparum</i> -Antihipertensivo, antiarritmogénico y antianginoso. -Antitumoral y aunque es un promutágeno débil, se ha demostrado que amplifica los efectos genotóxicos de la mitomicina C -Inhibe la fibrosis pulmonar y reduce las alteraciones inmunológicas en ratas -Previene la degranulación de mastocitos y liberación de histamina₄₈
<u>Constrictosinas</u> (Tablas XIII y XIV)	<ul style="list-style-type: none"> -Inhiben las contracciones provocadas por: descarga eléctrica, acetilcolina e histamina₄₁

- Magnoflorina:
(Figura XI)
- Disminuye la presión arterial en conejos
 - Produce hipotermia en ratones
 - Produce contracción del útero aislado de rata preñada
 - Estimula el íleon de cobayo⁴⁴
- Isoboldina:
(Figura XIV)
- Coclaurina:
(Figura XIV)
- Relajante muscular (tráquea y útero) con actividad inespecífica y reversible⁴⁶
- Moupinamida:
(Figura XIII)
- Inhibe síntesis de prostaglandinas broncoconstrictoras
 - Relajante muscular (tráquea y útero) con actividad inespecífica y reversible⁴⁶

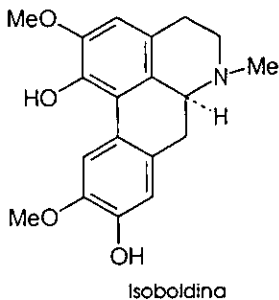
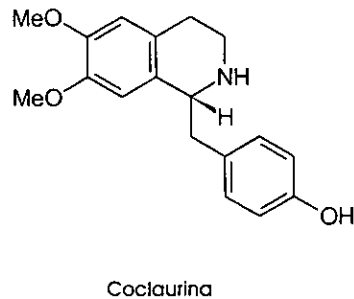


Figura XIV



II. DESARROLLO EXPERIMENTAL

A. Parte química

A.1 Material y métodos

Los puntos de fusión se determinaron en un equipo Fischer-Johns; los espectros de infrarrojo, en un espectrofotómetro Perkin Elmer, en pastillas de KBr. Los espectros de resonancia magnética protónica y de ^{13}C , fueron obtenidos en un espectrofotómetro Varian VXR-300S, empleando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los espectros de masas, se determinaron en un aparato Hewlett Packard 5988A, la muestra se introdujo de manera directa.

Los análisis cromatográficos se efectuaron siguiendo las técnicas convencionales, utilizando placas de vidrio recubiertas de gel de sílice Merck 60 F₂₅₄, de 0.25 mm de espesor (cromatografía analítica) y de 2.00 mm de espesor (cromatografía preparativa). Los sistemas de elución empleados se enlistan en la tabla XVI.

Tabla XVI Sistemas de elución

Sistema	Disolventes	Proporción
I	CH_2Cl_2 -EIOH	9:1
II	C_6H_6 - CH_3COCH_3 , CHOOH	100:10:1
III	CH_2Cl_2 -EIOH	95:5
IV	CH_3OH - NH_4OH - CH_2Cl_2	30:2:218
V	CH_2Cl_2 -MeOH	75:25

El material vegetal se obtuvo en los alrededores de Jalapa, Veracruz, en 3 cosechas sucesivas, reuniéndose un total de 408.92 g de tallos y 1078.03 g de hojas.

Por separado, los tallos y las hojas se secaron a temperatura ambiente, se molieron en un molino Willey de cuchillas, modelo 4, usando mallas de 1 mm y se maceraron en metanol (MeOH) a temperatura ambiente hasta el

agotamiento total. Los extractos obtenidos se concentraron al vacío, obteniéndose 28.53 g de extracto de tallos y 70.91 g de extracto de hojas.

A ambos extractos se les agregó H_2SO_4 1% formándose un precipitado café-rojizo, que se filtró. El filtrado se extrajo con cuatro porciones de éter etílico (fracción L); con el fin de separar los alcaloides, finalmente, la fase acuosa se alcalinizó con Na_2CO_3 y se extrajo nuevamente con cuatro porciones de Et_2O (fracción A_1). El método experimental puede verse esquematizado en la figura XV.

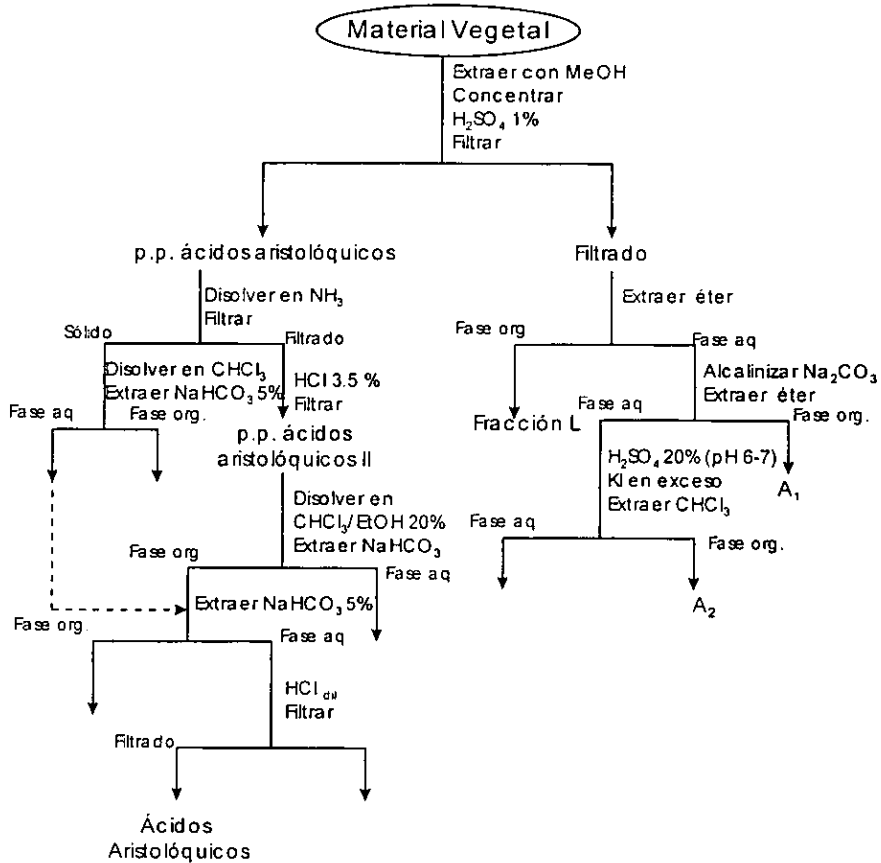
Todas las fracciones de hojas y tallos son cromatográficamente iguales, excepto las A_1 . Las fracciones A_1 de hojas y tallos revelaron la presencia de alcaloides al ser rociadas con reactivo de Dragendorff (sistema de elución I).

A.2 Aislamiento y caracterización espectroscópica del ácido aristolóquico

El precipitado obtenido al acidificar el extracto, se disolvió en NH_3 3% y se filtró, separándose así, las clorofilas. Al filtrado se le agregó HCl 3.5% para inducir nuevamente a la precipitación de la mezcla de ácidos aristolóquicos, que se filtró y se disolvió en una mezcla de cloroformo-etanol (8:2); la solución se extrajo con NaHCO_3 5%. La fase acuosa se acidificó con HCl diluido volviendo a precipitar los ácidos aristolóquicos.

Para extraer los ácidos que pudieran quedar atrapados en las clorofilas separadas, se disolvieron en cloroformo (CHCl_3) y se extrajeron con NaHCO_3 5%. La fase acuosa se acidificó con HCl , obteniéndose un poco de precipitado de ácidos aristolóquicos (figura XV). Ambos precipitados se combinaron, resultando 1.9035 g en total.

Figura XV



Posteriormente, se montó una columna de gel de sílice 70-230 mesh con 1.5 g de la mezcla de ácidos (1:60), usando como fase móvil cloroformo con una proporción creciente de metanol (hasta llegar a un 20%).

Las fracciones se cromatografiaron (ccf sistema II x3, revelando con H₂SO₄ 5N), reuniéndose las que resultaron iguales; de aquellas que corresponden al sistema 83:17 CHCl₃/MeOH (164 mg) se recrystalizaron de MeOH, 25 mg de agujas amarillas con un punto de fusión de 286°C (Ácido I)

y que presenta un R_f de 0.57 en el sistema antes mencionado. Sus propiedades espectroscópicas son:

- × IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} (Espectro 1): 3409.87, que corresponde a COO-H, 1594.9, carbonilo de ácido; 1560.69, que corresponde a la unión C-C en un anillo aromático; 1518.28 y 1343.15, bandas del grupo nitro y 1043.90 que corresponde a la unión C-O-C.
- × HNMR (DMSO- d_6) (Espectro 2): δ 7.765 y 8.466, ambos señales simples, que integran para 1H; 7.728, señal triple que también integra para 1H ($J = 3.3$ Hz); 4.035, señal simple que integra para 3H y 6.368, señal simple que integra para 2H.
- × IEMS m/z (intensidad relativa) (Espectro 3): 341[M]⁺ (18), 295 (88), 265 (23), 239 (16), 224 (18), 209 (16), 196 (19).

Una cromatografía en placa fina de la fracción L con el sistema II, reveló la presencia de ácidos aristolóquicos, por lo que se montó una columna similar a la descrita anteriormente, para los 838.7mg obtenidos. Se recrystalizaron 5 mg del ácido I que se describió anteriormente.

A.3 Aislamiento y caracterización espectroscópica de alcaloides

De los 180 mg obtenidos de fracción A₁ de hojas, 90 mg se aplicaron a una placa cromatográfica preparativa de 20x20 cm, que se eluyó en el sistema I separándose, una banda con $R_f = 0.50$ (18 mg); ésta, resultó ser una mezcla en la que el compuesto mayoritario era un alcaloide. Para separarlo, se llevó a cabo una cromatografía analítica (en dos placas) usando el sistema de elución III, aislándose 8 mg de una sustancia amorfa, color café y con un $R_f = 0.55$ (Alcaloide I). Sus propiedades espectroscópicas son:

- × IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} (Espectro 6): 3380.53, que corresponde a -OH de fenol; 2926.84 y 2855.82 que se deben a la vibración del enlace C-H

de alquilos; 2963.28 y 2872.40, del enlace C-H de aromáticos; 1724.67, que corresponde a un carbonilo de lactona; 1640 y 1462.63, debidas a la vibración del enlace C-C aromático; 1379.88, correspondiente a CH₃; 1261.02 del enlace C-O de un carbonilo, 1094.22 y 1026.24, que corresponden a la ligadura C-O de fenol.

- × IEMS m/z (intensidad relativa) (Espectro 7): 233 [M]⁺ (1), 218 (13), 174 (75), 160 (100), 146 (32), 132 (29), 107 (5), 93 (5), 76 (6)
- × H¹ NMR (CHCl₃-d₃) (Espectro 8): δ 7.143 y 7.638, señales dobles que integra para 1H cada una (J= 7.8 Hz); 2.1777, señal simple, que integra para 1H; 3.050-3.191 y 3.325-3.504, multipletes, que integran para 2H cada uno; 3.621-3.771, señal múltiple, que integra para 1H; 1.24, señal simple, que integra para 3H.
- × C¹³ NMR (CHCl₃-d₃) (Espectro 9): δ 167.733, 156.529, 150.407, 141.516, 131.000, 128.789, 124.541, 73.207, 53.390, 45.789, 32.783, 25.431, 18.122.

Los 44 mg que se obtuvieron de fracción A₁ de tallos, se aplicaron a una placa cromatográfica preparativa de 20x20 cm y se eluyó con el sistema IV, x3, separándose un compuesto con r_f=0.53 (Alcaloide II, 5 mg), al cromatografiarse con el sistema IV x3, se observó que aún estaba impuro, sin embargo, como se contaba con tan poca cantidad, no se continuó con su purificación. Las propiedades espectroscópicas del compuesto aislado son:

- × IEMS m/z (intensidad relativa) (Espectro 4): 299 [M]⁺ (1), 192 (100), 177 (48), 93 (31).
- × H¹ NMR (CHCl₃-d₃) (Espectro 5): δ 2.17 y 3.06, ambas señales simples, que integran para 3H cada uno

B. Pruebas Biológicas

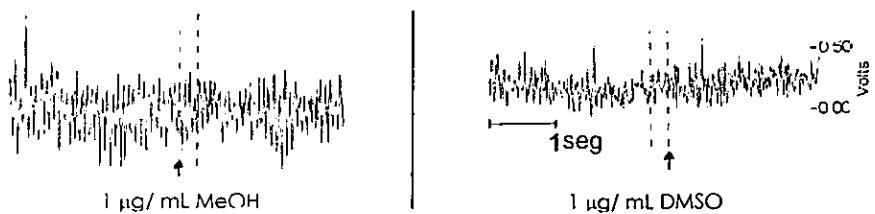
La determinación de la actividad biológica de los siguientes materiales:

- A) Extracto metanólico
- B) Fracción A
- C) Mezcla de ácidos aristolóquicos
- D) Alcaloide I
- E) Ácido I

se llevó a cabo utilizando la siguiente metodología.

Se prepararon soluciones stock de los compuestos antes mencionados, con concentración de 1 mg/mL y, para mejorar su solubilidad en agua, se emplearon disolventes hidrotóxicos, como metanol (MeOH) y dimetilsulfóxido (DMSO) –cosolventes-; la cantidad empleada en cada caso, se encontraba dentro del rango sugerido por Braak₄₉ para el ileon de rata: 1.1 g/L para el MeOH, y 1.0 g/L para el DMSO. Al aplicar las concentraciones de los disolventes en el tejido de prueba empleado (Figura XVI), se demostró que no ejercen ningún tipo de efecto sobre el mismo.

Figura XVI



Actividad de los disolventes sobre el tejido de prueba. Se observa que tanto el metanol, como el dimetilsulfóxido, a las concentraciones empleadas, no presentan de actividad. La flecha indica el momento de aplicación.

El cosolvente empleado en cada caso puede observarse en la tabla XVII. Estas soluciones se mantuvieron en refrigeración hasta que fueron usadas.

Tabla XVII Cosolventes empleados para preparar las soluciones stock

Compuesto	Cosolvente
Extracto metanólico	MeOH
Fracción A	MeOH
Mezcla de ácidos aristolóquicos	DMSO
Alcaloide I	DMSO
Mezcla de ácidos aristolóquicos	DMSO

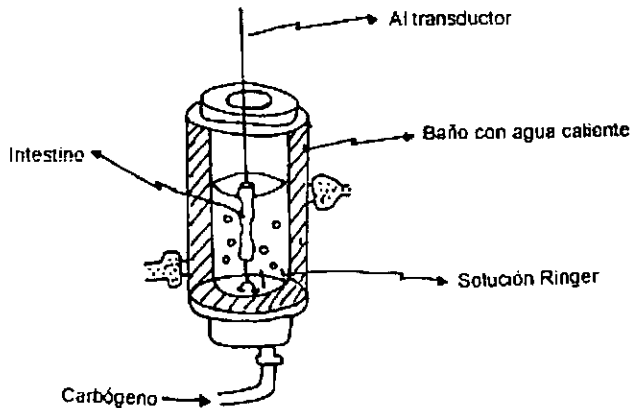
Se utilizaron 20 ratas macho cepa Wistar con un peso de entre 180 y 230 g, que fueron privadas de alimento 8-12 horas antes de realizar el experimento, previa adaptación a las condiciones del laboratorio (tuvieron libre acceso al agua). Los registros se llevaron a cabo usando un equipo BIOPAC sistema MP100, con hardware y software (AcqKnowledge) incluidos. La tensión del equipo se calibró colocando una pesa de 2.4615 g en la argolla de 50 g de los 4 transductores, lo que produjo un desplazamiento en las señales de 0.44364 V.

Las ratas se sacrificaron por dislocación cervical y se colocaron en posición supina sobre la mesa practicándoseles una incisión longitudinal en el abdomen, localizando y extrayendo la porción intestinal que corresponde al íleo. El tejido se transfirió a una caja Petri con solución Ringer (composición en mM: NaCl, 137.9; KCl, 2.7; NaHCO₃, 11.9; CaCl₂, 1.82; KH₂PO₄, 0.37; MgCl₂, 0.74 y glucosa 5.56) a 37°C ± 1°C de temperatura, se eliminó el mesenterio adherido a él y se cortaron cuatro fragmentos de aproximadamente dos cm, cada uno, a los que se les amarró en un extremo un hilo de sutura de 5 cm y en el extremo opuesto, otro de 20 cm.

Los fragmentos se colocaron en cámaras para tejido aislado convencionales, sujetándolas por el hilo corto y en el orden siguiente: en la que corresponde al canal uno se coloca la porción proximal al estómago y así sucesivamente, de tal forma que en el canal cuatro, se encuentre el fragmento distal. Las cámaras se llenaron con 20 mL de solución Ringer

también a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y, por medio de una manguera, se les conectó el carbógeno (5% CO_2 y 95% O_2) con una presión suave, para oxigenarlos. El hilo largo de cada tejido se amarró al transductor del equipo en la argolla de 50 g (figura XVII).

Figura XVII



Montaje del equipo. El tejido se sujeta a la argolla ubicada en la base de la cámara, por medio de un hilo; en su otro extremo, el hilo se amarra al transductor del equipo. La cámara está llena de solución ringer a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, a la que se le burbujea carbógeno con una presión suave.

En estas condiciones, se estabilizó el tejido; posteriormente, se procedió a realizar una curva dosis-respuesta (CDR) de los compuestos A, B, C, D y E, a las concentraciones indicadas en la Tabla VIII; se registró la actividad basal durante cinco minutos, tras los cuales, se adicionó a cada cámara, un mL de la solución con concentración más baja del compuesto que se probaba, incubando el tejido hasta completar diez minutos, al cabo de los cuales se lavó el tejido con sol'n Ringer a la temperatura adecuada y se dejó estabilizar el tejido aproximadamente 15 minutos antes de aplicar la siguiente concentración. Los registros se realizaron hasta obtener una $n=16$ para cada sustancia.

Tabla XVIII. Concentraciones para realizar las CDR de los diferentes compuestos

Compuesto	Concentraciones
A	0.0312, 0.0625, 0.125, 0.25, 1.0 y 2.0 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
B	0.0019, 0.0039, 0.0078, 0.0156, 0.0312, 0.0625 y 0.125 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
C	0.0019, 0.0039, 0.0078, 0.0156, 0.0312, 0.0625 y 0.125 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
D	0.0005, 0.0010, 0.0019, 0.0039, 0.0078, 0.0156 y 0.0312 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
E	0.0002, 0.0005, 0.0010, 0.0019, 0.0039, 0.0078 y 0.0156 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

La actividad se evaluó comparando la amplitud, área bajo la curva y frecuencia de la actividad basal, con la que resultó tras la adición de los compuestos probados. A los resultados se les aplicó la prueba de *t*-Student para muestras dependientes, con una $\alpha=0.05$.

III. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Ácido I:

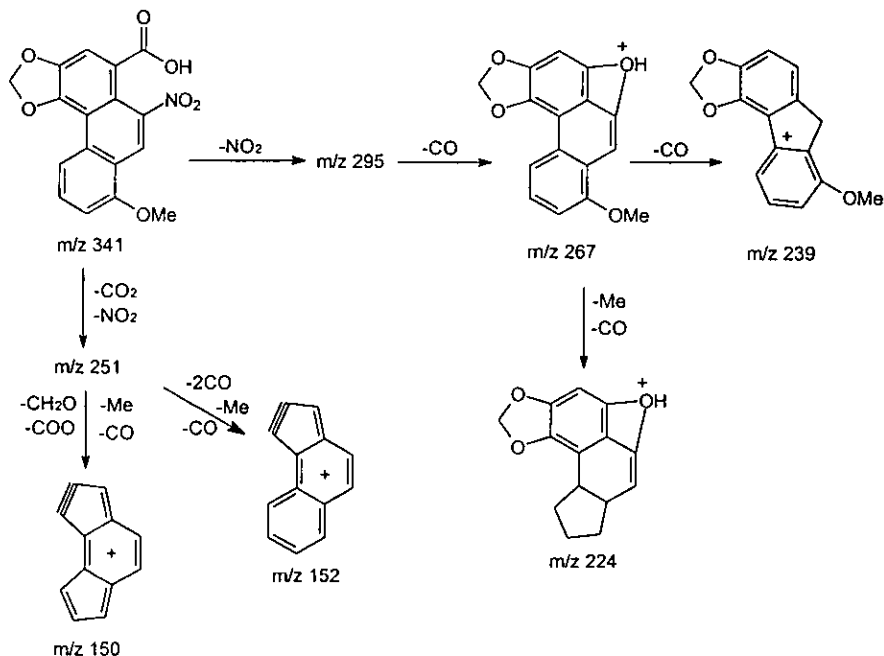
En el espectro de masas (Espectro 2), la diferencia entre el ión molecular (m/z 341) y el pico base (m/z 295) es de 46, que corresponde a la pérdida de un grupo nitro, éste también puede observarse en el espectro infrarrojo (Espectro 1), bandas en 1518.28 y 1343.15 cm^{-1} .

La presencia del grupo nitro, el elevado punto de fusión y el patrón de fragmentación del espectro de masas, hacen pensar que el compuesto posee una estructura muy estable, aunado a los antecedentes quimiotaxonómicos de *Aristolochia asclepiadifolia*, permiten suponer que se trata de un ácido aristolóquico. Por otro lado, en el espectro infrarrojo se observan tanto un grupo carbonilo (3409.87 y 1594.90 cm^{-1}), como un éter (1043.90 cm^{-1}), que son característicos de las estructuras de este tipo de compuestos, como se puede apreciar en la Tabla II.

En el espectro de RMN¹H (Espectro 3), se observa una señal simple a 6.368, que integra para 2H (O-CH₂-O), una señal triple, centrada a δ 7.7828 con $J = 7.8$ Hz que integra para 1H (H-6), una señal simple en δ 8.466 que integra para 1H y finalmente una señal simple en δ 4.035 que integra para 3H (O-CH₃) lo que permite identificar al ácido I, como el ácido aristolóquico I (Figura I).

En la figura XVIII, se muestra el patrón de fragmentación del ácido aristolóquico I, que corresponde al del espectro 2.

Figura XVIII



Espectro de fragmentación del Ácido Aristolóquico I

Alcaloide I:

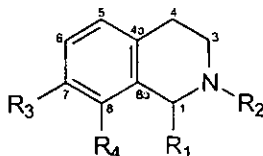
Debido a las condiciones en que se llevó a cabo el aislamiento de este compuesto, esto es, una cantidad muy pequeña del producto se encontraba disuelta en un gran volumen de disolvente, se obtuvo un producto puro, que se contaminó con ftalato de isoctilo del disolvente, que puede indentificarse con claridad en espectro de resonancia magnética protónica (Espectro 8). Esta contaminación dificulta un poco la interpretación espectroscópica, sobre todo, en cuanto a la determinación del peso molecular.

El espectro de infrarrojo (Espectro 6) muestra señales para un hidroxilo de tipo fenólico en 3380.53 , 1094.22 y 1026.24 cm^{-1} . Sin embargo, la característica más distintiva que puede observarse en este espectro, es la

presencia de una banda de carbonilo en 1724 cm^{-1} , que aparentemente corresponde a una lactona de 6 miembros, α,β no saturada. La presencia de este grupo está confirmada por una pérdida de 44 entre la señal de 218 y la de 174 en el espectro de masas (Espectro 7).

El espectro de RMN^1H , presenta a 7.638-7.612 y 7.169-7.143 ppm, dos señales dobles con una constante de acoplamiento de 7.8 Hz, que pertenecen a un sistema AB, lo cual corresponde a dos protones aromáticos en posición orto. También se observa un N-CH_3 , con un desplazamiento de 2.17 ppm, así como una serie de multipletes entre 3 y 4 ppm, atribuibles a los metilenos de un anillo piperidínico. Señales, que junto con el anillo aromático, son características de las estructuras de 1-alkil-isoquinolinas (Figura XIX).

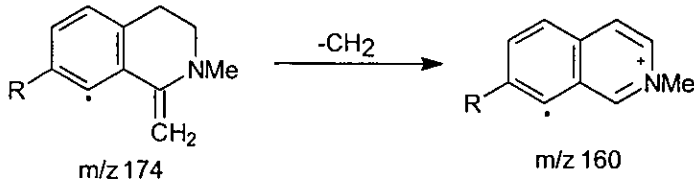
Figura XIX



Estructura y numeración de las 1-alkil-isoquinolinas

Consistentes con la estructura de isoquinolinas 1-sustituídas, son los datos de la espectroscopía de masas: el ión de 174, que puede estabilizarse por resonancia y que al perder un metileno (CH_2), genera el ión molecular (160), que por ser de tipo cuaternario, resulta sumamente estable (Figura XX). Restaría por determinar cuáles son los sustituyentes R_1 , R_3 y R_4 .

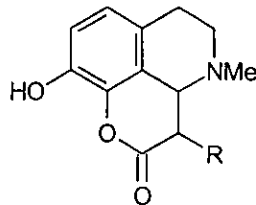
Figura XX



Formación del ión molecular del Alcaloide I

De acuerdo con la ruta biosintética de este tipo de compuestos, las posiciones libres del anillo aromático podrán estar sustituidas por radicales oxigenados, ya sean hidroxilos o metoxilos, de tal manera que en R_3 se encontraría el hidroxilo y en R_4 el éster de la lactona, que estaría unido a un metileno en R_1 , para formar el anillo. Adicionalmente, en la región de metilos y metilenos tanto del espectro de RMN^1H , como del espectro de RMN^{13}C (Espectro 9) aparecen varias señales alifáticas, lo que indica que existe al menos un metilo unido al metileno en R_1 ; sin embargo, la contaminación debida al ftalato de iso-octilo hace muy difícil elucidar cuáles señales corresponden al compuesto en cuestión y cuáles al contaminante, por lo que no se puede determinar con exactitud cómo es el sustituyente de R_1 .

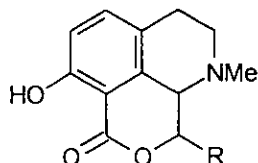
Figura XXI



Estructura propuesta para el Alcaloide I de acuerdo a la biosíntesis

Aunque la estructura mostrada en la figura XXI es consistente con la ruta biosintética principal, la señal del carbonilo del espectro infrarrojo corresponde a una lactona α,β -insaturada, lo cual implicará que la estructura del alcaloide I queda como sigue:

Figura XXII



Estructura propuesta para el Alcaloide I de acuerdo a su espectroscopía

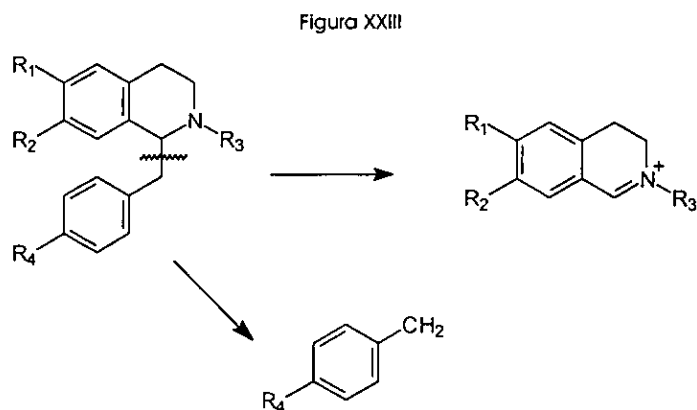
Alcaloide II:

La purificación de este compuesto fue incompleta, ya que por medio de la cromatografía preparativa descrita en la sección experimental, se obtuvo una cantidad demasiado pequeña, que no permitió una mejor purificación y la obtención de espectros de calidad adecuada. Por esta razón, el espectro de resonancia magnética protónica (Espectro 5) presenta señales muy débiles, que resultan difíciles de asignar con precisión, el espectro de masas (Espectro 4) tampoco es muy claro, pues no se puede determinar a ciencia cierta cuáles señales corresponden a la molécula en cuestión, por ello, la elucidación estructural que se presenta a continuación es parcial.

En el espectro de masas se observa la señal que corresponde al ión molecular en 192, cuya fórmula condensada es de $C_{11}H_{14}NO_2$; entre éste y el pico que le sigue en magnitud (177), existe una pérdida de 15, o sea un grupo metilo, que indica la posible presencia de un éter metílico o un N-metilo. Por otro lado, es posible observar otra señal con una masa de 107 (C_7H_7O) y una de 93 (C_6H_5O); la diferencia entre ellas es de 14, o un metileno.

Los dos grupos de señales descritos son característicos del patrón de fragmentación de los alcaloides bencilisoquinolínicos, pues inicialmente la estructura forma dos fragmentos, uno conformado por los anillos superiores (A y B) y sus sustituyentes (192) y el otro corresponde al anillo C (107) con sus

respectivos sustituyentes; la pérdida sucesiva de éstos corresponde a las señales restantes (Figura XXIII).

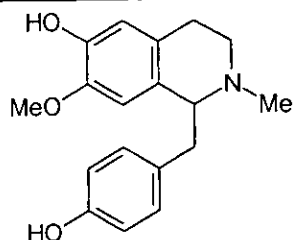


Patrón de fragmentación de los alcaloides bencil isoquinolínicos

Así, es posible determinar que el grupo R_4 es un hidroxilo, debido a el anillo C unido al metileno suman una masa de 90; como el fragmento pesa 107, existe una diferencia de 17, que corresponde al hidroxilo. Respecto del fragmento formado por los anillos A y B, se puede decir que presenta un N-metilo (corresponde a R_3), pues su señal se observa en el espectro de resonancia magnética nuclear (Espectro 5), con un desplazamiento de 2.17 ppm; también es posible observar un metoxilo en 3.06 ppm, lo cual implica que el tercer sustituyente sea un hidroxilo.

Para determinar si el metoxilo corresponde a R_1 o a R_2 , es necesario continuar el examen del espectro 5, ya que de acuerdo al trabajo publicado por Tomita₅₀ sobre sustituyentes metoxilados en bencilisoquinolinas, establece que el metoxilo que corresponde al sustituyente R_1 aparecería alrededor de 3.8 ppm; como la señal se encuentra en 3 ppm, el metoxilo se encuentra en posición R_2 . De esta manera, la estructura sugerida para este compuesto es:

Figura XXIV



Estructura propuesta para el Alcaloide II

Parte Biológica:

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de las curvas dosis-respuesta de cada uno de los compuestos probados.

Tabla XIX. Datos de la Curva Dosis-Respuesta de A

[] $\mu\text{g/ml}$	$\log []$	Promedio Amplitud	% Amplitud
0.0312	-1.5	0.02153 (± 0.018)	63.6
0.0625	-1.2	0.01949 (± 0.011)	57.7
0.125	-0.9	0.02214 (± 0.010)	65.4
0.25	-0.6	0.02750 (± 0.019)	81.4
1.00	0.0	0.02627 (± 0.008)	74.9
2.00	0.3	0.03376 (± 0.018)	100

Tabla XX. Datos de la Curva Dosis-Respuesta de B

[] $\mu\text{g/ml}$	$\log []$	Promedio Amplitud	% Amplitud
0.0019	-2.7	0.01897 (± 0.008)	42.4
0.0039	-2.4	0.02187 (± 0.007)	48.8
0.0078	-2.1	0.02880 (± 0.011)	64.3
0.0156	-1.8	0.03298 (± 0.010)	73.6
0.0312	-1.5	0.03527 (± 0.022)	78.8
0.0625	-1.2	0.04478 (± 0.020)	100
0.125	-0.9	0.04288 (± 0.008)	95.8

Tabla XXI. Datos de la Curva Dosis-Respuesta de C

[] $\mu\text{g/ml}$	log []	Promedio Amplitud	% Amplitud
0.0019	-2.7	0.01974 (± 0.006)	42.4
0.0039	-2.4	0.02700 (± 0.002)	53.2
0.0078	-2.1	0.03056 (± 0.008)	60.2
0.0156	-1.8	0.03916 (± 0.005)	77.1
0.0312	-1.5	0.03718 (± 0.021)	73.2
0.0625	-1.2	0.04926 (± 0.017)	97.0
0.125	-0.9	0.05077 (± 0.010)	100

Tabla XXI. Datos de la Curva Dosis-Respuesta de D

[] $\mu\text{g/ml}$	log []	Promedio Amplitud	% Amplitud
0.0005	-3.3	0.01439 (± 0.006)	26.8
0.0010	-3.0	0.02612 (± 0.005)	48.6
0.0019	-2.7	0.03384 (± 0.007)	63.0
0.0039	-2.4	0.04372 (± 0.006)	81.4
0.0078	-2.1	0.04464 (± 0.007)	83.1
0.0156	-1.8	0.05032 (± 0.009)	93.7
0.0312	-1.5	0.05371 (± 0.011)	100

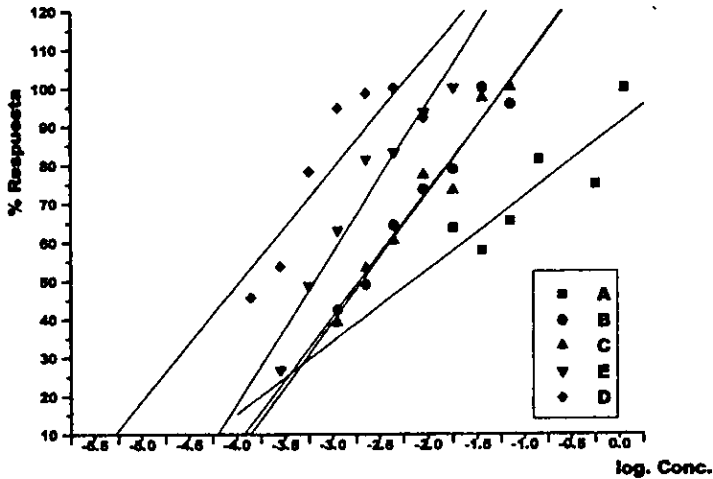
Tabla XXII. Datos de la Curva Dosis-Respuesta de E

[] $\mu\text{g/ml}$	log []	Promedio Amplitud	% Amplitud
0.0005	-3.3	0.01439 (± 0.006)	26.8
0.0010	-3.0	0.02612 (± 0.005)	48.6
0.0019	-2.7	0.03384 (± 0.007)	63.0
0.0039	-2.4	0.04372 (± 0.006)	81.4
0.0078	-2.1	0.04464 (± 0.007)	83.1
0.0156	-1.8	0.05032 (± 0.009)	93.7
0.0312	-1.5	0.05371 (± 0.011)	100

Como puede observarse en los registros (ver anexo), en todos los casos la respuesta obtenida es la contracción del músculo liso; en la que no ocurren cambios de la frecuencia, área bajo la curva y amplitud.

Al graficar el logaritmo de la concentración contra el por ciento de la respuesta (Figura XXV), se puede observar gráficamente la relación dosis-respuesta.

Figura XXV



Curvas Dosis Respuesta de los diferentes compuestos probados

En la figura XXV, puede observarse un desplazamiento de las curvas hacia la izquierda, a medida que las fracciones se purifican, lo cual significa que los compuestos puros son los más activos.

Al someter los datos a una regresión lineal, se obtuvieron los datos que se muestran en la tabla XXIII:

Tabla XXIII. Datos de regresión lineal de las curvas

Compuesto	Ordenada al origen	Pendiente	Factor de regresión	CE ₅₀ µg/mL
A	86.11	18.89	0.85	0.0123
B	131.29	32.96	0.98	0.0034
C	132.26	33.82	0.98	0.0037
D	135.19	39.27	0.97	0.0012
E	161.61	30.07	0.87	0.0002

En general, los datos se ajustan bien a la recta; el valor del factor de regresión del extracto metanólico puede deberse al hecho de que éste es

una mezcla compleja de una gran cantidad de compuestos, entre los cuales puede haber antagonistas, por lo que la respuesta obtenida es el resultado de las interacciones de todas estas sustancias sobre el tejido en cuestión. En cuanto al ácido aristolóquico, este valor tal vez indica que la molécula interactúa con una subpoblación específica de receptores.

Al comparar el valor de la pendiente de la curva obtenida con el extracto metanólico, y el resto de las fracciones y compuestos probados, se observa que éste es el menor de todos, lo cual indica que al llevar a cabo la purificación, se produce un aumento en la potencia, ello permite explicar por qué aunque los rangos de las concentraciones ensayados eran más estrechos, se siguió obteniendo la misma respuesta.

Como la respuesta obtenida es de contracción y el efecto se llevó a cabo sobre intestino, es muy posible que la actividad se llevara a cabo sobre receptores muscarínicos de tipo M_2 , pues la acetilcolina es el neurotransmisor excitatorio de mayor importancia en el intestino de los mamíferos.

CONCLUSIONES

La *Aristolochia asclepiadifolia* es una planta endémica del estado de Veracruz de la cual, se aislaron tres compuestos nitrogenados: un ácido aristolóquico y dos alcaloides bencilisoquinolínicos, sustancias que son característicos de este género de plantas. Independientemente de las propiedades ácido-base que presentan los compuestos aislados, (que permiten llevar a cabo su separación), las tres estructuras corresponden al tipo de las isoquinolinas, lo cual, desde el punto de vista biosintético, sugiere que un sólo grupo de enzimas está encargado de la síntesis de los compuestos nitrogenados. De hecho, todos los alcaloides que han sido reportados hasta la fecha, son de este mismo tipo, lo que proporciona una base sólida al hecho de considerar al ácido aristolóquico (el compuesto nitrogenado más comúnmente reportado en la literatura y probablemente el más abundante en esta familia), como el marcador quimiotaxonómico de la familia *Aristolochiaceae*.

Cabe mencionar, que los tallos contienen mayor cantidad de ácidos aristolóquicos que las hojas, sin que éste difiera mucho entre un tejido y otro, en cambio, el contenido de alcaloides sí varía, por esta razón, la medicina tradicional señala diferentes usos para cada una de las partes de la planta.

Por otro lado, en el extracto se detectaron alcaloides de tipo cuaternario que no han podido ser aislados y caracterizados estructuralmente y, que presentan un gran interés tanto desde el punto de vista químico, pues en este género no se han reportado muchos compuestos de este tipo, como farmacológico, ya que las estructuras de amonio cuaternario son capaces de actuar a nivel de placa neuromuscular, de la misma manera que algunos de los componentes de los venenos de animales ponzoñosos, lo cual puede explicar el uso etnomédico tan difundido para este tipo de plantas.

Esto mismo puede decirse de los alcaloides bisbencil isoquinolínicos, que poseen estructuras semejantes a las del curare, y que en condiciones fisiológicas pueden estar protonados, presentando estructuras de clara acción colinérgica nicotínica.

Aunque los resultados de las pruebas biológicas son preliminares, es posible afirmar que los diferentes componentes del extracto metanólico estimulan la actividad contráctil espontánea del músculo liso, probablemente al actuar sobre receptores muscarínicos de tipo M_2 .

También resultará interesante corroborar este efecto en otro tipo de tejido muscular liso, como tráquea y útero; sobre todo en este último, con el fin de comprobar la actividad uterocinética, que está relacionada con algunas de las propiedades medicinales que se le atribuyen al género *Aristolochia* (abortivo, emenagogo, facilita el parto, etc.).

BIBLIOGRAFIA

1. Watson, L, Dallwitz, M.J.
The Families of Flowering Plants: Descriptions, Illustrations, Identification and Information Retrieval, Versión 12 Enero 1998,
URL: <http://www.keil.ukans.edu/delta/>
2. Peiffer, H.W.
Annals of the Missouri Botanical Garden, 53(2), p.p. 116-119
3. Martínez, M.
Las Plantas Medicinales de México, 3ª Edición, Ediciones Botas, México, 1944. p.p. 234-242
4. Zhang, X; Zhang, J; Xunbo, L.
Faming Zhuanli Shengqing Gongkai Shuomingshu, 1993, p.p. 12; CA 120:210804n
5. Mendes, N.M; De Souza; C.P, Araujo, N; Katz, N.
Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, 81(1), 87-91 (1986)
6. Imamura, K.; Okajima, T.; Suzuki, K.; Urushizaki, F.
Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 07,215,887 [95,215,887] (CKA61K35/78), 15 Agosto 1995, JP Appl. 93(305,686), 07 Diciembre 1993, 4 p.p.; CA 123: 279767g
7. Speer, B.
Introduction to the Aristolochiales. Birthworts and Dutchman's pipes,
URL: <http://www.ucmp.berkeley.edu/anthopyta/paleoherbs/aristolochiales.html>
8. Nishida, R.; Fukami, H.
Chem. Ecol., 15(11), 2565-2575 (1989); CA 122:74264s

9. Gledhill, D.
The Names of Plants, 2ª Edición, Cambridge University press, Gran Bretaña, 1989, p.p.65
10. Ministry of Agriculture, Natural Resources and Animal Weath
International Conference an Programme for Plant Genetic Resources. Country Report for the Republic of Sudan, Marzo 1995,
URL:<http://web.icppgr.fao.org/cr/CR/SUDA/sud.html>
11. Urzúa, A, Rojas, V.
Fitoterapia, 61(2) 190-191 (1990)
12. Beckstrom-Sternberg, S.M. y Duke, J. A.
Chemical(s) Found in Plant Shown to be Effective for the Ailment Medicated, Octubre 1997, URL: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/ethnobot.pl~ngrlsb/images/gonline.gif>
13. Cortes, D; Danoun, H.; Ribeiro, J. L.; De Oliveira, A. B.
J. Nat. Prod., 50(5), 910-914 (1987)
14. Che, C.T.; Ahmed, M.S.; Kang, S.S.; Waller, D.P.; Bingel, A.S.; *et al*
J. Nat. Prod., 47(2), 331-341 (1984)
15. Tian, S.W.; Ou, L.F.; Teng, C.M.
Phytochem., 34(4), 1063-1068 (1994)
16. Duke, J.A.
CRC Handbook of Medicinal Herbs, CRC Press Inc., USA, 1989, p.p. 63
17. Waller, G.R.; Sagero-Nieves, L; Sgaramella, R. P.
Composition of Essential Oil from *Aristolochia asclepiadifolia* (Aristolochiaceae) Roots, p.p. 79-81, en: 11th Proc.-Int. Congr, Essent. Oils, Fragrances, Flavours, , Ed by Bhattacharyya, S.C.; Sen, N.; Sethi, K.L., Oxford & IBH., New Delhi, India, 1989

18. Sandoval, E.
Contribución al estudio químico de las raíces de *Aristolochia asclepiadifolia*, Tesis de Licenciatura, UNAM, México, D. F., 1990
19. Martínez, M.
Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas, Fondo de Cultura Económica, México, 1987
20. Argueta, V.A.; Cano, A.L.M.; Rodarte, M.E., *et al*
Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, Instituto Nacional Indigenista, México, 1994, tomos I-III
21. Ortega, J
Phytologia, 67(1), 94-99 (1989)
22. Achenbach, H; Reiner, W; Zwanzger, M., Domínguez, X.A.; Espinosa, B.G.; Verde, S.J.; Sánchez, V.H.
J. Nat. Prod., 55(7), 918-922 (1991)
23. Achenbach, H; Reiner, W; Zwanzger, M.; Domínguez, X.A.; Espinosa, B.G.; Verde, S.J.; Sánchez, V.H., Guajardo, T.E.M.
Planta Med., 61, 189-190 (1995)
24. Díaz, J.L.
Usos de las Plantas Medicinales de México. Monografías Científicas II, Instituto Mexicano Para el Estudio de las Plantas Medicinales, A. C., México, 1976
25. Mendieta, R.M. y Del Amo, S.
Plantas Medicinales de Yucatán, Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V., México, 1981

-
26. Chen, Z. L.; Zhu, D. Y.
Aristolochia alkaloids (1987) in *The Alkaloids* (Brossi, A.; ed), Vol 31, p.p. 29-63, Academic Press
 27. Priestap, H. A.
Phytochemistry, 26 (2), 519-529 (1987)
 28. Houghton, P.J.; Ogunveren, M.
Phytochemistry, 30(1), 253-524 (1991)
 29. Hong, L.; Sakagami, Y.; Marumo, S.; Xinim, C.
Phytochemistry, 37(1), 237-239 (1994)
 30. Wu, T. S.; Ou, L. F.; Teng, C. M.
Phytochemistry, 36(4), 1063-1068 (1994)
 31. Carreras, L. M.
Anal. Inst. Bot. Cavanilles, 30, 253-265 (1973)
 32. Priestap, H. A.
Phytochemistry, 24(12), 3035-3039 (1985)
 33. Lee, H. S.; Han, D. S.
J. Nat. Prod., 55(9), 1165-1169 (1992)
 34. Priestap, H. A.,
Phytochemistry, 24(4), 849-852(1985)
 35. Chajravartt, M; Chaudhuri, C.; Achari, B.; Chandra, S.
Planta Medica, 467 (1987)
 36. Zhu, D. Y.; Song, B. Z.; Jiang, F. X.
Planta Medica, 56, 514 (1990)
 37. Urzúa, A.; Feyer, A. J.; Shamma, M.
J. Nat. Prod., 50(2), 305-306 (1987)

-
38. El-Sebakhy, N.; Richomme, P.; Taalima, S.; shamma, M.
J. Nat. Prod., 52(6), 1374-1375 (1989)
39. Yamaguchi, T.; Ogino, T.; Sato, S.; Chin, M.
Jpn. Kokai Tokkyo Koho, JP 04,159,225 (92, 159,225) (CIA 61k31/47), 2
Jun 1992, Appl. 90/284,305, 24 Oct. 1990, 6 p.p.
40. Lopes, L. M. X.
Phytochemistry, 31(11), 4005-4009 (1992)
41. Rastrelli, L.; Capasso, A.; Pizza, C.; De Tommasi, N.
Nat Prod., 60(11), 1065-1069 (1997)
42. Watanabe, L. Y.; López, L. M.X.
Phytochemistry, 40(3), 991-994 (1995)
43. Hnou, J.; Demetzos, C.; Harvala, C.; Roussakis, C.
Int. J. Crude Drug Res., 28(2), 149-151, (1999); C. A. 114:160645q
44. El Tahir, K. E. H.
Int. J. Pharmacogn., 29(2), 101-110, (1991); C. A. 115:269858h
45. Pistelli, L.; Nieri, E.; Bilia, A. R.; Marsili, A.
J. Nat. Prod., 56(9), 1605-1608, (1993)
46. Lemos, V. S.; Thomas, G.; Barbosa, F. J. M.
Ethnopharmacol., 40(2), 141-145, (1993)
47. Munavalli, S.; Viel, C.
Ann. Pharm. Franc., 27(6), 449-464, (1969)
48. Schiff, P. L.
Nat. Prod., 54(3), 645-749, (1991)
49. Brack, K.; Frey, H-H.
J. Pharm. Pharmacol., 42, 837-841 (1990)

50. Tomita, T.
Chem. Pharm. Bull., 13(8) p. 921 (1965)

ESPECTROS

Espectro 1: IR del ácido aristolóquico I

Espectro 2: RMN ^1H del ácido aristolóquico I

Espectro 3: IEMS del ácido aristolóquico I

Espectro 4: IEMS del alcaloide II

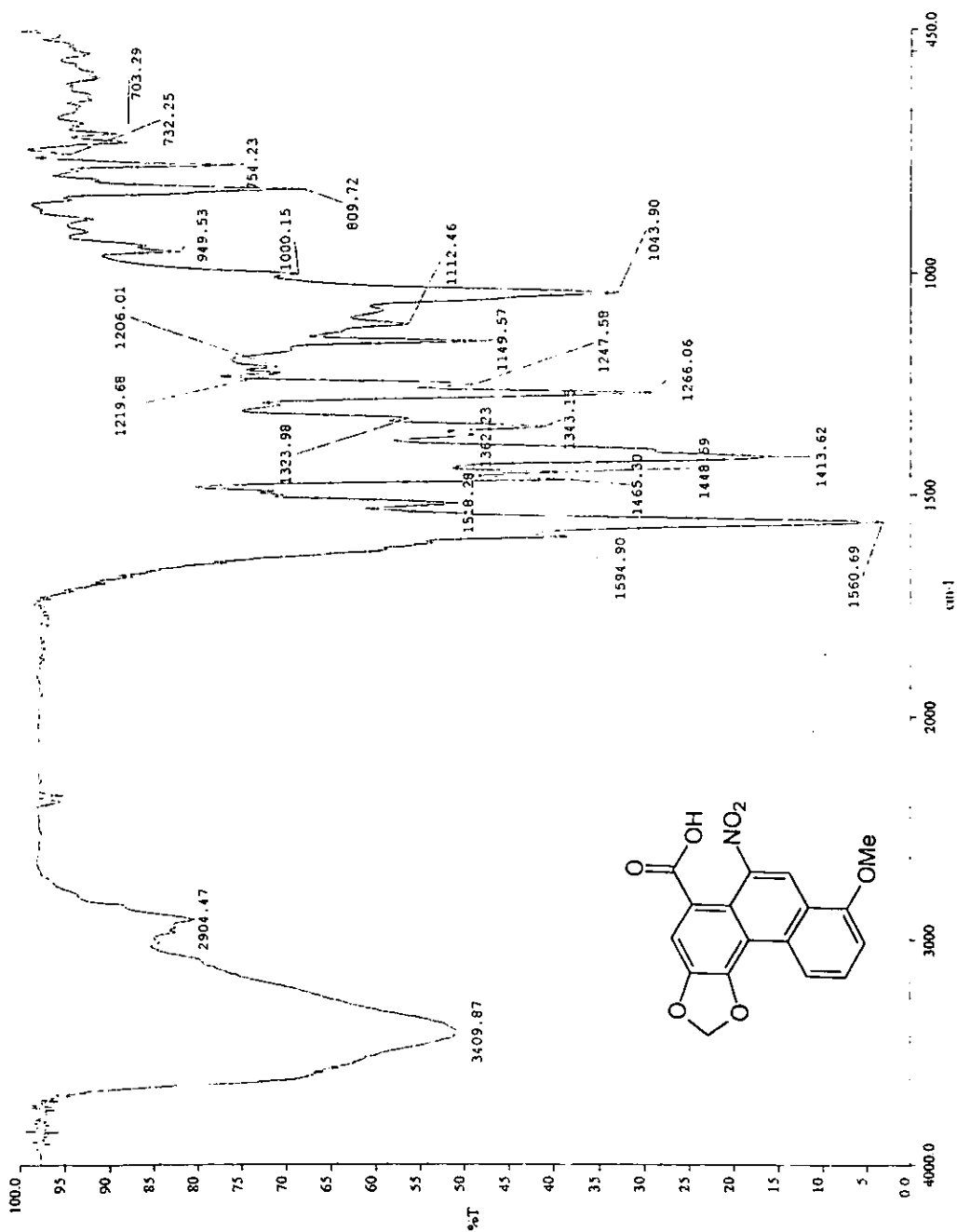
Espectro 5: RMN ^1H del alcaloide II

Espectro 6: IR del alcaloide I

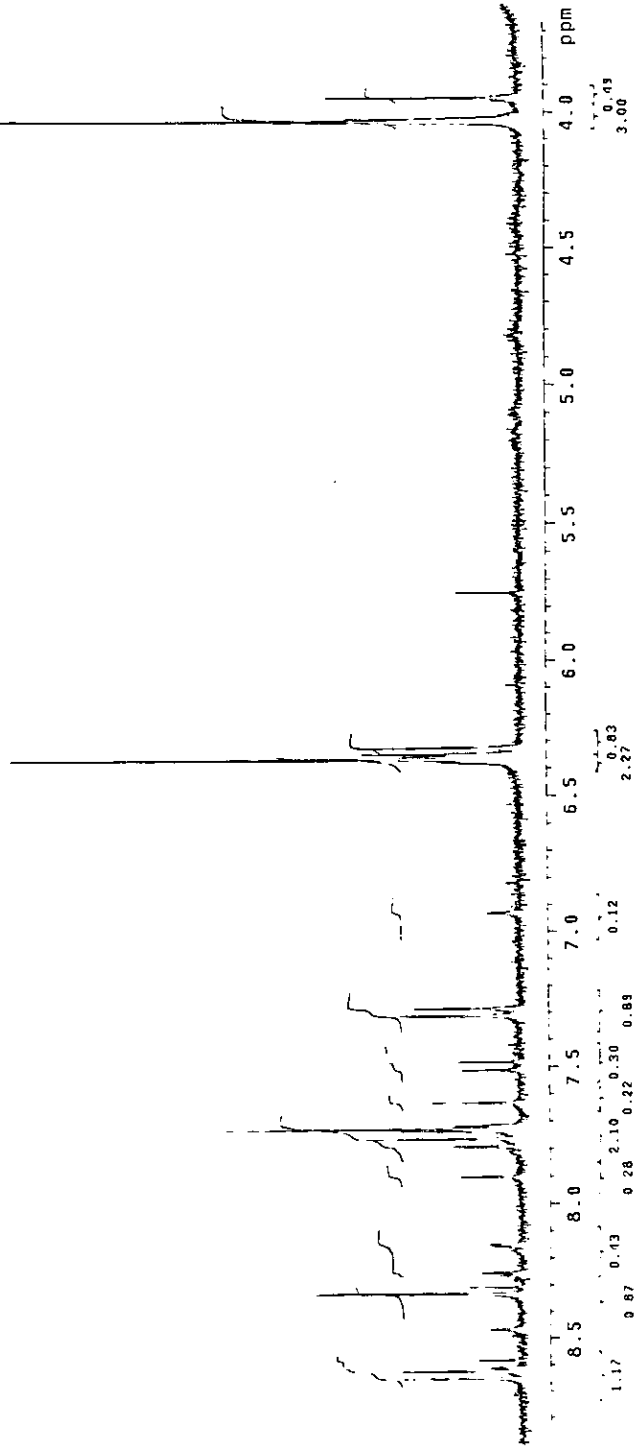
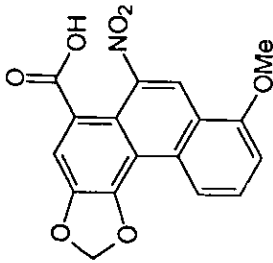
Espectro 7: IEMS del alcaloide I

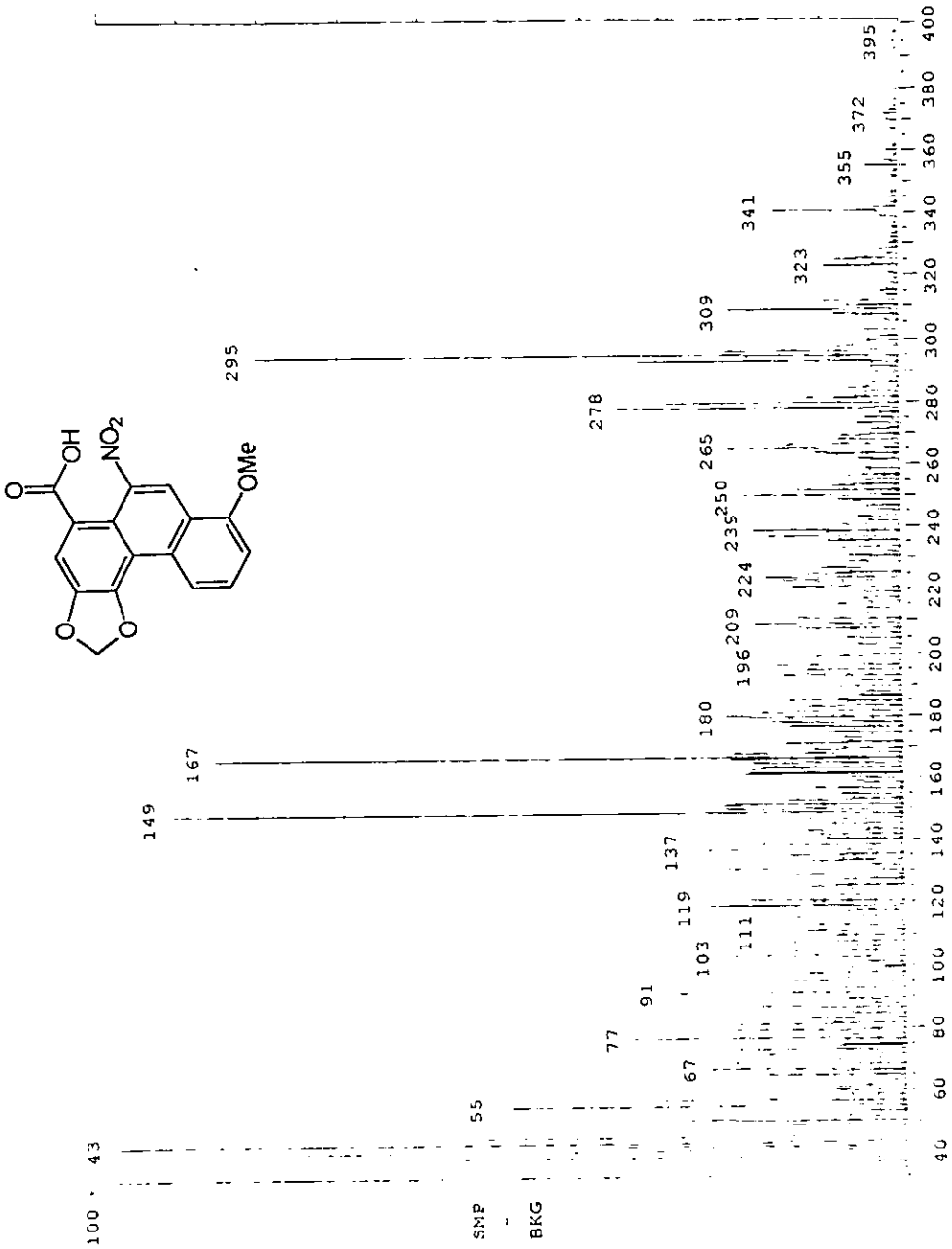
Espectro 8: RMN ^1H del alcaloide I

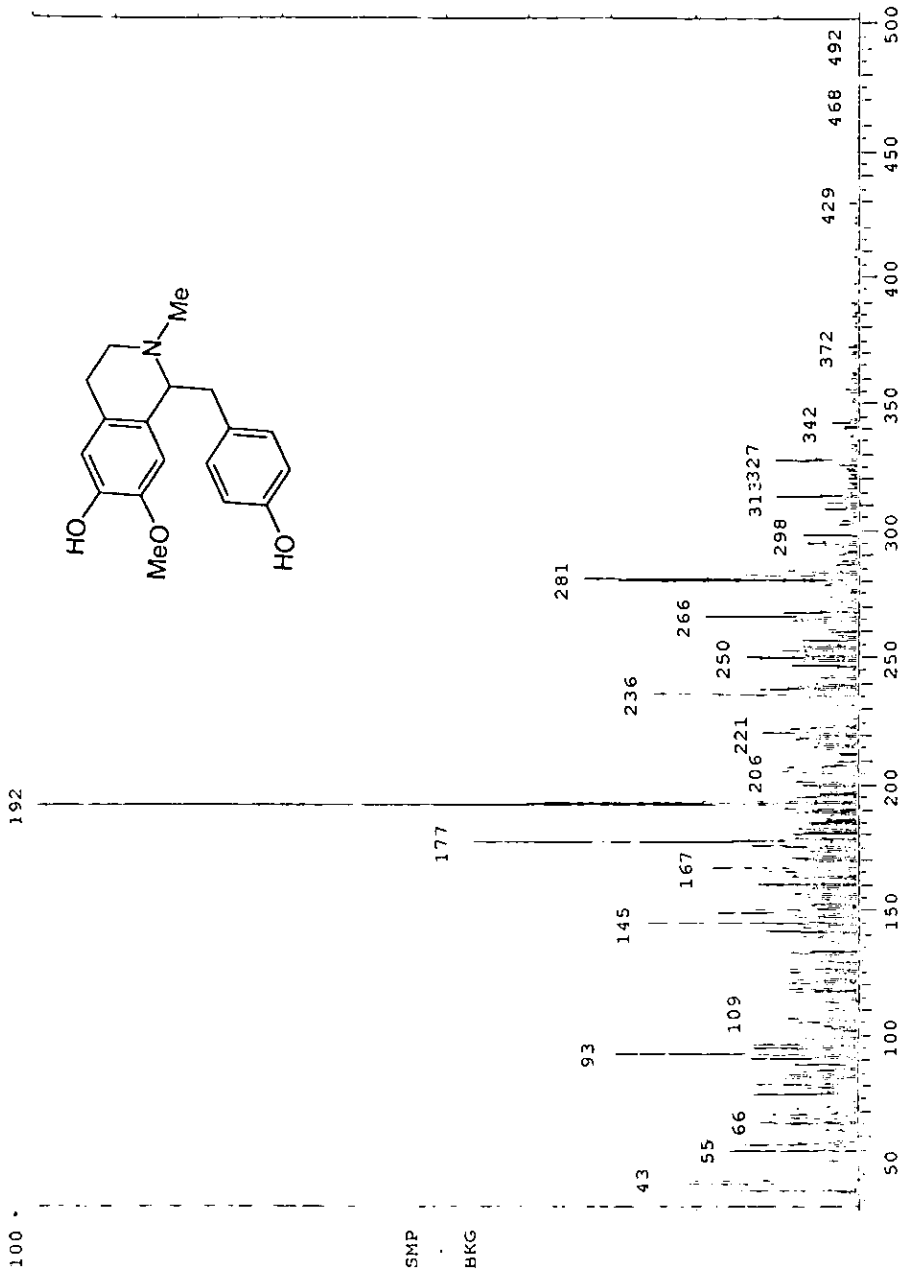
Espectro 9: RMN ^{13}C del alcaloide I

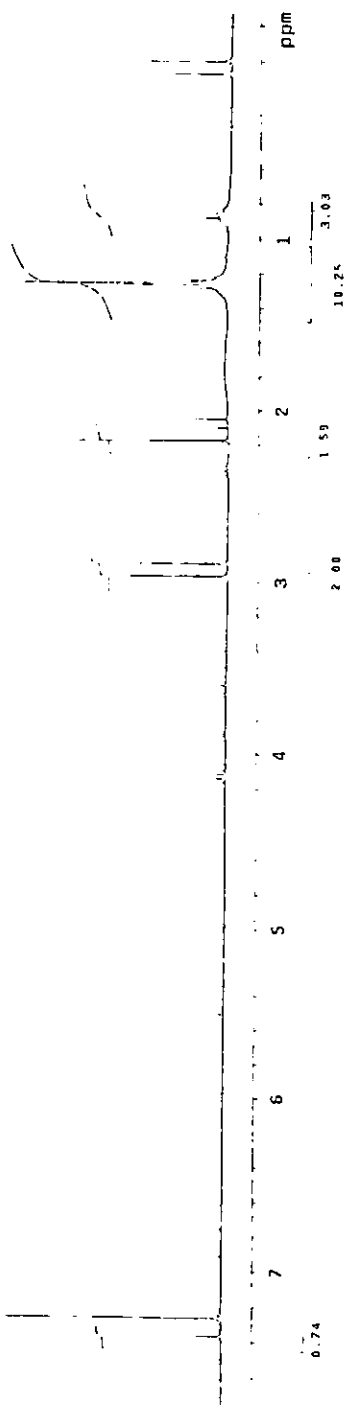
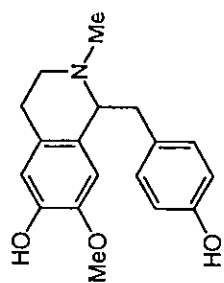


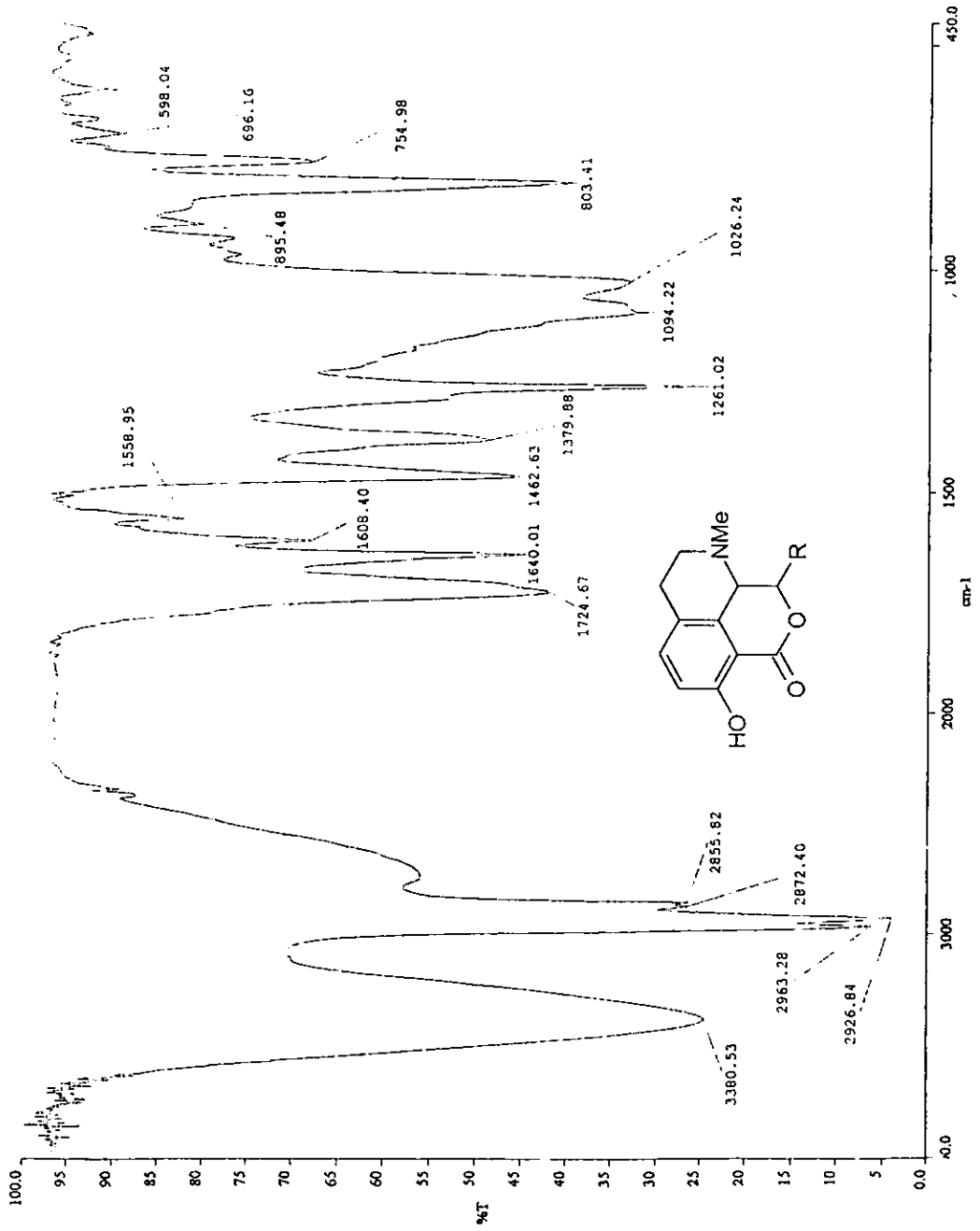
Espectro 2

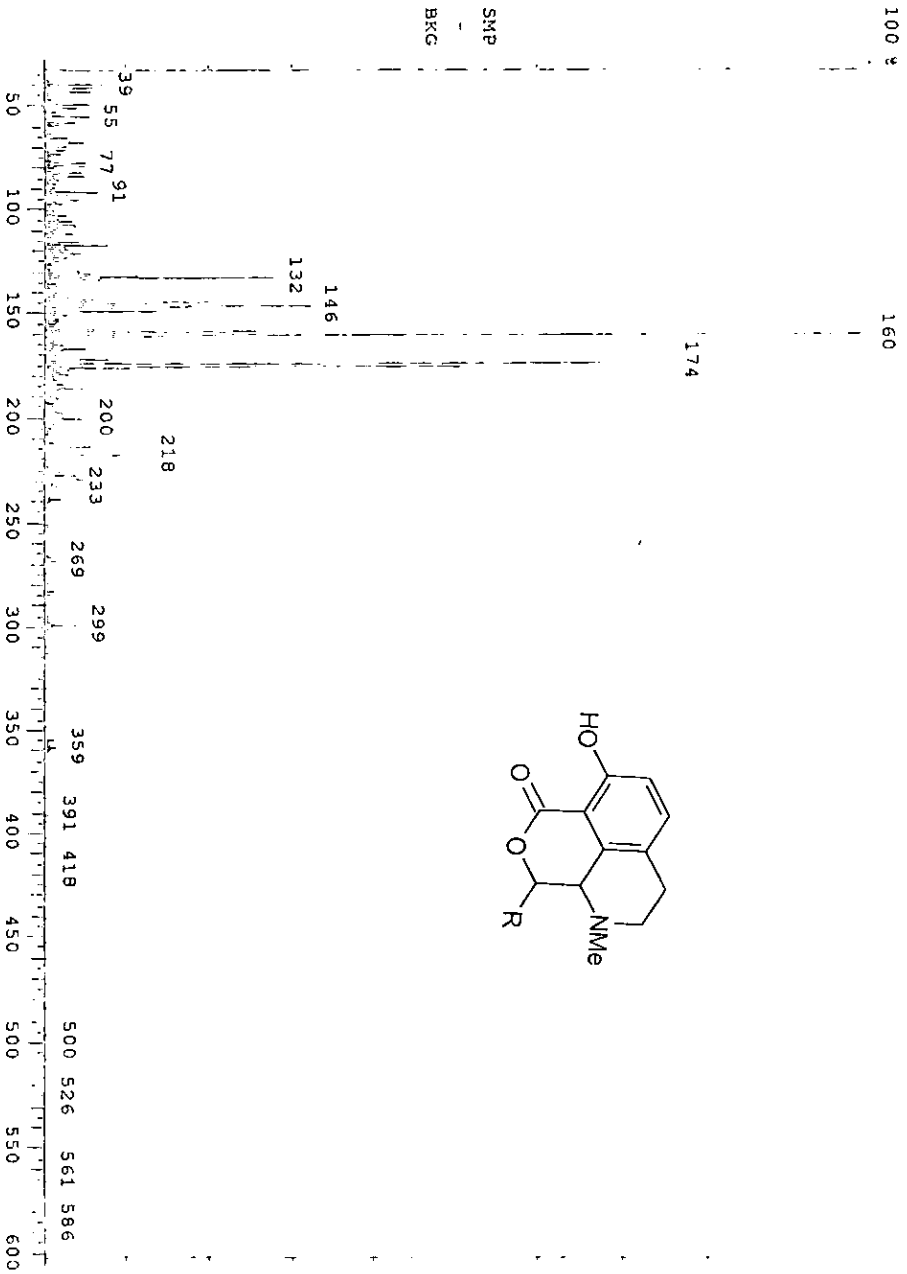


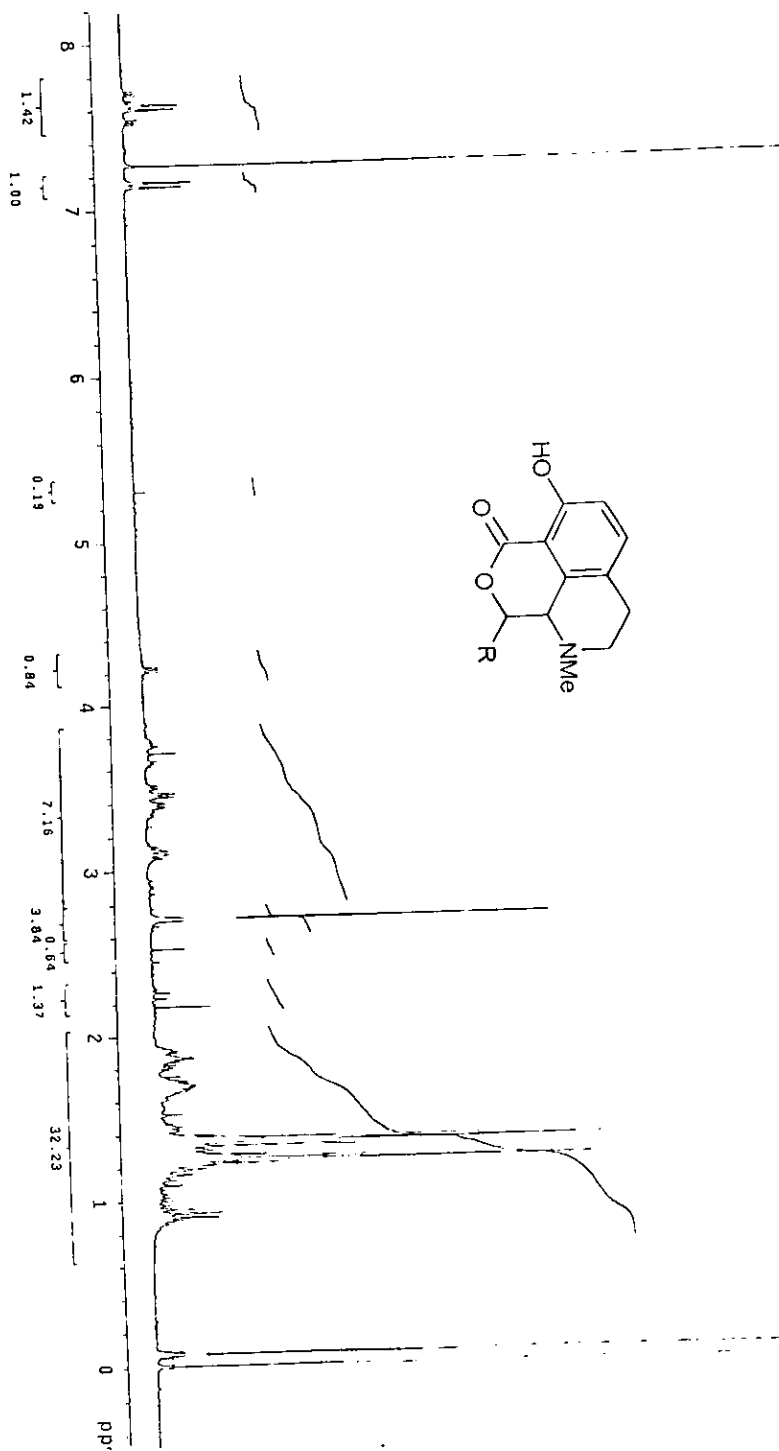


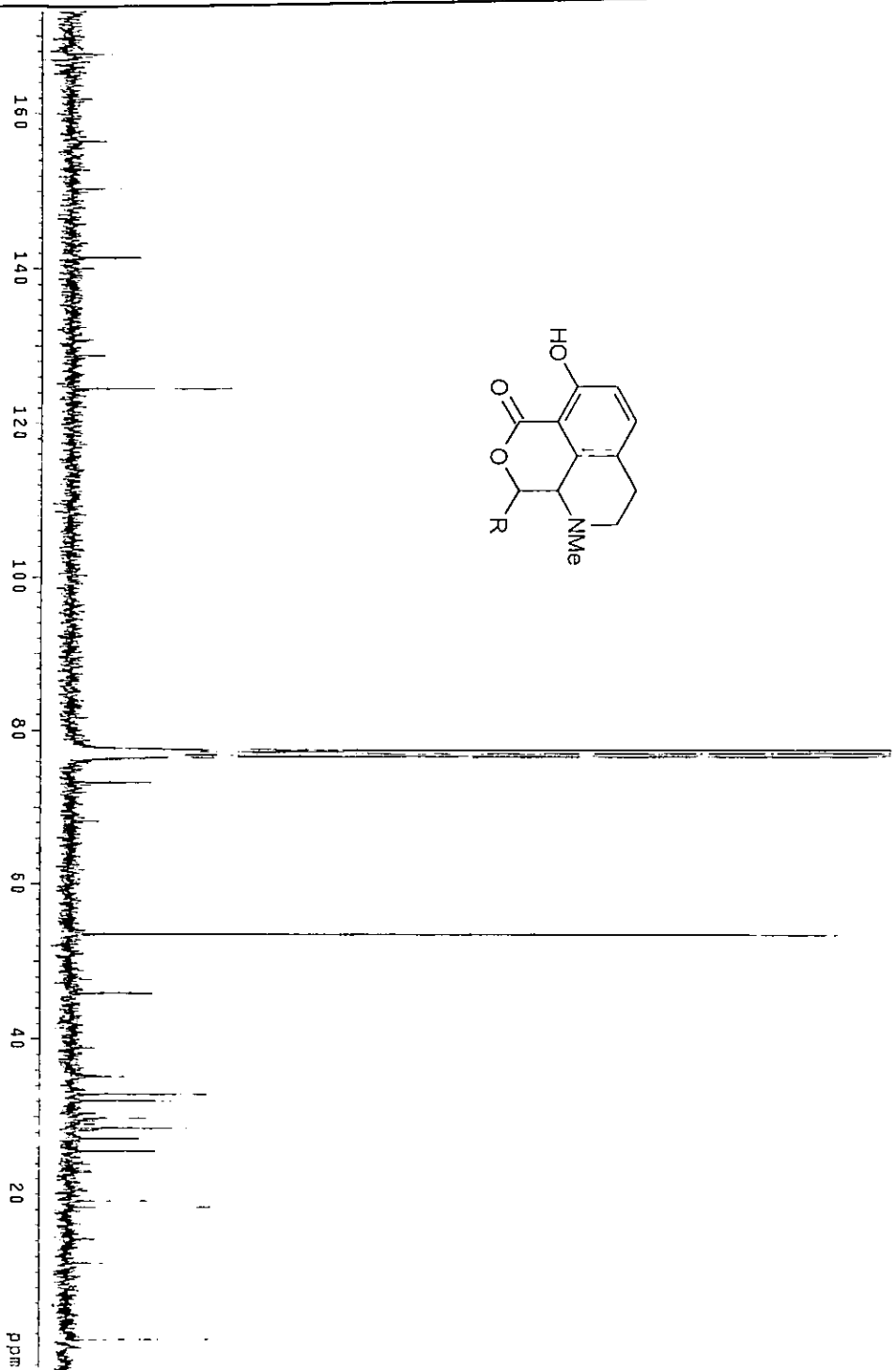






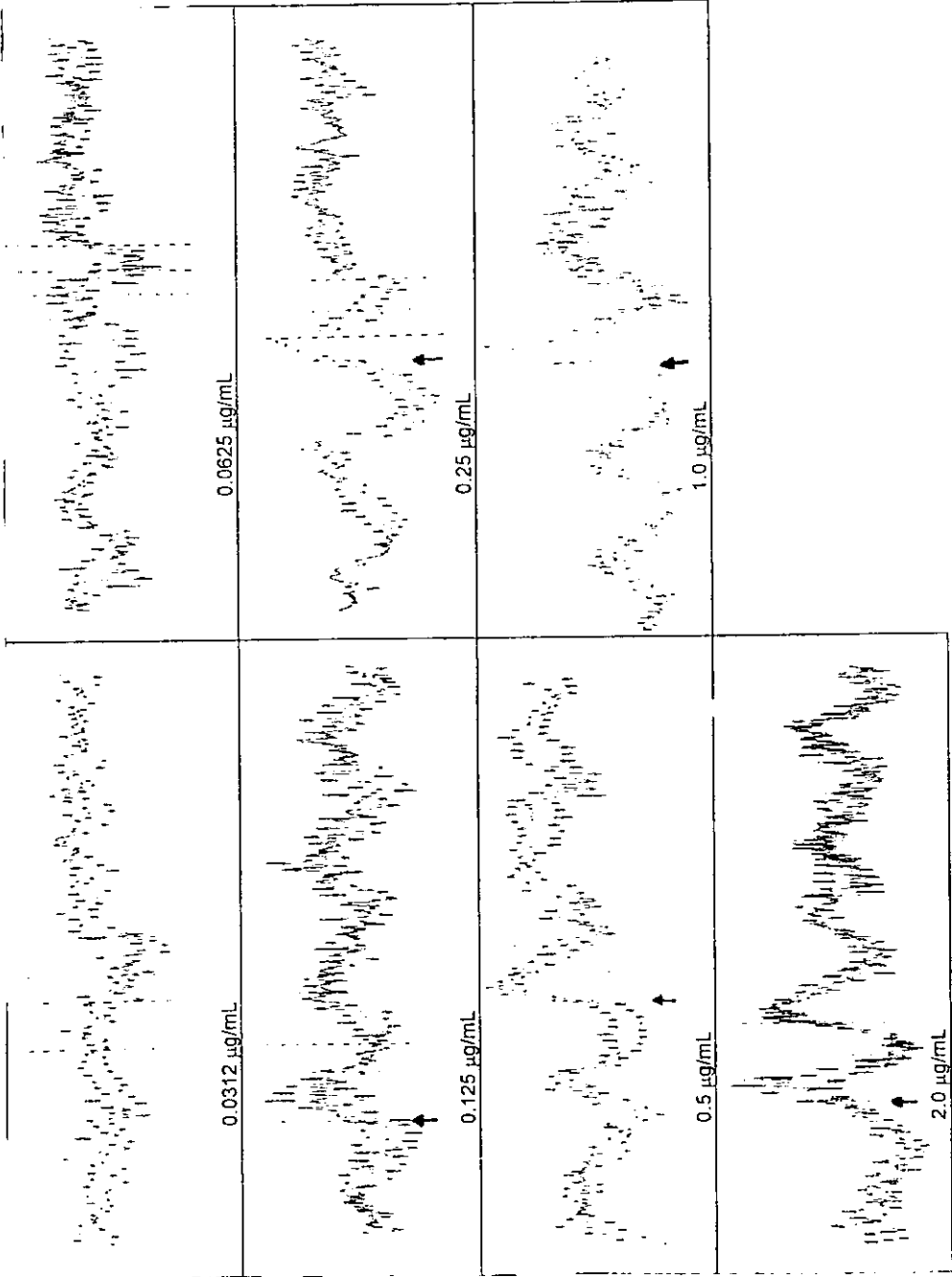


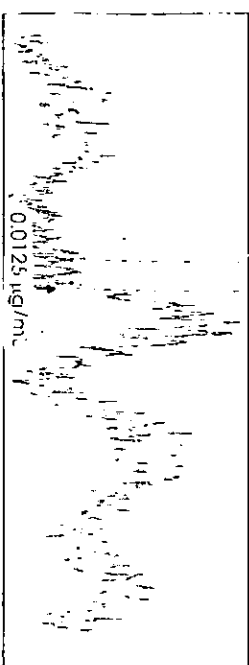
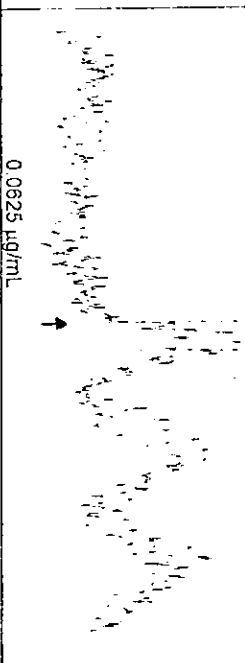
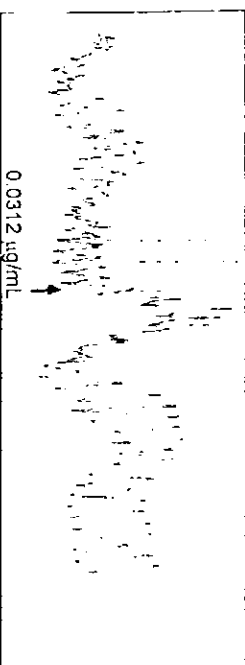
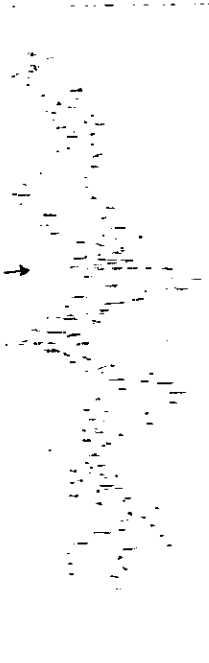
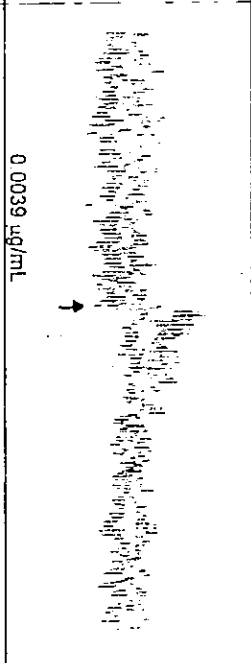
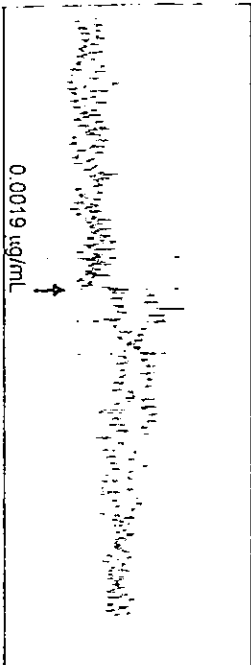


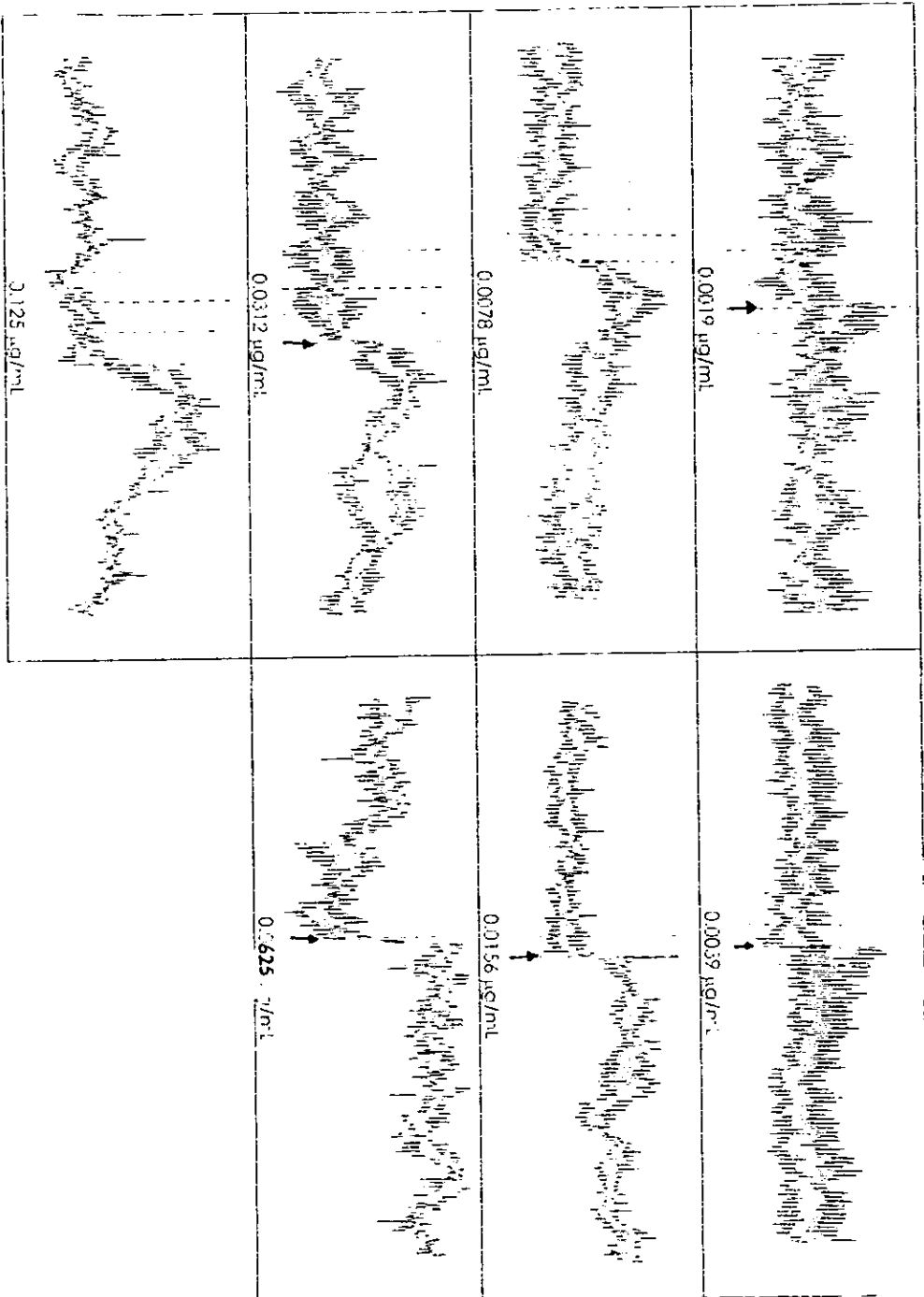


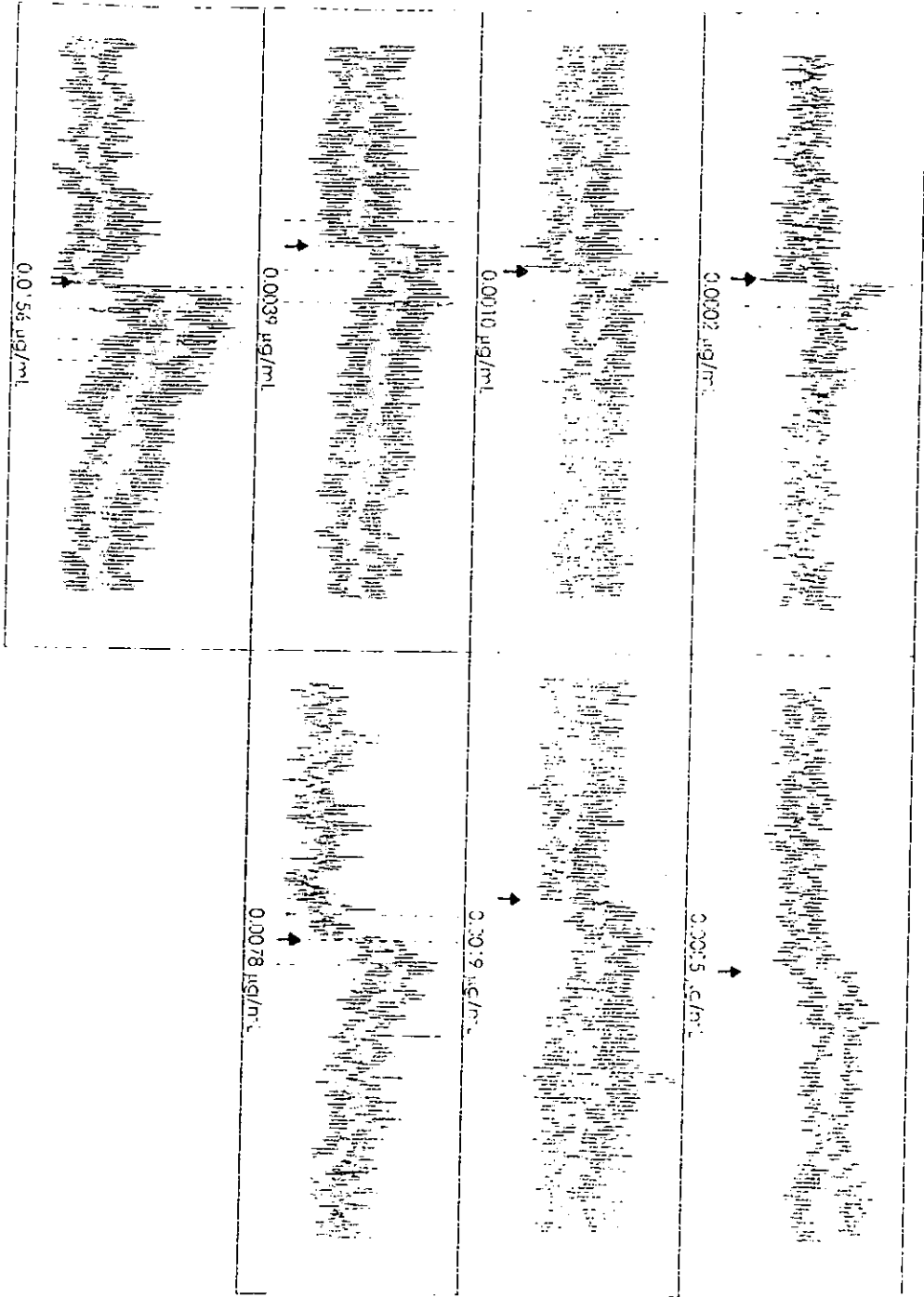
REGISTROS

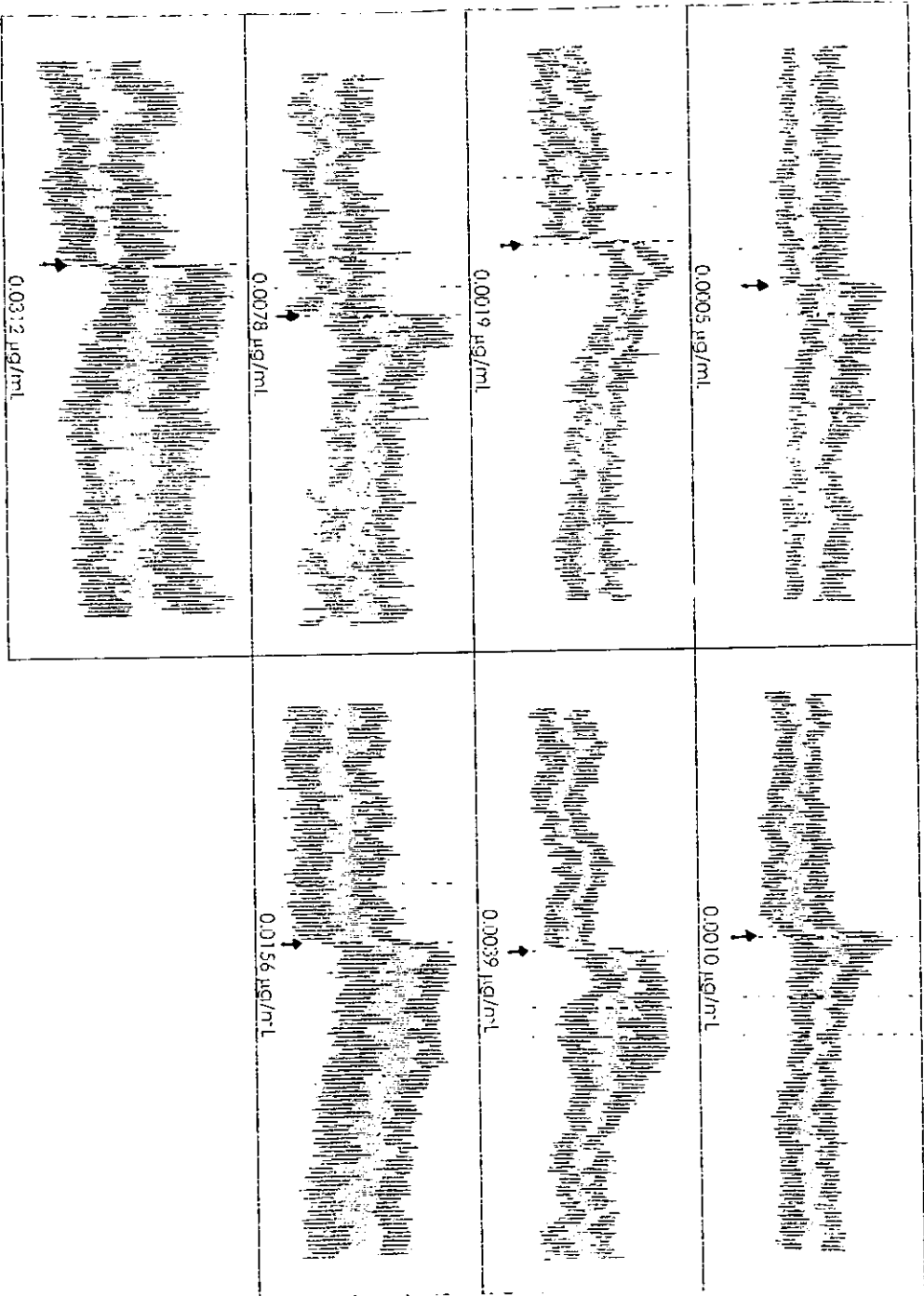
- Registro 1: Actividad del Extracto Metanólico sobre el ileon de rata
- Registro 2: Actividad de la Fracción A sobre el ileon de rata
- Registro 3: Actividad de la Mezcla de Ácidos Aristolóquicos sobre el ileon de rata
- Registro 4: Actividad del Ácido Aristolóquico I sobre el ileon de rata
- Registro 5: Actividad del Alcaloide I sobre el ileon de rata











GLOSARIO

- Alexitere:** Agente que combate los efectos de las mordeduras de animales ponzoñosos (principalmente alacranes).
- Aurícula:** Apéndice pequeño situado en el pecíolo o en la base de la lámina de las hojas; por su forma, recuerda una orejita. Suelen ser dos en cada hoja y ubicarse a cada lado de ésta.
- Bracteola:** Hoja diminuta situada en la proximidad de la flor, que son distintas, por su forma, consistencia, color, etc., de las hojas normales y de las que constituyen el cáliz y la corola.
- Carminativo:** Agente que induce la expulsión de gases intestinales por las vías naturales.
- Dehiscencia:** Fenómeno en el que un órgano vegetal se abre espontáneamente.
- Dismenorrea:** Aparición difícil de la menstruación que, a menudo, es dolorosa.
- Emenagogo:** Agente que ayuda a la limpieza del estómago.
- Estomáquico:** Agente que favorece la función digestiva gástrica.
- Febrífugo:** Agente que calma la fiebre.
- Ginostemo:** Prolongación unilateral, por encima del ovario de la flor,

sobre el que se asientan los estambres y estigmas de ésta.

Metrorragia:	Hemorragias del útero fuera de épocas menstruales.
Neuralgia:	Dolor de cabeza.
Obovado	De forma ovada, pero con la parte ancha en el ápice
Pecíolo	Rabillo que une la lámina de la hoja al tallo.
Sudorífico:	Agente que produce sudor.
Vulnerario:	Agente que promueve la curación de heridas.