

300627
3
20



UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA
INCORPORADA A LA U.N.A.M.

"ESTUDIO QUIMICO Y BIOLOGICO DE
COMPONENTES DEL EXTRACTO METANOLICO DE
Aristolochia littoralis"

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
MONICA CHINCHOT FERNANDEZ

DIRECTOR DE TESIS:
M. en C. ALFONSO S. LIRA ROCHA



MEXICO, D. F.

1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A Dios:

por haberme dado la paciencia, fuerza y perseverancia para alcanzar esta meta

A la Universidad La Salle y los profesores:

que contribuyeron a mi formación humana y profesional

A mis padres Isabel y José Francisco:

por su amor y confianza

A la Dra. Ofelia Espejo:

con profundo respeto, agradeciéndole permitirme formar parte de su equipo de trabajo

Al M. en C. Alfonso Lira Rocha:

por su amistad y compartir conmigo sus valiosos conocimientos y experiencia.

A la Dra. Elia Naranjo:

por su importante colaboración en la realización de este trabajo

A Paty y Pedro

por su apoyo y comprensión

A la memoria de mi abuelito Antonio

por su cariño y valiosos consejos

A mi abuelita Margarita:

por su interés y preocupación

A Bertha:

por su amistad incondicional

A Javier, con cariño

A todas y cada una de las personas que han creído en mi y que contribuyeron de alguna manera a la realización de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Elia Naranjo por la realización de las Evaluaciones Biológicas

A la Q. F. B. Graciela Chavez por la realización de las rotaciones ópticas.

A la Q. Maricela Gutierrez por la determinación de los espectros de Infrarrojo

A la M. en C. Isabel Chavez por la determinación de los espectros de RMN

Al I. Q. Luis Velasco Ibarra por la determinación de los espectros de masas

INDICE

	Página
Objetivo	1
Introducción	2
Antecedentes	3
Generalidades	4
Contenido Químico de las Plantas del Género <i>Aristolochia</i>	7
Farmacología de las Plantas del Género <i>Aristolochia</i>	13
Parte Experimental	18
Materiales y Métodos.....	18
Fraccionamiento de la Fase Orgánica I.....	21
Fraccionamiento de la Fase Orgánica II.....	24
Evaluación Biológica	27
Análisis de Resultados	29
Compuesto I	30
Compuesto II	32
Compuesto III	33
Compuesto IV.....	36
Evaluación Biológica.....	38
Conclusiones	43
Espectros	45
Bibliografía	60

OBJETIVO

-Aislamiento y caracterización estructural por métodos químicos y espectroscópicos de compuestos presentes en el extracto metanólico de *Aristolochia littoralis*.

- Evaluación biológica preliminar del extracto metanólico.

INTRODUCCION

El estudio de las plantas medicinales se basa en dos razones principales, la primera y tal vez la de mayor importancia, es emplear el uso tradicional de estas, como guía para el descubrimiento de nuevos fármacos, asumiendo que: si las plantas han sido utilizadas durante años por diferentes pueblos del mundo con fines curativos es por que tienen principios activos. La segunda razón es validar científicamente sus usos y efectos secundarios.

En México existen varios programas destinados al estudio de su flora medicinal, la cual es muy extensa debido a los distintos ecosistemas con que cuenta y a las diferentes culturas autóctonas que habitan en nuestro país. En las regiones de clima tropical, es donde se encuentran distribuidas las Aristolochias, las cuales han sido utilizadas como remedio en caso de mordedura de serpiente y piquete de alacrán, en enfermedades gastrointestinales y como abortivo.

En estudios anteriores del extracto etanol-acuoso de *Aristolochia littoralis* en este mismo laboratorio se aisló un ácido aristolóquico y un alcaloide bisbencilisoquinolínico; del extracto hexánico se aisló: β -sitosterol y dos lignanos, quedando sin estudiar otros extractos tales como el metanólico donde pueden encontrarse metabolitos de gran interés tanto desde el punto de vista químico como farmacológico .

El presente trabajo trata sobre el análisis de la composición química del extracto metanólico de *Aristolochia littoralis* y la evaluación preliminar de su actividad biológica.

ANTECEDENTES

El uso de la información popular con el fin de aislar de las plantas principios activos que puedan utilizarse como fármacos, posee un significado importante, ya que es una fuente alterna a la obtención de fármacos o prototipos de estos, los fármacos obtenidos por síntesis, para que sean aprobados por la FDA (Food and Drug Administration) requieren de aproximadamente 12 años de trabajo y un costo de cientos de millones de dólares; también es importante señalar que de 10,000 compuestos sintetizados y evaluados *in vitro*, 20 serán probados en animales, la mitad de estos en humanos y uno será aprobado por la FDA para ser comercializado; mientras que en el caso de compuestos aislados de plantas que pueden utilizarse como fármacos o prototipos, tanto el tiempo de investigación como los costos disminuyen.

Diversas especies de plantas en el mundo poseen una historia en cuanto a sus usos medicinales, por lo que es lógico pensar que existen grandes posibilidades de que los compuestos aislados de estas sean activos en un modelo biológico experimental.

Muchos de los fármacos obtenidos de plantas, son resultado de estudios químicos diseñados para aislar los principios activos responsables del uso de la planta en Medicina Tradicional.

Se estima que más de 3.2 millones de personas en el mundo recurren a la Medicina Tradicional y muchas de las plantas que se emplean aun no han sido estudiadas química y/o farmacológicamente.

En el mundo los programas de investigación de plantas medicinales están encaminados principalmente al descubrimiento de compuestos para combatir el cáncer y el SIDA.¹

Generalidades

El estudio químico de las *Aristolochias* mexicanas no ha sido muy extenso, por lo que la investigación fitoquímica de esta familia representa una contribución importante al conocimiento de la composición química de la flora mexicana y al mismo tiempo nos permite justificar los usos que hasta la fecha se hacen de estas plantas en Medicina Herbolaria.

El género *Aristolochia* esta formado por más de 300 especies de plantas distribuidas ampliamente en zonas tropicales y subtropicales de todo el mundo de las cuales se han estudiado fitoquímica y/o farmacológicamente al menos 50 especies con usos medicinales diversos.

De las 39 especies de *Aristolochias* de México, se han reportado los siguientes usos en Medicina Tradicional:²

- a) Contra veneno de picadura de alacrán y mordedura de serpiente
- b) Antiinfeccioso en vaginitis, disentería, sífiis, diarrea y cólera
- c) Uterocinético
- d) Antitumoral

Pero solo 15 tienen uso tipificado como se menciona en los archivos de Imeplan (Tomo 2, 1976).

Cuadro1
USOS MAS IMPORTANTES DE LAS PLANTAS DEL GENERO ARISTOLOCHIA
EN MEXICO ²

USOS	ESPECIES
Antiblenorrágico	<i>A.foetida, A.fragantissima, A.microphylla, A.odoratissima</i>
Antisifilítico	<i>A.mexicana, A.odoratissima</i>
Antidiséntérico	<i>A.foetida, A.fragantissima, A.grandiflora, A.microphylla, A.udeana</i>
Antidiarréico	<i>A.foetida, A.microphylla, A.udeana</i>
Antiséptico	<i>A.foetida, A.fragantissima, A.microphylla</i>
Anticólera	<i>A.foetida</i>
Contra oftalmía purulenta	<i>A.fragantissima, A.grandiflora</i>
Contra vaginitis	<i>A.fragantissima, A.grandiflora, A.odoratissima</i>
Antiponzoñoso	<i>A.fragantissima, A.mexicana, A.odoratissima, A.subclausa, A.grandiflora</i>
Anticrotálico	<i>A.mexicana, A.pilosa</i>
Emenagogo	<i>A.fragantissima, A.grandiflora, A.macrantha, A.mexicana, A.petandra</i>
Para controlar las metrorragias	<i>A.foetida, A.microphylla, A.udeana</i>
Para controlar flujos	<i>A. grandiflora</i>
Antitumoral	<i>A.grandiflora, A.odoratissima</i>
Antipirético	<i>A.grandiflora, A.odoratissima, A.petandra</i>
Antiespasmódico	<i>A.fragantissima, A.grandiflora, A.mexicana, A.odoratissima, A.subclausa</i>
Antirreumático	<i>A.fragantissima, A.grandiflora, A.petandra</i>
Astringente	<i>A.fragantissima, A.grandiflora, A.odoratissima, A.udeana</i>
Diafórico	<i>A.fragantissima, A.mexicana, A.odoratissima</i>
Estimulante	<i>A.grandiflora, A.longa, A. mexicana, A.odoratissima, A.rotunda, A.subclausa</i>
Tónico	<i>A.grandiflora, A.odoratissima, A.petandra, A.serpentaria</i>
Analgésico	<i>A.fragantissima, A.grandiflora</i>
Eupéptico	<i>A.grandiflora, A.odoratissima</i>
Camminativo	<i>A.grandiflora, A.mexicana</i>
Para disolver cálculos de la vesícula	<i>A.grandiflora</i>

Cuadro 2
 DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE ALGUNAS ESPECIES DEL GENERO
 ARISTOLOCHIA EN MEXICO
 (HERBARIO DEL INSTITUTO DE BIOLOGIA, UNAM)²

ESPECIE	ESTADO
<i>A. littoralis</i>	Edo. de México, Guerrero, Oaxaca, Tamaulipas, Queretaro, Nuevo León
<i>A. petandra</i>	Veracruz, Yucatán
<i>A. odoratissima</i>	Michoacán, Oaxaca, Veracruz, Colima, Tabasco, Chiapas
<i>A. elegans</i>	San Luis Potosí
<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. subcausa</i>	Puebla, Oaxaca, Guerrero, Colima
<i>A. schipilii</i>	Veracruz
<i>A. ovalifolia</i>	Veracruz, Oaxaca, Edo. de México
<i>Ducharte</i>	
<i>A. taliscania</i> Hook	Jalisco, Michoacán, Guerrero, Colima
<i>A. watsonii</i>	Sonora, Guerrero
<i>A. veracruzana</i>	Veracruz
<i>J. Ortega</i>	
<i>A. tentaculata</i>	Jalisco, Michoacán
<i>Schidt</i>	
<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>	Jalisco
<i>wats</i>	
<i>A. longiflora</i>	Coahuila

Contenido Químico de las Plantas Género *Aristolochia*

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

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

Cuadro 3

Contenido Químico de las Plantas del Género *Aristolochia*
(Revisión de compuestos aislados de 1988 / feb 1994) *

ESPECIE	COMPUESTO
<i>A. manshuriensis</i>	Manshurólido (lactona sesquiterpenica) ³
<i>A. versicolor</i>	Versicolactona C ⁴ , versicolactona A ⁵
<i>A. liukiensis</i>	Aristolactona, mansonona G, dehidrooxoperezinona, aristolactama D II, ac. 3,4-metilendioxi-8-metoxi-fenantrénico-1-carboxílico, ac. aristolóquico II, ester metílico del ac. aristolóquico IV ⁶ , ester metílico del ácido 3-hidroxi-4-metoxi-10-nitrofenantren-1-carboxílico, cinamida, aristolactamas, dioxoaporfina, isorhamnetin-3-O-robinosido 7
<i>A. cymbifera</i>	Furofurano, lignanos del tipo dibencilbutirolactona, diterpenos del tipo clerodano y diterpenos del tipo ent-labdano ⁸ , ac. epi-populifólico ⁹ , ac. 2-oxopopulifólico, kolarelol, (-)-cubebina, (-)-hinokina, fargesina, magnoflorina, alantoína ¹⁰
<i>A. bracteata</i>	Aristolactama y N-acetilnormuciferina ¹¹ , magnoflorina, ac. aristolóquico I ¹²

<i>A. esperanzae</i>	Furofurano, lignanos del tipo dibencilbutirolactona, diterpenos del tipo clerodano, y diterpenos del tipo ent-labdano ⁸ , ac. epi-populifólico ⁹
<i>A. mollissima</i> V.	9-etoxiaristolactama y 9-etoxiaristolactona ¹³
<i>A. chilensis</i>	(-)-aristochilona, (-)-aristoligona, (-)-aristosianona ¹⁴ , aristolactama I, (-)-glaziovina, sitosterol- β -D-glucósido ¹⁵ , 2,5-diari-3,4-dimetiltetrahidrofuranoide ¹⁶
<i>A. clematitis</i>	Ac. aristolóquicos I y II, aristolactama N- β -D-glucósido, magnoflorina, ac. ferúlico, ac. 4-cumárico, éster metílico del ác. 4-cumárico. ¹⁷
<i>A. galeata</i>	Furofurano, lignanos del tipo dibencilbutirolactona, diterpenos del tipo clerodano, diterpenos del tipo ent-labdano ⁸ , ác. epi-populifólico. ⁹
<i>A. gigantea</i>	Alantoína ¹⁸ , (-)-papulhamina, (-)-geraldoamina, (-)-pendroamina ¹⁹ , 8-bencilberbina ²⁰
<i>A. ponticum</i>	Ac. 9-metoxiaristolóquico (II), 9-metoxiaristolactama I, neclandrina B, ac. aristolóquico I y II. ²¹
<i>A. brevipes</i>	9-metoxi y 7-9-dimetoxilariacuripirona. ²²
<i>A. elegans</i>	Ent-kaurenos, β -sitosterol, nerolidol, caparrapidol, cubebina, hinokina, eudesmina, metilpiperitol ²³ , (-)-temuconina ²⁴ .
<i>A. tuberosa</i>	Alcaloides dioxaporfínicos ²⁵
<i>A. triangularis</i>	Ent-16 β (H)-kaureno ²⁶
<i>A. birostris</i>	Neolignanos y lignanos ²⁷

<i>A. auricularia</i>	Ester metílico del ácido 3-hidroxi-4-metoxi-aristolóquico II, 9-metoxiaristolactama I, 9- metoxiaristolactama II, 9- metoxiaristolactama IV ²⁸
<i>A. longa</i>	Aristolactama Ia. ²⁹
<i>A. ringens</i>	Limoneno, β -cariofileno, p-cimeno, α -felandieno, ent-labdano diterpénico ³⁰
<i>A. contorta</i>	Ac. aristolóquico I y II ³¹ , 4-5-dioxodehidroasimilobiona, liscamina ³² , aristolactama-N- β -D-glucoiranósido ³³ , aristolactama I y II a ³⁴
<i>A. yunnanensis</i>	Costunólido, dihidrocostuslactona, α -ciclocostunólido, 1(10)-cis-costunólido ³⁵ .

*Para revisar los compuestos aislados antes de este período consultar la referencia 2.

De las 39 especies de *Aristolochias* mexicanas se han estudiado químicamente ocho especies y los compuestos aislados se presentan a continuación.³⁶

Cuadro 4

ESPECIE	COMPUESTO AISLADO
<i>A. asclepiadifolia</i>	β -sitosterol, alantoína, ac. aristolóquico
<i>A. littoralis</i>	β -sitosterol, ac. aristolóquico, alcaloide bisbenclisoquinolínico
<i>A. taliscana</i>	taliscanina, dehidroisoeugenol
<i>A. mexicana</i>	substancias antibacterianas
<i>A. serpentaria</i>	ac. aristolóquico I, β -sitosterol, rojo de aristoloquia
<i>A. rotunda</i>	ac. aristolóquico I y II, aristolactama I, β -sitosterol, L-asparagina
<i>A. máxima</i>	ac. aristolóquico

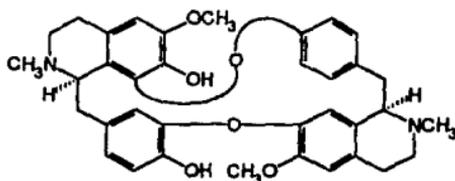
<i>A. longa</i>	piranos, β -cariofileno, lanalool, acetato de bomilo, los sesquiterpenos tetracíclicos: calareno, maaliol, y 1-(10)-aristolén-2-ona, poliprenoles, ácidos grasos, y sus ésteres metílico, etílico, isobutílico y fitílico.
-----------------	--

Existen varias razones para estudiar los compuestos nitrógenados dentro de la familia de las *aristoloquias*, entre ellas podemos mencionar: las relaciones estructurales y biosintéticas entre los ácidos aristolóquicos, aristolactamas, 4-5-dioxoaporfinas y otros alcaloides isoquinolínicos y las diversas actividades biológicas que presentan los compuestos aislados de esta familia, tales como los ácidos aristolóquicos.

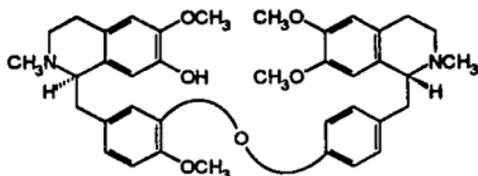
Los compuestos que contienen nitrógeno y que forman parte de las *aristoloquias* pueden dividirse en tres tipos de acuerdo a su estructura: ácidos nitrofenantrénicos, lactamas fenantrénicas y alcaloides isoquinolínicos.³⁷

Los alcaloides bisbenzilisoquinolínicos (BBI), constituyen uno de los grupos más importantes de alcaloides isoquinolínicos; estos son alcaloides diméricos cuya unidad básica es la benziltetrahidroisoquinolina. La presencia de este tipo de alcaloides parece ser rara en el género *Aristolochia*, ya que solo se han reportado los siguientes alcaloides BBI :

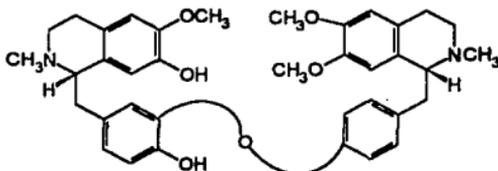
♦ (-)-Curina (*A. indica*)³⁸



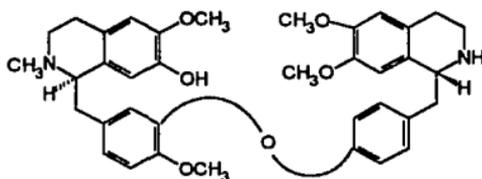
◆(-)-R,R'-7'-O-Metilcuspidalina (*A. elegans*)³⁹



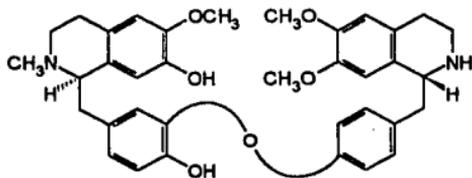
◆(-)-Temuconina (*A. elegans*)²⁴



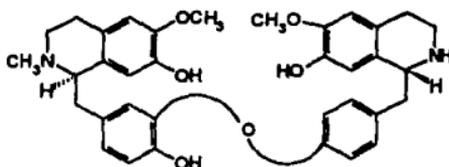
◆(-)-Geraldoamina (*A. gigantea*)¹⁸



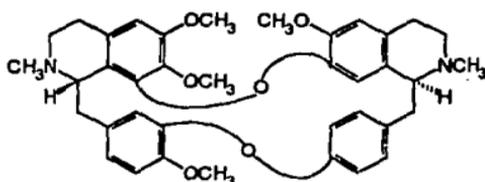
◆(-)-Pampulhamina (*A. gigantea*)¹⁸



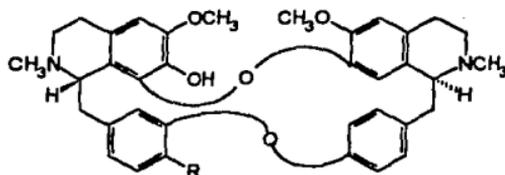
◆(-)-Pandroamina (*A. gigantea*)¹⁸



◆(+)-Tetrandrina (*A. debilis*)⁴⁰



◆2 alcaloides (*A. fangchi*)⁴¹



R= OH, OCH₃

Los alcaloides (BBI) aislados hasta ahora de las *aristoloquias* varían en:

- 1) La naturaleza de los sustituyentes oxigenados y posición dentro de la molécula (-OH, -OCH₃).
- 2) La naturaleza de los sustituyentes de los dos átomos de nitrógeno.
- 3) La estereoquímica de los dos centros asimétricos.

Farmacología de las plantas Género *Aristolochia*

La actividad farmacológica de este tipo de plantas esta poco estudiada. Los estudios se enfocan principalmente a la actividad antitumoral del ácido aristolóquico, que es lo que buscan los investigadores de Europa y los Estados Unidos de Norteamérica. En otros países como en China, los estudios estan dirigidos al control de la natalidad, y en América Latina los estudios farmacológicos de los principios activos de estas plantas, son muy escasos.

Las evaluaciones se realizan utilizando principalmente los extractos de las plantas, más que los compuestos aislados.

Cuadro 5

Actividad Farmacológica de los extractos y compuestos aislados del género *Aristolochia* (1987 / febrero 1994)

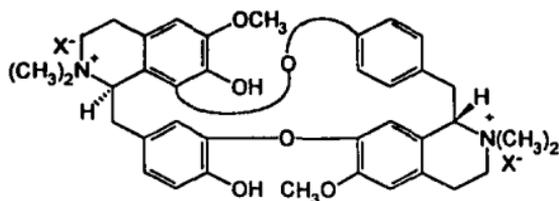
ESPECIE	RESULTADOS
<i>A. longa</i>	De esta planta se aislaron dos principios activos, ác. aristolóquico y una aristolactama Ia , los cuales mostraron actividad antibacteriana contra <i>E.coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>S.epidermides</i> ²⁹
<i>A. versicolor</i>	De esta planta se aislaron: el ester metílico del ac.6-metoxlaristolóquico y ác. aristolóquico A , los cuales mostraron actividad anticonceptiva en ratones. ⁴²
<i>A. fangachi</i>	Los inhibidores de acetilcolinesterasa eficaces en el tratamiento de distrofia muscular, demencia, enfermedad de Alzheimer y padecimientos del tracto digestivo contienen alcaloides BBI como principios activos. Los alcaloides aislados de esta planta inhiben la acetilcolinesterasa del cerebro de rata. ⁴³

<p><i>A. indica</i></p>	<p>La administración del extracto metanólico de <i>A. indica</i> disminuye la fertilidad tanto en ratas como en hamsters.</p> <p>Los extractos de éter de petróleo, cloroformo, y metanol-agua fueron evaluados en ratas y no mostraron actividad alguna y/o fueron tóxicos.</p> <p>También han sido evaluados algunos compuestos aislados de esta planta, tales como:</p> <p>-Savinina, esta fué inactiva en ratas cuando se administró en dosis de 58 mg/Kg durante seis días (la falta de principio activo impidió aumentar la dosis y/o prolongar el estudio).</p> <p>-Ac. aristolóquico I fué letal para ratas cuando se administró una dosis de 40 mg/Kg y para hamsters en una dosis de 25 mg/Kg. Una dosis de 10 mg/Kg no fué letal para ratas, pero resultó inactiva en la disminución de la fertilidad, mientras que una dosis de 12.5 mg/Kg fué letal para 4 de 10 hamsters, y la fertilidad de los sobrevivientes disminuye.⁴⁴</p>
<p><i>A. gigantea</i></p>	<p>El extracto alcaloideo de las hojas de esta planta muestra actividad antibacteriana contra <i>Micrococcus luteus</i>, <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.¹⁹</p> <p>Se estudio la facilidad que tienen 5 alcaloides del tipo BBI (uno de los cuales (-)-(R,R)-pampulamina se aisló de <i>A. gigantea</i>) para desplazar ³H-racloprida ó ³H-SCH 23390 de sus sitios específicos de enlace dopaminérgicos en membranas estriadas de rata, demostrándose que por la configuración (R,R) de este alcaloide no actúa como agonista sobre los receptores dopaminérgicos.⁴⁵</p>

A. debilis	<p>Se han hecho ensayos antimutagénicos en <i>Salmonella typhimurium</i>, en los cuales el extracto diclorometánico de las raíces de <i>A. debilis</i> muestra un alto poder inhibitorio (>95%) de la mutagénesis. Este extracto se fraccionó obteniéndose dos fracciones cristalinas, una de 46 mg y otra de 10 mg. La fracción mayor fué muy activa y/o tóxica (inhibición: 99% a 300 µg, 97% a 150 µg y 33% a 75 µg). La fracción menor fué mucho menos activa y/o tóxica (inhibición: 35% a 300 µg, 27% a 150 µg). El compuesto mayoritario de la fracción más activa es un isoalantolactona y el compuesto mayoritario de la fracción menos activa es una dihidroisoalantolactona.⁴⁶</p> <p>La tetrandrina (alcaloide BBI) ha mostrado que su administración oral en dosis de 3 mg/Kg y 10 mg/Kg no produce efectos tóxicos.</p> <p>La administración de este alcaloide en dosis de 40 mg/Kg durante 2 meses ocasiona necrosis de las células hepáticas, funciones hepáticas anormales y acelera el grado de sedimentación de los eritrocitos. El alcaloide se acumula en el tejido hepático, renal, pulmonar y adrenal cuando se administra continuamente a dosis que generan dependencia (estudios realizados en perros).</p> <p>Este alcaloide disminuye el flujo sanguíneo inducido por el CaCl_2 por lo que puede ser antagonista del calcio (estudio realizado en ratones).</p>
-------------------	---

	<p>El alcaloide afecta numerosos índices cardiacos como son: contractibilidad, automaticidad, excitabilidad, actividad eléctrica, circulación cardiaca, contenido de AMP cíclico y Ca^{+2}, los efectos del alcaloide sobre estos índices son eliminados por altas concentraciones de calcio, lo cual sustenta la teoría de que este alcaloide es antagonista del calcio (inhibe la corriente lenta de calcio).</p> <p>Otras actividades farmacológicas de este alcaloide son : analgésica, antitumoral, antimicrobiana.⁴⁷</p>
<i>A. contorta</i>	<p>Se aisló la aristolactama N-(6'-trans-p-cumaroil)-β-D-glucopiranosido, la cual muestra actividad antibacteriana contra bacterias gram-positivas.³⁴</p>
<i>A. bracteata</i>	<p>De esta se aislaron la magnoflorina y el ácido aristolóquico I los cuales inducen contracciones en útero de rata.</p> <p>La magnoflorina disminuye la presión arterial en conejos y provoca hipotermia en ratones. ¹²</p>

El curare se encuentra dentro de las mezclas de alcaloides BBI más interesantes por su uso tradicional, el alcaloide más enérgico de esta mezcla es la tubocurarina que bloque la acción de la acetilcolina en la placa neuromuscular de las fibras musculares estriadas. Su efecto final es la parálisis respiratoria.



Tubocurarina

Otras actividades farmacológicas importantes de este tipo de alcaloides son: hipotensores, antileucopénicos, antisilicóticos, inmunoestimulantes, antitumorales, antimalariales, analgésicos, relajantes musculares, antiinflamatorios, relajantes uterínicos y depresores del SNC.

PARTE EXPERIMENTAL

MATERIALES Y METODOS.

El material vegetal se colectó 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*.

Se depositó una muestra (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 y en película. Los de RMN-¹H en un aparato Varian VXR-300S (200 MHz) empleando como disolvente CDCl₃ y el de RMN-¹³C, 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 en un espectrofotómetro Hitachi Perkin-Elmer RMU 6D de doble foco, por ionización química (IQ) e impacto electrónico (IE) La rotación óptica de los compuestos en un polarímetro digital JASCO DIP-360.

Se efectuaron los análisis cromatográficos en capa fina analítica y cromatografía preparativa, siguiendo técnicas convencionales, utilizando placas de vidrio recubiertas de gel de sílice Merck 60 F₂₅₄, espesor 0.25 mm y Merck 60 F₂₅₄, espesor 2.0 mm, respectivamente.

Los sistemas de elución se enlistan a continuación

A	8:2	CHCl ₃ - CH ₃ OH
B	95:5	CH ₂ Cl ₂ - CH ₃ COCH ₃
C	30:2:cbp 250	CH ₃ OH - NH ₄ OH - CH ₂ Cl ₂
D	25:1.5:cbp 250	CH ₃ OH - NH ₄ OH - CH ₂ Cl ₂
E	15:1.5:cbp 250	CH ₃ OH - NH ₄ OH - CH ₂ Cl ₂

Reveladores de CCF analítica

1. Acido sulfúrico 5N
2. Dragendorff
3. Sulfato cérico
4. Luz Ultravioleta (254 nm)

El material vegetal (partes aéreas) se secó a temperatura ambiente y se molió en un molino de cuchillas (Wiley 4 usando malla No.4). A 10 Kg de la planta molida y seca, se les sometió a maceración con hexano, cloroformo y metanol, utilizando 40 l del disolvente, respectivamente, 4 veces durante 4 días. Después se concentró cada uno de los extractos a presión reducida, para su posterior estudio.

Se efectuaron reacciones cromogénicas (Dragendorff y H_2SO_4 5N) sobre las placas cromatográficas del extracto metanólico, con el fin de observar el tipo de compuestos que pudieran integrarlo.

Para determinar la presencia de alcaloides se siguió el esquema metodológico que se presenta a continuación, con 2g de muestra del extracto metanólico:

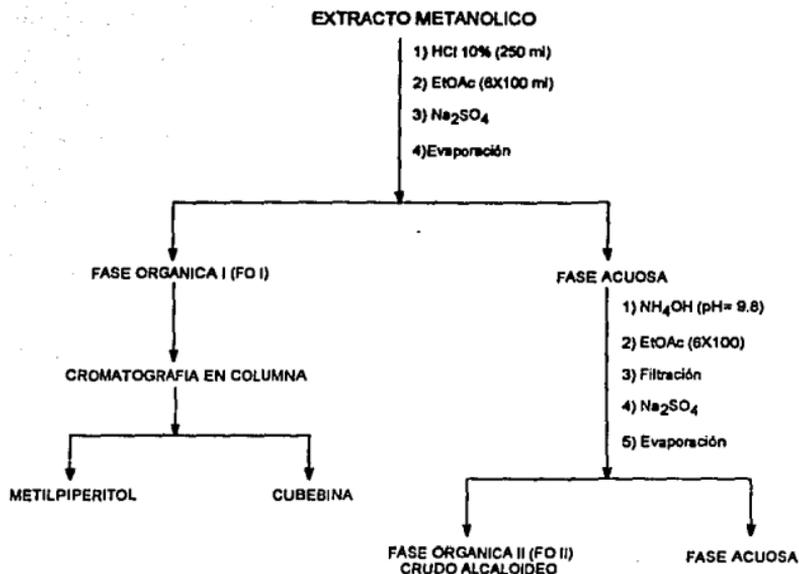


Figura No 1. Esquema de partición ácido-base

Se hicieron placas cromatográficas con la Fase Orgánica I (FO I) y el crudo alcaloideo (FO II), en el sistema A; en ambos casos (FO I y FO II) se observaron compuestos que absorben a la luz U.V y que revelan con H_2SO_4 5N y sulfato cérico, pero solo la mezcla de compuestos presentes en el crudo alcaloideo (FO II) revela con Dragendorff.

Este procedimiento se realizó dos veces, utilizando 20g de extracto metanólico en cada ocasión, en la primera se obtuvieron 761.6 mg de FO I y 853.5 mg de FO II, en la segunda ocasión se obtuvieron 785.2 mg de FO I y 882.4 mg de FO II.

FRACCIONAMIENTO DE LA FASE ORGANICA I (FO I)

Se disolvieron 1.546 g de FO I en 20 ml de diclorometano y se adsorbieron en 1.6 g de gel de sílice (malla 70-230, tamaño de partícula 0.063-0.2 mm), por otra parte se colocaron en una columna de vidrio (diámetro 3 cm, h=80 cm) 128 g de gel de sílice (malla 70-230, tamaño de partícula 0.063-0.2 mm) en húmedo (hexano); posteriormente se colocó la muestra adsorbida y se empezó la elución con diclorometano-hexano 1:1, el aumento en la polaridad del sistema de elución se llevó a cabo con diclorometano, se colectaron fracciones de 50 ml.

Cuadro 6

Incremento en la Polaridad del Sistema de Elución de la Cromatografía en Columna

Diclorometano (%)	Hexano (%)
50	50
60	40
70	30
80	20
90	10

Para seguir el desarrollo de la columna se utilizó CCF (cromatografía en capa fina) analítica, eluyéndose estas placas en el sistema B y revelando con H_2SO_4 5N y sulfato cálcico.

Del fraccionamiento de la Fase Orgánica I se obtuvieron 250 fracciones, de acuerdo con el análisis por CCF analítica las fracciones 1-80 contenían ceras principalmente, descartándose su estudio, posteriormente se reunieron las fracciones de composición semejante.

Cuadro 7

Fracción	Clave
84 - 94	A
118 -138	B
146 - 190	C
200 - 250	D

Aislamiento del compuesto I

La fracción B (86.6 mg) presentaba en su composición un compuesto mayoritario, el cual se purificó por CCF preparativa (en el sistema de elución BX2, Rf=0.69), el compuesto obtenido se recrystalizó de benceno-éter de petróleo, obteniéndose 9.1 mg de un sólido amorfo, cuyo punto de fusión es de 70-72°C al que se le determinaron sus constantes espectroscópicas.

IR (película, cm^{-1} , Espectro 1), 2930 señal de aromático, 2868 éter - OCH_3 , 2000-1600 varias bandas indican aromaticidad, 1300-1100 C-O-C intensa, 1030 señal de O- CH_2 -O, 900-600 aromático trisustituido.

RMN- ^1H (CDCl_3 , Espectro 2) δ : 6.9-6.7, hay una señal que indica la presencia de protones aromáticos que integran para 6 H (multiplete), 5.95, hay un singulete que integra para 2H (O- CH_2 -O), 4.752-4.719, señal doble de dobles que integra para dos 2H ($J=2$ Hz, $J'=4.48$ Hz), 4.3-4.19, señal de un multiplete que integra para 2H, 3.90 doblete que integra para 6H (OCH_3), 3.9, multiplete que integra para 2H, 3.2-3.0, multiplete que integra para 2H.

EM (espectro 3) m/z (intensidad relativa) = 370.4 (M^+ , 19.9), 165.2 (45.4), 149.3 (100.0).

Aislamiento del compuesto II

La fracción C (28.7 mg) presentó en su composición un producto mayoritario, el cual se purificó por medio de CCF preparativa (en el sistema de elución BX2, $R_f=0.5$) obteniéndose un compuesto cristalino, el cual se recrystalizó de metanol absoluto, obteniéndose 6.6 mg de cristales blancos, cuyo punto de fusión es de 120-122°C, al que se le determinaron sus constantes espectroscópicas.

IR (película, cm^{-1} Espectro 4). A 3680-3200 aparece una banda de OH, 3080-3030 banda de aromáticos, 1625-1475 varias bandas de aromático, 1094 señal de interacción OCH_2O , 1034 señal de vibración CO, 950-650 sustitución del anillo aromático.

RMN- ^1H (CDCl_3 , Espectro 5) δ : 6.74-6.48 protones aromáticos (multiplete) integra para 6H, 5.91 singulete integra para 4H ($-\text{OCH}_2\text{O}-$), 5.23-5.2 señal ancha que integra para 1H (CH-OH), 4.129-3.950 (doble de dobles) señal que integra para 2H, 2.95 señal ancha que desaparece con D_2O , integra para un protón, 2.823-2.367 multiplete que integra para 6H.

EM (Espectro 6).m/z (intensidad relativa): 356 (M^+ , 25.0), 136.1 (43.0), 135.1 (100.0), 81.1 (39.0), 77.1 (32.4).

$[\alpha] = -47.05^\circ$ ($c=0.001$, CHCl_3)

FRACCIONAMIENTO DE LA FASE ORGANICA II (CRUDO ALCALOIDEO)

Aislamiento del compuesto III

El análisis cromatográfico del crudo alcaloideo (FO II) resultó una mezcla compleja de la cual se aisló el compuesto mayoritario, lo cual se describe a continuación.

El aislamiento de este compuesto se hizo a partir del crudo alcaloideo (FO II) por medio de CCF preparativa utilizando 80 mg de esta muestra en cada placa (en el sistema de elución CX3, Rf=0.6). Este procedimiento se llevó a cabo 14 veces con lo cual se lograron obtener 34.42 mg; al compuesto obtenido se le hicieron placas de CCF analítica en el sistema DX2 y se observó que aún estaba impuro, por lo que se sometió a purificación en 4 placas de gel de sílice de 20x20cm y 0.25mm de espesor (con 8.6 mg de la muestra cada una) utilizando para esto el sistema DX2; con lo cual se lograron obtener 20.7 mg de un sólido amorfo, ligeramente amarillo y cuyo punto de fusión es de 58-60°C, al cual se le determinaron sus constantes espectroscópicas.

IR (pastilla, cm^{-1} Espectro 7). A 2922 se observa una banda de un sistema insaturado, bandas de aromático en 1464 y 1506; 1226, vibración de tipo C-O-C, 2848 éter -OCH₃.

RMN-¹H (CDCl₃, Espectro 8). δ : 2.46, hay un singulete que integra para 3H, 2.54, un singulete que integra para 3H, en 3.59, 3.80, 3.81 y 3.84 singuletes que integran cada uno para 3H, de 3.24 a 2.9 hay un multiplete que integra para 14H; en 6.05, 6.36, 6.47 y 6.57 singuletes, cada uno de estos integra para 1H; en 6.62 un doblete que integra para 1H (J= 1.7 Hz); en 6.78 y 7.01 hay un sistema AA'BB' que integra para 4H (J= 8.62 Hz); en 6.88 una señal que integra para 1H; en 6.91 un doblete que integra para 1H.

RMN-¹³C (CDCl₃, Espectro 9). δ : 156.294, 149.468, 147.444, 146.494, 145.178, 144.484, 143.8, 133.435, 132.579, 130.688, 130.688, 129.622,

128.629, 126.995, 125.655, 125.294, 122.112, 117.096, 117.096, 113.673,
112.343, 111.126, 111.126, 110.523, 64.779, 64.478, 55.975, 55.723, 55.723,
55.540, 47.546, 46.220, 42.671, 42.148, 40.692, 40.096, 25.637, 24.666.

EM (Espectro 10). (FAB), 625 (M^++1).

EM (Espectro 11) m/z (intensidad relativa), 624 (1.7), 206 (98), 192 (100).

$[\alpha] = -110^\circ$ (c=0.001, CH_3OH), $[\alpha] = -35^\circ$ (c=0.001, CHCl_3)

Obtención del compuesto IV

De la mezcla del crudo alcaloideo se intentó aislar otro compuesto mediante CCF preparativa utilizando 80 mg de esta muestra en cada placa (en el sistema de elución C X3, Rf=0.3). Este procedimiento se efectuó 14 veces con lo que se obtuvieron 30.1 mg, debido a la inestabilidad de este compuesto, se decidió someterlo a una reacción de acetilación, por lo que a los 30.1 mg se agregaron 0.6 ml de anhídrido acético, y se dejó reaccionar a temperatura ambiente y con agitación durante 61 horas y 40 minutos, posteriormente se le puso un baño de vapor hasta que fué posible observar por medio de cromatografía en capa fina analítica que la reacción se había completado. Se observó que el producto de reacción estaba impuro, por lo que se sometió a purificación en 4 placas de gel de sílice de 20x20cm y 0.25mm de espesor (con 7.5 mg de la muestra en cada una) utilizando para esto el sistema E, con lo cual se lograron obtener 12 mg de un sólido amorfo de color ligeramente amarillo, al que se le determinaron sus constantes espectroscópicas.

IR (película, cm^{-1} Espectro 12). A 2920 se observa una banda de un sistema insaturado; banda de aromático en 1510; banda de carbonilo de éster en 1760, 1196 y 1264, bandas de vibración N-H en 3364 y C-N en 1616; 2848 éter -OCH₃.

RMN- ¹H: (CDCl₃, Espectro 13). δ : en 1.77 una señal ancha, que al agregar agua deuterada desaparece; en 2.29, 2.31, 2.33 y 2.35 singuletes; señal múltiple de 2.7 a 3.1; singulete en 3.81; señal múltiple de 3.6 a 4.0; señal múltiple de 4.3 a 4.5; en 6.70 y 6.72 singuletes; en 6.84 doble; en 6.87 y 7.14, aparece un sistema AA'BB' (J= 8.5); singuletes en 6.92 y 6.95; señal múltiple de 6.97 a 6.99.

EM (Espectro 14). (FAB), 723 (M⁺+1).

Evaluación biológica del extracto metanólico, crudo alcaloideo y 7'-O-metilcuspidalina

Estudio "in vitro". Efecto Uterocinético

El extracto metanólico de *Aristolochia littoralis*, el crudo alcaloideo (obtenido a partir del extracto metanólico) y el alcaloide aislado (compuesto III) se sometieron a pruebas de actividad biológica sobre músculo liso (útero).

En este estudio se utilizaron ratas Wistar hembras jóvenes de 200 a 300 g de peso, las cuales se sacrificaron por dislocación cervical; se les colocó en posición supina sobre la mesa y se realizó una incisión longitudinal en el abdomen, separando las vísceras de la porción inferior del hipogastrio, identificando los cuernos uterinos (equivalente al útero en el humano); posteriormente se pinzó el extremo superior de cada cuerno, disecando el órgano íntegro el cual se colocó en una caja de Petri con solución Ringer a 37° C y con burbujeo de una mezcla de gas carbógeno, se realizaron cortes obteniéndose de 4 a 6 segmentos de útero (dependiendo de la longitud del mismo) de aproximadamente 5mm de longitud cada uno, estos se colocan en un sistema para tejido aislado convencional; el tejido se deja estabilizar por un lapso de 30 minutos, posteriormente se adicionó el vehículo (agua) a un fragmento de útero, al que se le realizó un registro basal durante un lapso de 10 minutos con la finalidad de corroborar que este no ejerce efecto sobre el útero, posteriormente se adicionan las soluciones a diferentes concentraciones del extracto metanólico y del crudo alcaloideo, se registró la respuesta durante un lapso de 10 minutos para cada concentración.

Las concentraciones adicionadas del extracto metanólico fueron: 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 y 16.0 µg/ml. Las concentraciones adicionadas del crudo alcaloideo fueron: 0.0312, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 y

16.0 $\mu\text{g/ml}$. Las concentraciones que se adicionaron del alcaloide fueron: 0.0625, 0.25, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0, 32.0 y 64 $\mu\text{g/ml}$.

También se evaluó la actividad biológica del crudo alcaloideo a las siguientes concentraciones: 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 y 16.0 $\mu\text{g/ml}$ con administración previa de oxitocina sobre músculo liso.

Se realizaron mediciones de la amplitud y la frecuencia de las respuestas a diferentes concentraciones, las cuales se compararon con el registro basal para determinar su efecto sobre el útero.

ANALISIS DE RESULTADOS

Del extracto metanólico de *Aristolochia littoralis* se aislaron dos lignanos que se caracterizaron como metilpiperitol y cubebina, y dos alcaloides de tipo bisbencilisoquinolínico, cuyas estructuras son las siguientes:

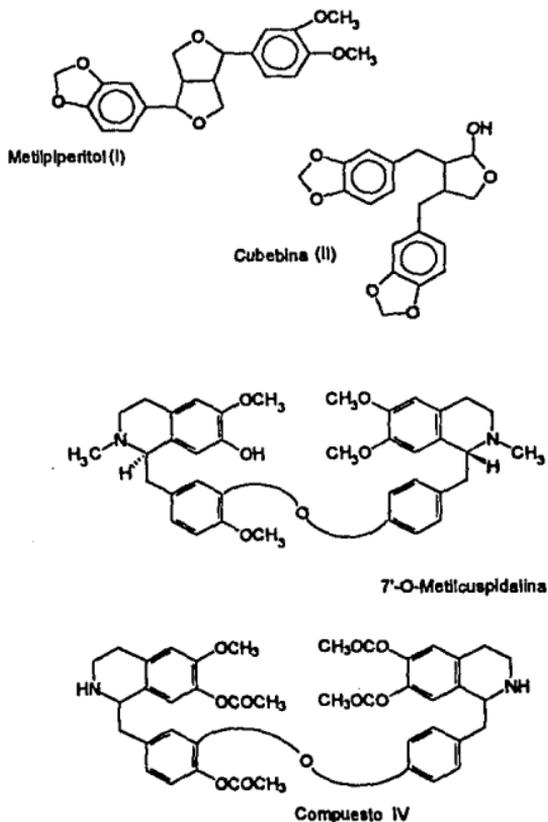


Figura No 2. Compuestos aislados del extracto metanólico de *A. littoralis*

COMPUESTO I

Este compuesto se aisló de la fracción B, es un sólido amorfo con punto de fusión de 70-72°C.

IR(espectro 1). Se observó una señal de aromático a 2930, que se confirmó al ver las señales de 2000-1450, ya que existen diversas bandas en esta zona que indican aromaticidad, se observa también de 900-600 la sustitución del anillo aromático.

Además, hay una banda en 2868 cm^{-1} , que indica la presencia de un probable grupo metoxilo (-OCH₃), también se encuentran otras señales intensas a 1300-1100 cm^{-1} que indican interacción de C-O-C, y a 1030 se confirman estas señales de O-CH₂-O.

RMN-¹H(espectro 2). 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 una señal doble de dobles (dd) que integra para 2H ($J=2$, $J'=4.48$ Hz posición 2 y 6 de la estructura propuesta); en 4.3-4.19 ppm hay una señal (multiplete) que integra para 2H (posición 4 y 8 de la estructura propuesta), en 3.9 ppm se encuentran dos singuletes que integran para 6H, los cuales son de metoxilo, ahí mismo se encuentra una señal múltiple que integra para 2H (posición 4 y 8 de la estructura propuesta), y en 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 con los de Kakizawa H (1972)⁴⁸ para un lignano del tipo de la sesamina.

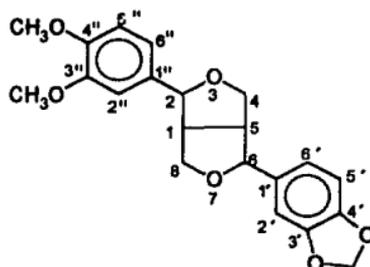


Figura No 3. Estructura propuesta para el compuesto I

Metilpiperitol

En el espectro de masas (espectro 3), se tiene un M^+ de 370 (pico del ión molecular) que corresponde a la fórmula condensada $C_{21}H_{22}O_6$, los picos significativos de la fragmentación de este compuesto son: 165.2 ($M^+ - ArCO^+$), otra unidad de 149 (ArC^+).

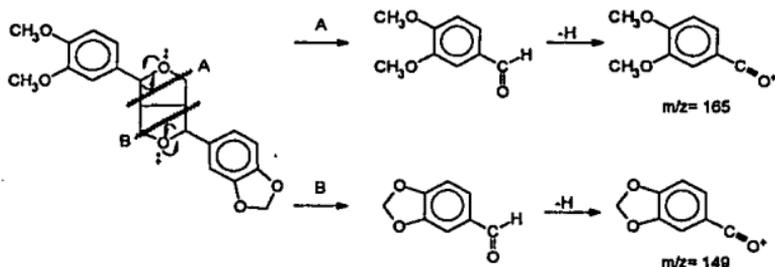


Figura No 4. Diagrama de fragmentación del compuesto I

COMPUESTO II

Este compuesto se aisló de la fracción C, y es un sólido cristalino con punto de fusión de 120-122°C.

IR (espectro 4). En 3680-3200 cm^{-1} se encuentra una banda ancha de hidroxilo; de 3080-3030 cm^{-1} se encuentran varias bandas de aromático, las cuales se confirman con las señales que se encuentran en 1625-1475 cm^{-1} , la sustitución del anillo aromático se observa de 950-650 cm^{-1} . Hay una interacción de C-O-C a 1094 cm^{-1} , que puede ser de un éter.

RMN ^1H (espectro 5). En 6.7-6.48 ppm hay una señal múltiple que integra para 6H, cuyo desplazamiento los caracteriza como 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 ppm hay una señal ancha que integra para 1H, que es la base del hidroxilo, a 4.13-3.9 ppm aparece una señal doble de dobles de dobles (ddd) que integra para 2H; a 2.95 ppm esta una señal que se intercambia con agua deuterada y de 2.82-2.36 ppm se encuentra una señal múltiple que integra para 6H. (Rücker 1978).

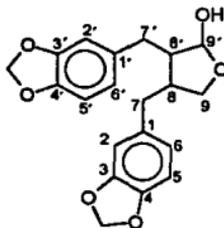


Figura No 5. Estructura propuesta para el compuesto II

Cubebina

Su espectro de masas (espectro 6) tiene un pico de 356 (M^+), el cual corresponde a la fórmula molecular: $C_{20}H_{20}O_6$. este pierde 135 unidades para dar el pico base.³⁶

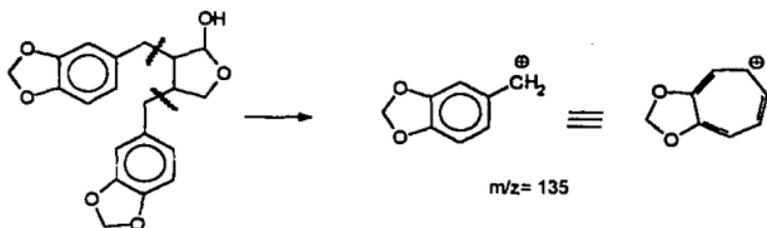


Figura No 6. Diagrama de fragmentación para el compuesto II

COMPUESTO III

Este compuesto se aisló a partir del crudo alcaloideo, obteniéndose un sólido amorfo, ligeramente amarillo con punto de fusión de 58-60°C.

IR(espectro 7). Se observa una banda de un sistema insaturado en 2922 cm^{-1} ; la cual se confirma con las bandas de 1464 y 1506 cm^{-1} , que corresponden a un sistema aromático. Una banda en 1226 cm^{-1} , corresponde a una vibración de tipo C-O-C; la banda de 2848 cm^{-1} indica la presencia de grupos metoxilo. La ausencia de señales para aminas primarias y secundarias, así como su comportamiento químico y la presencia de una banda en 1267 cm^{-1} , permite considerar la presencia de una amina terciaria.

RMN 1H (espectro 8). En 2.46 ppm hay un singulete que integra para 3H (2'-NMe); en 2.54 ppm, se encuentra un singulete que integra para 3H (2'-NMe); en 3.59 ppm, un singulete que integra para 3H (7'-OMe); 3.80, 3.81, 3.84 ppm, cada una de estas señales corresponde a un singulete e integra para 3H cada una (6, 6', 12 - OMe); de 3.2 a 2.9 ppm hay un multiplete que integra para 14H;

en 6.05 ppm, un singulete que integra para 1H (H-8); en 6.36 ppm, un singulete que integra para 1H (H-8'); en 6.47 y 6.57 ppm, un singulete, y cada una de estas señales integra para 1H (H-5 y H-5'); en 6.62 ppm, un doblete que integra para 1H ($J=1.7\text{Hz}$, H-10); en 6.78 y 7.01 ppm, aparece un sistema AA'BB', que integra para 4H ($J= 8.62\text{Hz}$, protones del anillo C'); 6.88 ppm, una señal que integra para 1H (H-14); 6.91 un doblete que integra para 1H (H-13).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , Espectro 9)

Carbono	δ	Carbono	δ
C-1	64.8	C-1'	64.5
C-3	47.5	C-3'	46.2
C-4	25.6	C-4'	24.7
C-4a	126.9	C-4a'	125.3
C-5	110.5	C-5'	111.1
C-6	147.1	C-6'	145.2
C-7	146.5	C-7'	144.5
C-8	113.7	C-8'	111.1
C-8a	129.6	C-8a'	128.6
C- α	40.7	C- α'	40.1
C-9	133.4	C-9'	132.6
C-10	117.1	C-10'	130.7
C-11	143.8	C-11'	112.3
C-12	149.5	C-12'	156.3
C-13	117.1	C-13'	122.1
C-14	125.6	C-14'	130.7
N-CH3	42.7	N'-CH3	42.1
O-CH3	55.9	O-CH3	55.7
O-CH3	55.5	O-CH3	55.7

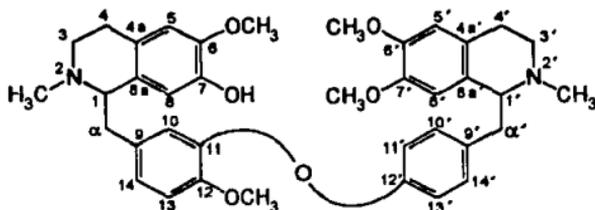


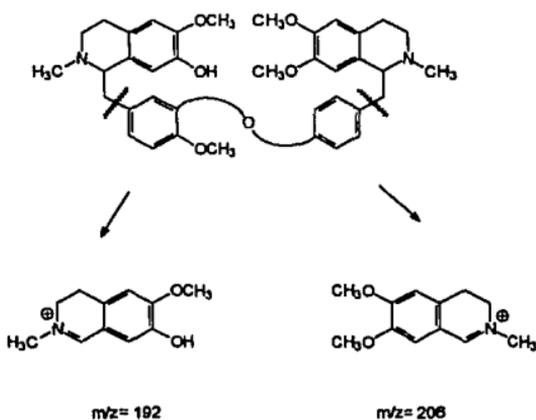
Figura No 7. Estructura propuesta para el compuesto III

7'-O-Metilcuspidalina

De su espectro de masas (espectro 10) (FAB) se deduce que su peso molecular es 625 ($M^+ + 1$), que corresponde a la fórmula condensada $C_{38}H_{44}N_2O_6$.

Su espectro de masas (espectro 11) (IE), tiene un pico de 624 (ión molecular), que corresponde al peso molecular del compuesto, se genera un fragmento de 206 ($C_{12}H_{16}NO_2$), y otra unidad de 192 ($C_{11}H_{14}NO_2$).

Patrón de fragmentación para alcaloides del tipo bis-benzilisoquinolínico:⁴⁹



COMPUESTO IV

La purificación de este compuesto resultó infructuosa por los métodos empleados, ya que siempre se detectaba por CCF la presencia de algunas impurezas, la explicación para este comportamiento la podemos atribuir a la presencia de una funcionalidad tipo catecol, lo que la hace inestable. Para estabilizar la molécula se decidió someterla a una reacción de acetilación, el producto de la misma se purificó por CCF (ver parte experimental), sin resultados satisfactorios, además de que siempre se obtuvo en muy pequeñas cantidades, por lo que la proposición estructural que ha continuación se describe es parcial.

IR (espectro 12). Se observa una banda de un sistema insaturado en 2920 cm^{-1} , la cual se confirma con la banda de 1510 cm^{-1} que corresponde a un sistema aromático. Una banda en 1760 cm^{-1} corresponde al carbonilo de ester y las bandas de 1196 y 1264 cm^{-1} indican que se trata de un grupo acetilo. La banda de 3364 cm^{-1} corresponde a una amina secundaria y esta se confirma con la banda de 1616 cm^{-1} . La banda de 2848 cm^{-1} indica la presencia de grupo metoxilo.

RMN ^1H (espectro 13). La señal ancha que se encuentra en 1.77 y que desaparece con agua deuterada corresponde a 2-NH y 2'-NH; los singuletes de 2.29, 2.31, 2.33 y 2.35 son $-\text{OCOCH}_3$; en la señal múltiple de 2.7 a 3.1 se encuentran H- α , H- α' , H-4 y H-4'; en 3.81 singulete 7-OMe; señal múltiple de 3.6 a 4.0 H-3 y H-3'; señal múltiple de 4.3 a 4.5 H-1 y H-1'; singuletes en 6.7 y 6.72 H-8 y H-8'; en 6.87 y 7.14 ppm, aparece un sistema AA'BB' ($J = 8.5\text{ Hz}$) que corresponde a los protones del anillo C'; los singuletes de 6.92 y 6.95 son de los protones H-5 y H-5'; en la señal múltiple de 6.97 a 6.99 se encuentran los protones H-13 y H-14.

De su espectro de masas (espectro 14) (FAB) se deduce que su peso molecular es 723 ($M^{+}+1$), que corresponde a la fórmula condensada $C_{41}H_{42}N_2O_{10}$. De acuerdo a lo anterior se propone de forma no definitiva la siguiente estructura:

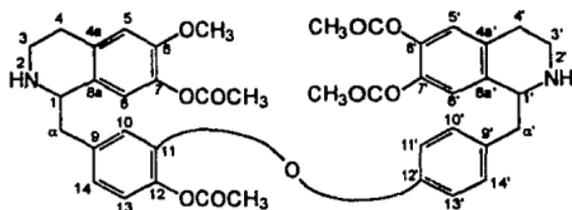


Figura No. 8. Estructura propuesta para el acetil derivado del compuesto IV

**Evaluación biológica del extracto metanólico, crudo alcaloideo y
7'-O-metilcuspidalina**

Estudio "in vitro". Efecto Uterocinético

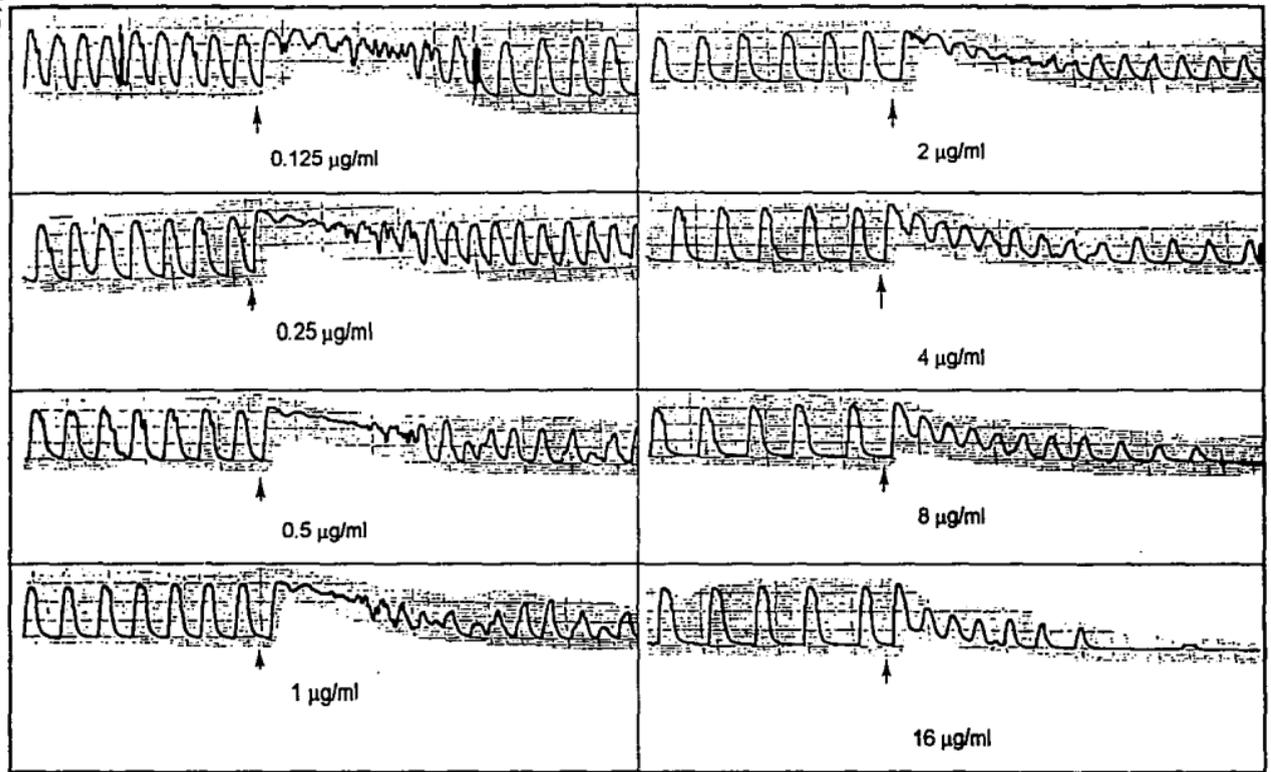
La información que nos dan los registros es la siguiente: el extracto metanólico a concentraciones de: 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 $\mu\text{g/ml}$ produce un incremento en la frecuencia de contracción del útero, mientras que a concentraciones de: 2.0, 4.0, 8.0 $\mu\text{g/ml}$ se observa disminución de la amplitud y la frecuencia (relajación del músculo). Este comportamiento se acentúa hasta obtenerse una relajación total a una concentración de 16 $\mu\text{g/ml}$.

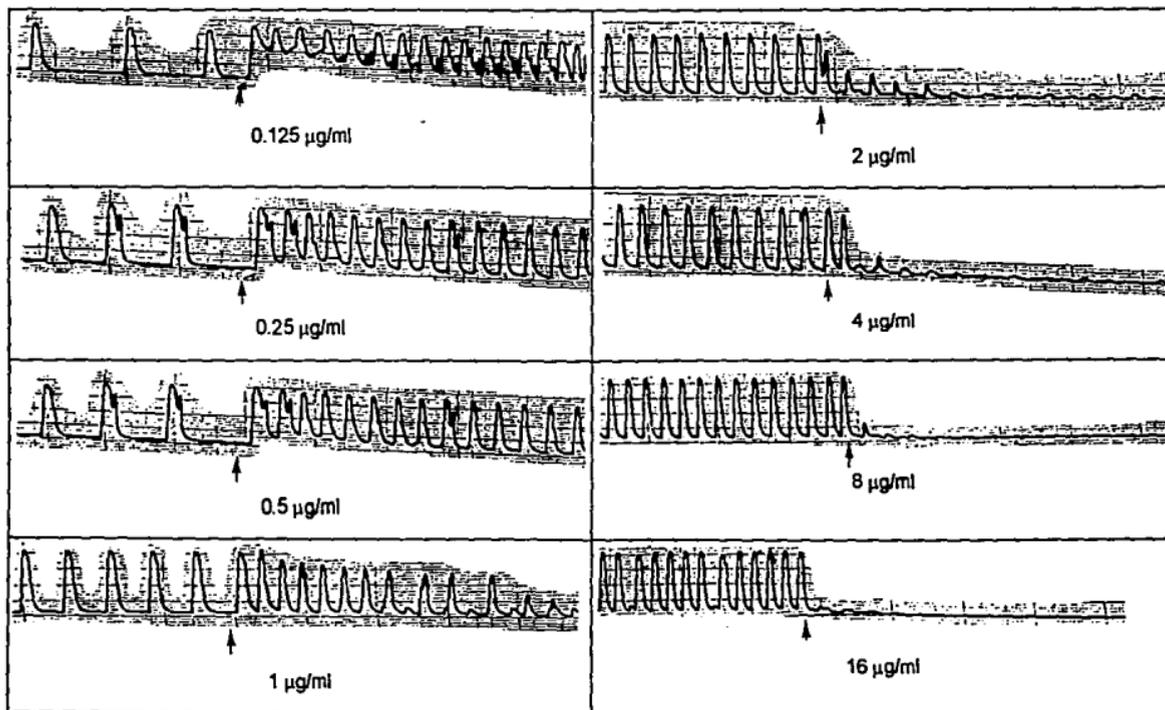
En el caso del crudo alcaloideo a una concentración de 0.0625, 0.125, 0.25 $\mu\text{g/ml}$ muestra un incremento en la frecuencia, y a 0.5, 1.0, 2.0 $\mu\text{g/ml}$ hay una disminución de la frecuencia y la amplitud; a 4.0, 8.0, y 16 $\mu\text{g/ml}$ se produce una relajación total del músculo.

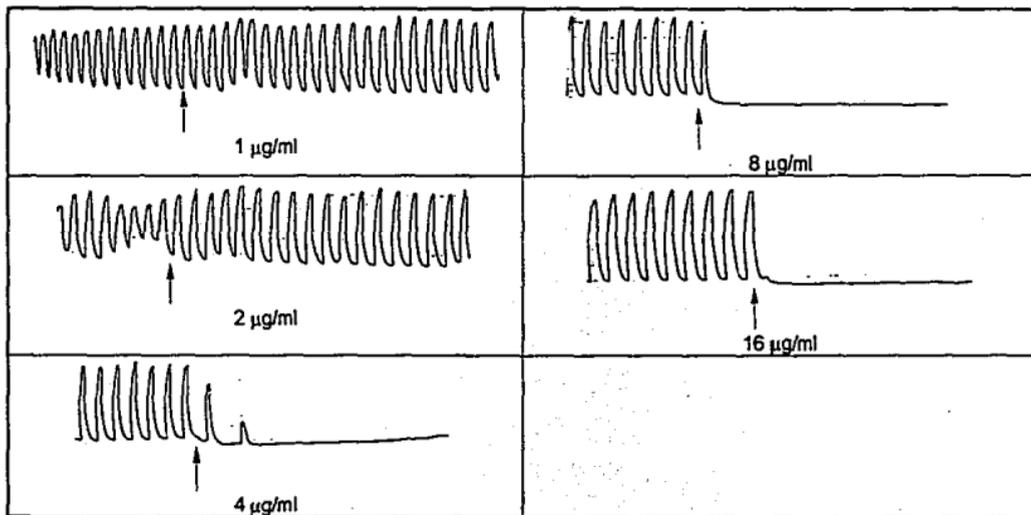
La evaluación de 7'-O-metilcuspidalina nos permite observar que al administrarse a una concentración de 4.0 $\mu\text{g/ml}$ se presenta una ligera disminución de la frecuencia, la cual se va acentuando a 8.0, 16.0 y 32.0 $\mu\text{g/ml}$; a 64 $\mu\text{g/ml}$ se observa una importante relajación del músculo.

El registro correspondiente a la evaluación del crudo alcaloideo con administración previa de oxitocina indica que a pesar de la estimulación del músculo liso los componentes de esta mezcla ejercen un efecto de relajación total a una concentración de 4.0, 8.0 y 16.0 $\mu\text{g/ml}$.

Evaluación *in vitro* del extracto metanólico de *A. littoralis*.

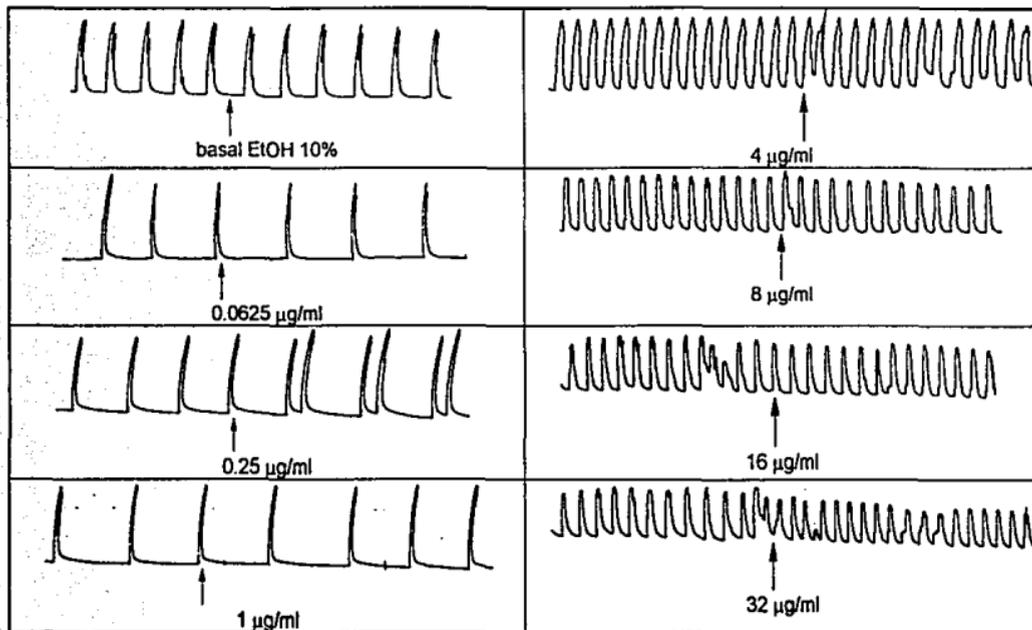




Evaluación "in vitro" del crudo alcaloideo de *A. littoralis* + oxitocina

Evaluación in vitro de 7'-O-metilcuspidalina

42



CONCLUSIONES

Del extracto metanólico de *Aristolochia littoralis* se aislaron mediante métodos cromatográficos convencionales cuatro compuestos: dos lignanos, uno del tipo furofurano, el metilpiperitol; otro del tipo butirolactona, la cubebina y dos alcaloides del tipo bis-bencilisoquinolínico, la 7'-O-metilcuspidalina y otro parcialmente caracterizado. Su elucidación estructural se realizó por métodos espectroscópicos convencionales.

Los dos lignanos reportados se encontraron también presentes en el extracto hexánico de *Aristolochia littoralis* en una investigación previa realizada en este laboratorio³⁶ en una cantidad mayor de la que pudo encontrarse en el extracto metanólico.

Es importante mencionar que los compuestos aislados son característicos de las *Aristolochias*, ya que el metilpiperitol ha sido encontrado en *A. elegans*²³; la cubebina ha sido reportada en *A. cymbifera*¹⁰, *A. elegans*²³, *A. indica*² y *A. triangularis*²; el alcaloide 7'-O-metilcuspidalina se aisló previamente de *A. elegans*³⁹, siendo esta la segunda vez que se aísla de una *Aristolochia*. Resta por asignar de manera inequívoca la estructura del compuesto IV.

Cabe mencionar que en el crudo alcaloideo se encuentran presentes al menos otros cuatro componentes los cuales hasta el momento no han podido ser aislados y caracterizados estructuralmente, se presume que pueden ser del mismo tipo de los presentados en este trabajo.

Por otra parte, en cuanto a los estudios biológicos del extracto metanólico y del crudo alcaloideo, ambos presentaron una respuesta bifásica, que consistió en que a altas concentraciones hay una disminución de la frecuencia y de la amplitud, inclusive provocando una relajación total del tejido y

en bajas concentraciones se produce un aumento en la frecuencia de contracción. El crudo alcaloideo produce tanto contracción como relajación del músculo a concentraciones menores que el extracto metanólico, por lo que se puede inferir que los alcaloides son los responsables de la actividad uterocinética. Este efecto bifásico es dependiente de la concentración, además se presenta en forma inmediata a la administración y se revierte con el lavado del tejido.

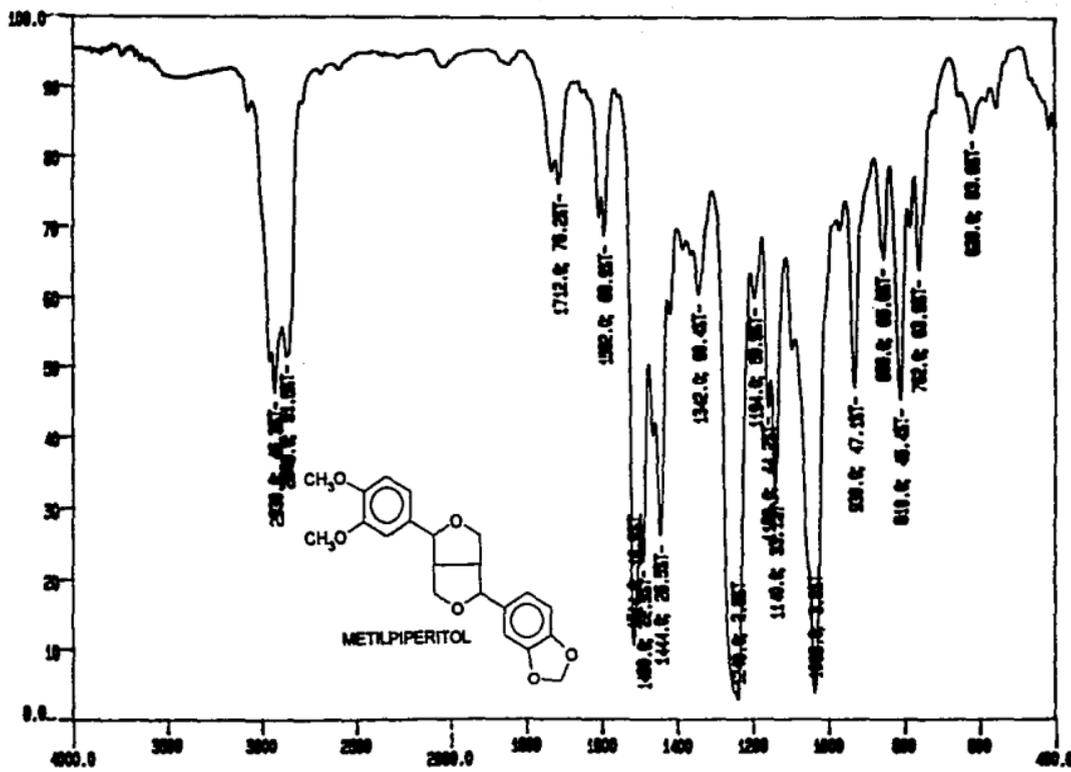
La evaluación biológica del alcaloide aislado indica que este, solo produce un efecto de relajación del músculo, por lo que resta aislar y evaluar otros alcaloides que se encuentran en la mezcla original los cuales posiblemente sean los responsables del aumento en la contracción del músculo liso.

Los resultados obtenidos permiten suponer que el efecto producido es a nivel de membrana, el cual podría estar relacionado con los efectos anticonceptivos y abortivos reportados para este tipo de plantas.

ESPECTROS

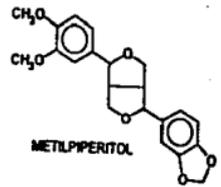
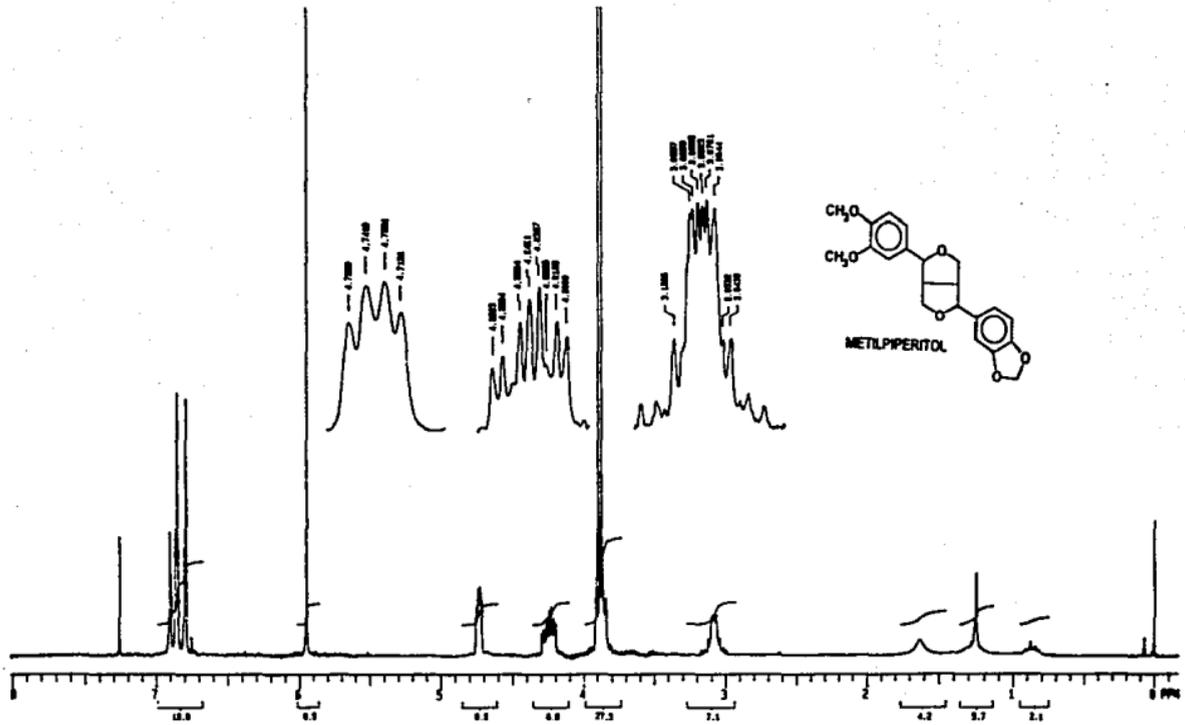
- ESPECTRO 1: IR DE METILPIPERITOL
- ESPECTRO 2: RMN-¹H DE METILPIPERITOL
- ESPECTRO 3: EM DE METILPIPERITOL
- ESPECTRO 4: IR DE CUBEBINA
- ESPECTRO 5: RMN-¹H DE CUBEBINA
- ESPECTRO 6: EM DE CUBEBINA
- ESPECTRO 7: IR DE 7'-O-METILCUSPIDALINA
- ESPECTRO 8: RMN-¹H DE 7'-O-METILCUSPIDALINA
- ESPECTRO 9: RMN-¹³C DE 7'-O-METILCUSPIDALINA
- ESPECTRO 10: EM (FAB) DE 7'-O-METILCUSPIDALINA
- ESPECTRO 11: EM (IE) DE 7'-O-METILCUSPIDALINA
- ESPECTRO 12: IR DEL COMPUESTO IV
- ESPECTRO 13: RMN-¹H DEL COMPUESTO IV
- ESPECTRO 14: EM DEL COMPUESTO IV

ESPECTRO 1



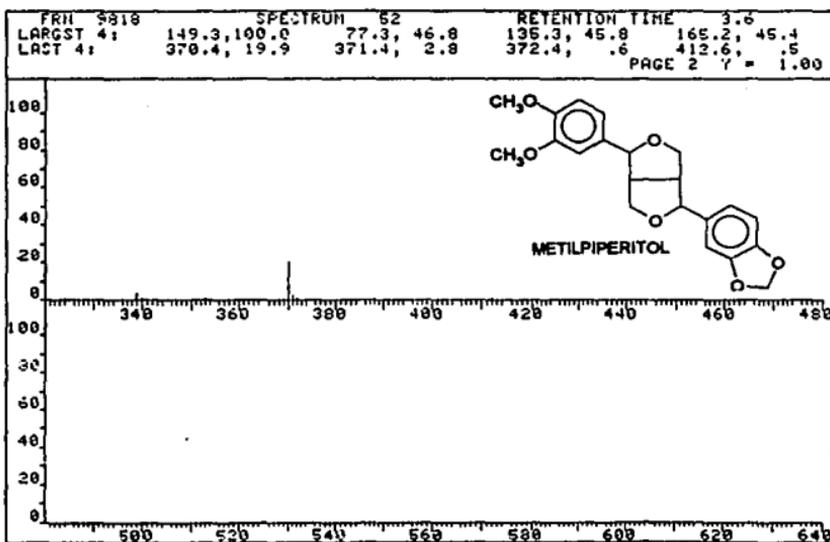
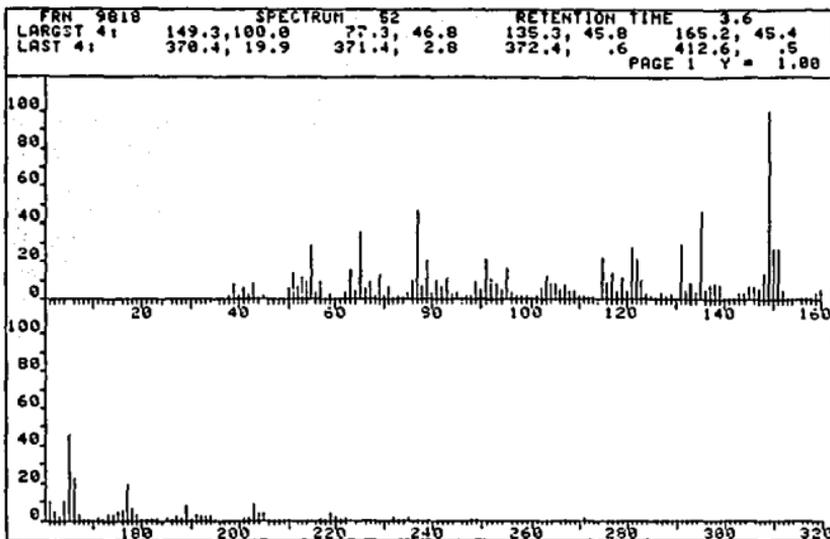
CH-1

CH

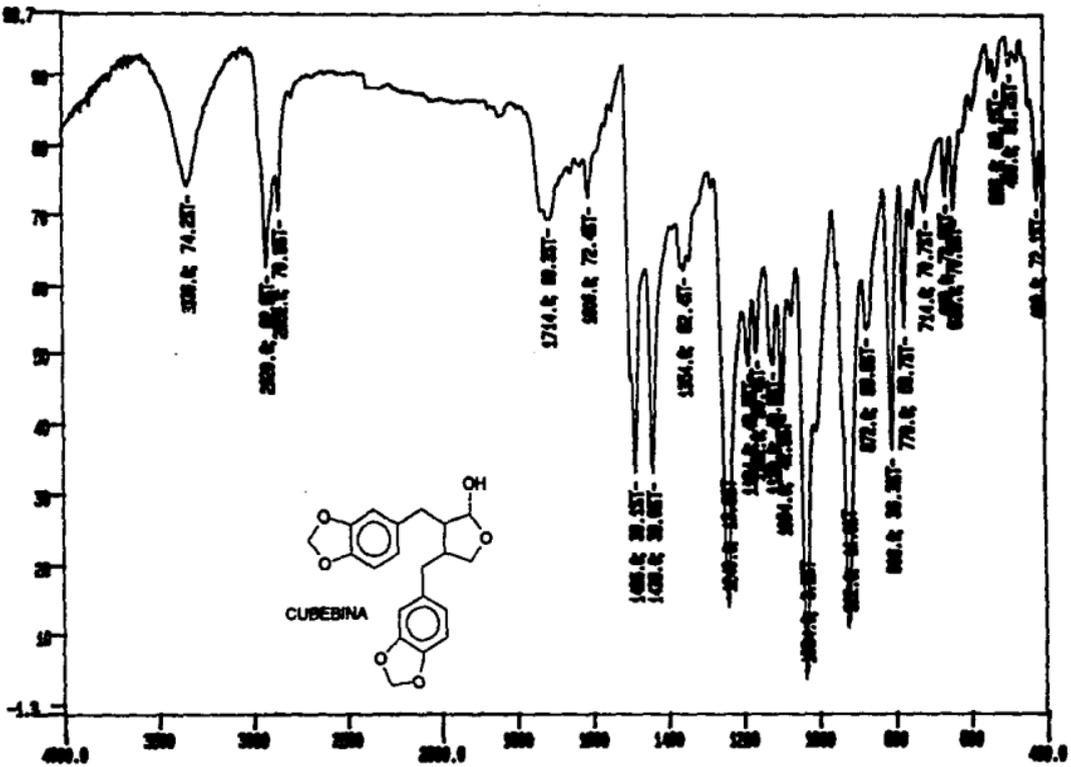


ESPECTRO 2

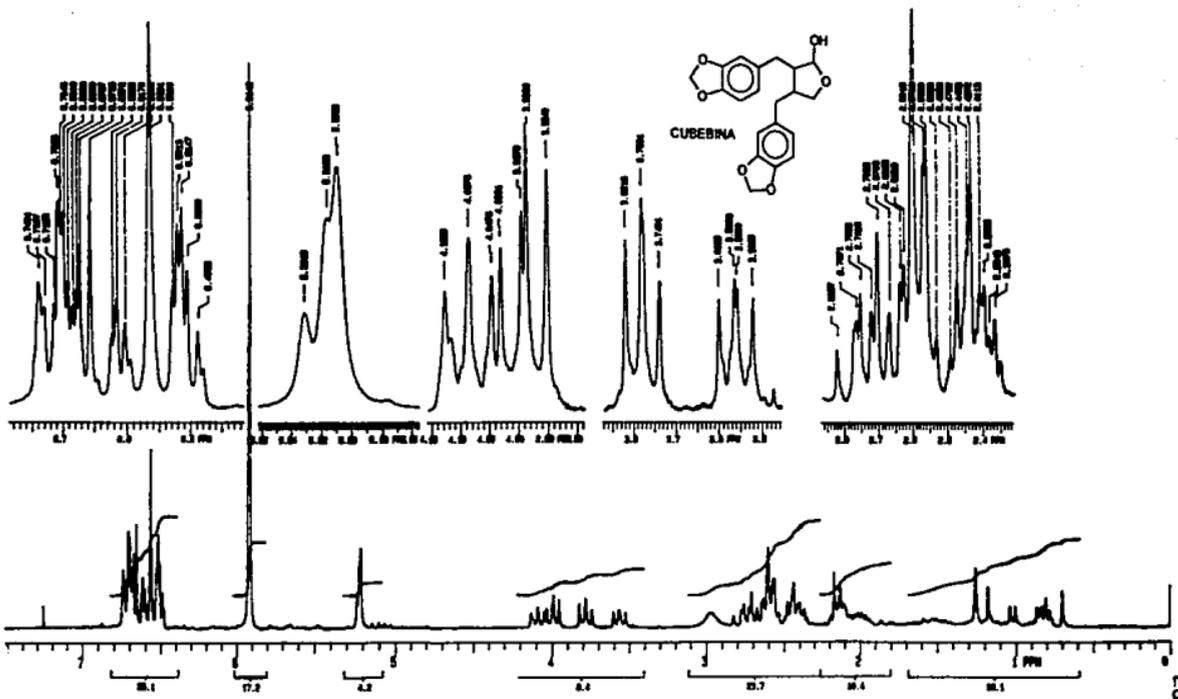
ESPECTRO 3



14

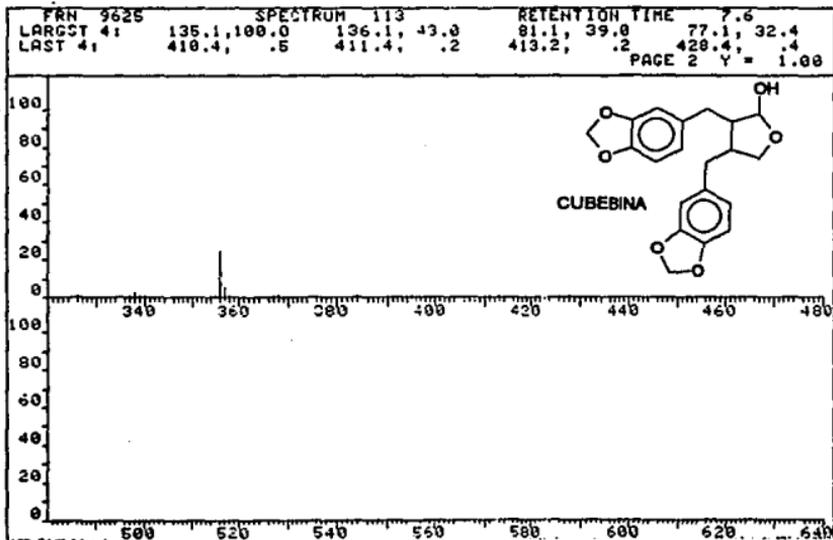
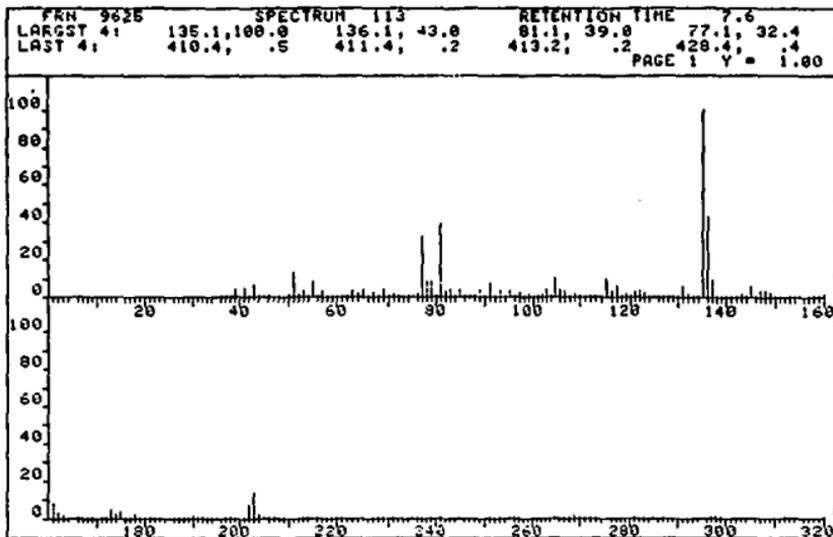


ESPECTRO 4

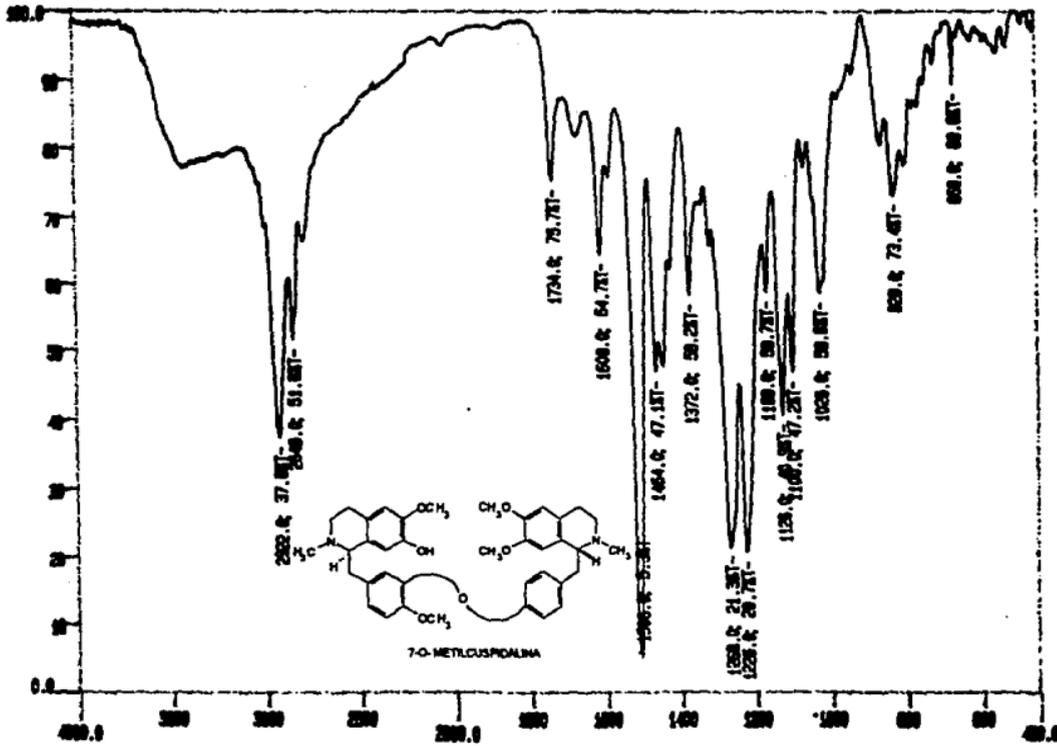


ESPECTRO 5

ESPECTRO 6

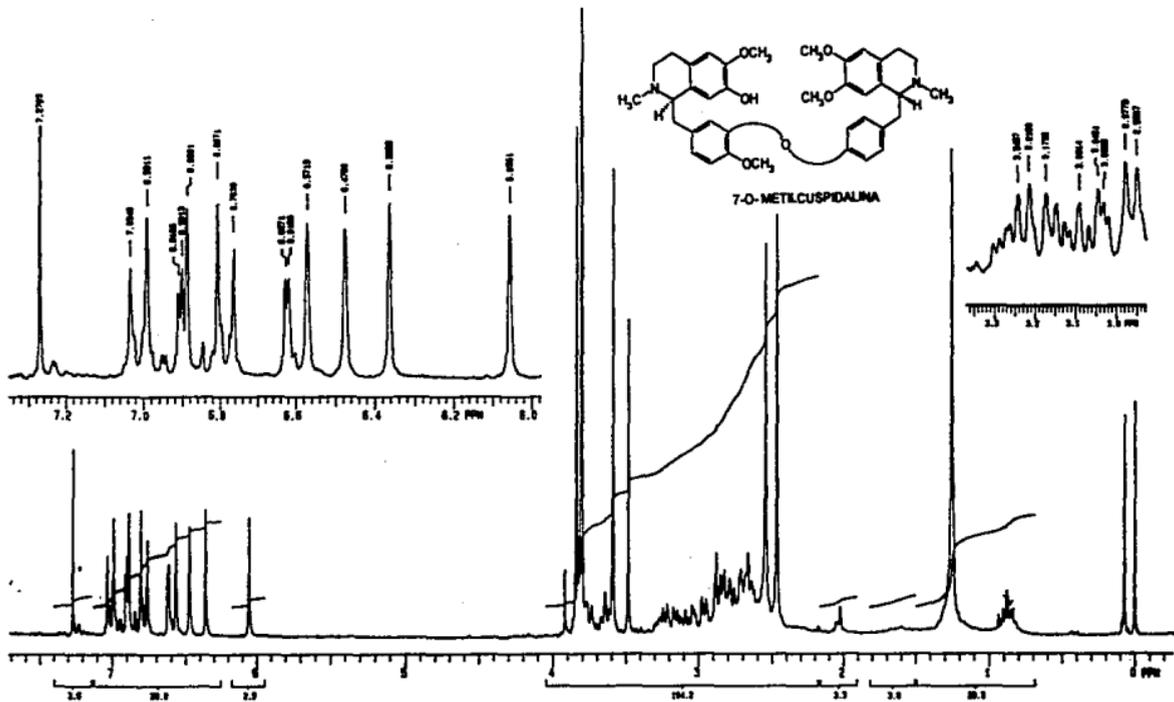


51

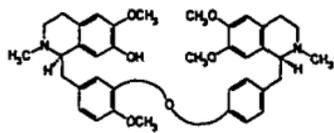


CH-1

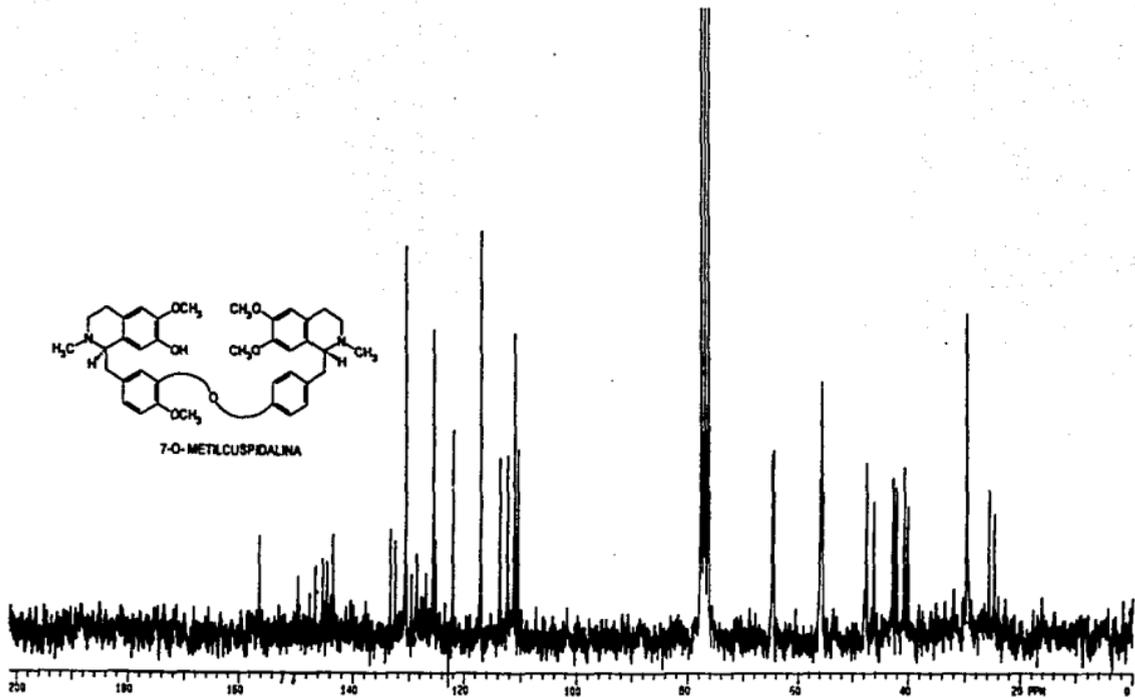
ESPECTRO 7



ESPECTRO 8



7-O-METILCUSPIDALINA



[Mass Spectrum]

Data : alfonsa

Sample: r-5

Inlet : Direct

Spectrum Type : Regular [M⁺-Linear]

RT : 0.50 min Scan# : (3,4)

BP : m/z 154.1602 Int. : 400.00

Output m/z range : 0.2687 to 651.1630

Date : 11-May-94 18:58

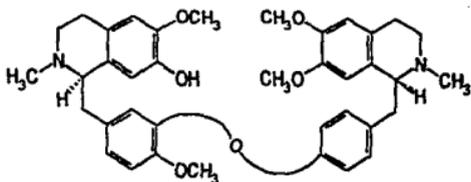
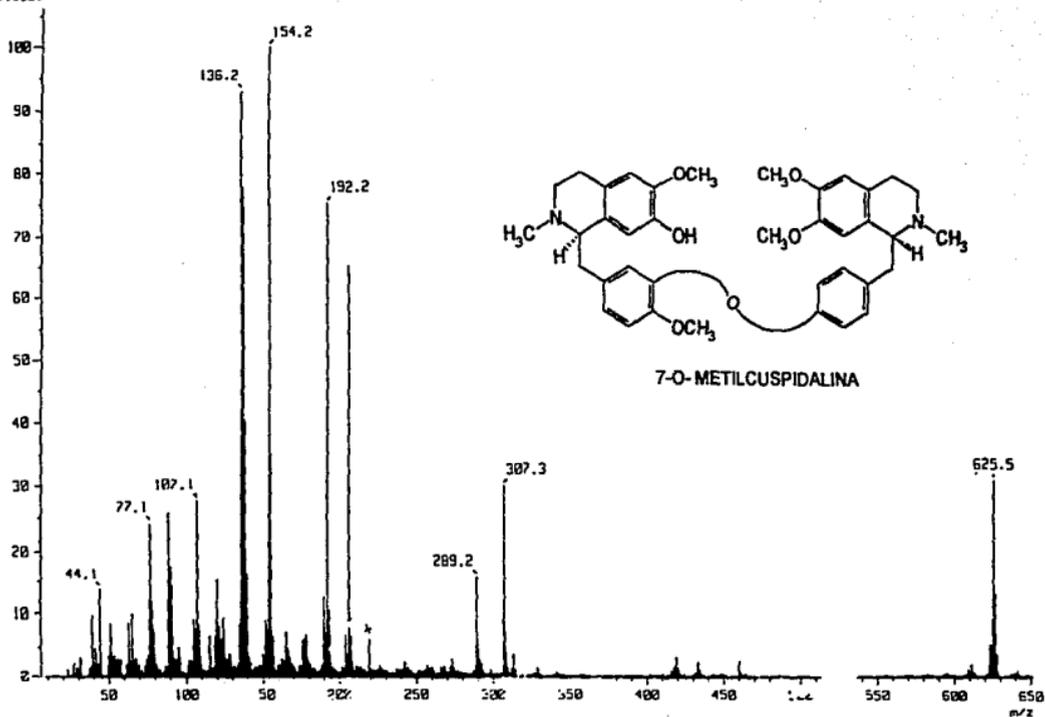
Note : *

Ion Mode : FRR+

Temp : 66.7 deg.C

Cut Level : 0.00 %

8919526



7-O-METILCUSPIDALINA

ESPECTRO 10

[Mass Spectrum]

Data : DIVISIONPg

Sample: FO II D

Inlet : Direct

Spectrum Type : Regular [MF-Linear]

RT : 0.33 min Scan# : (6,9)

BP : m/z 191.9742 Int. : 50.00

Output m/z range : 35.0000 to 800.0000

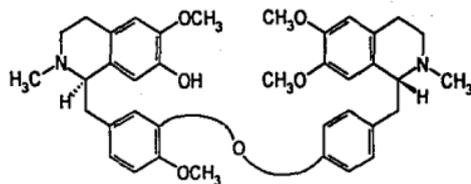
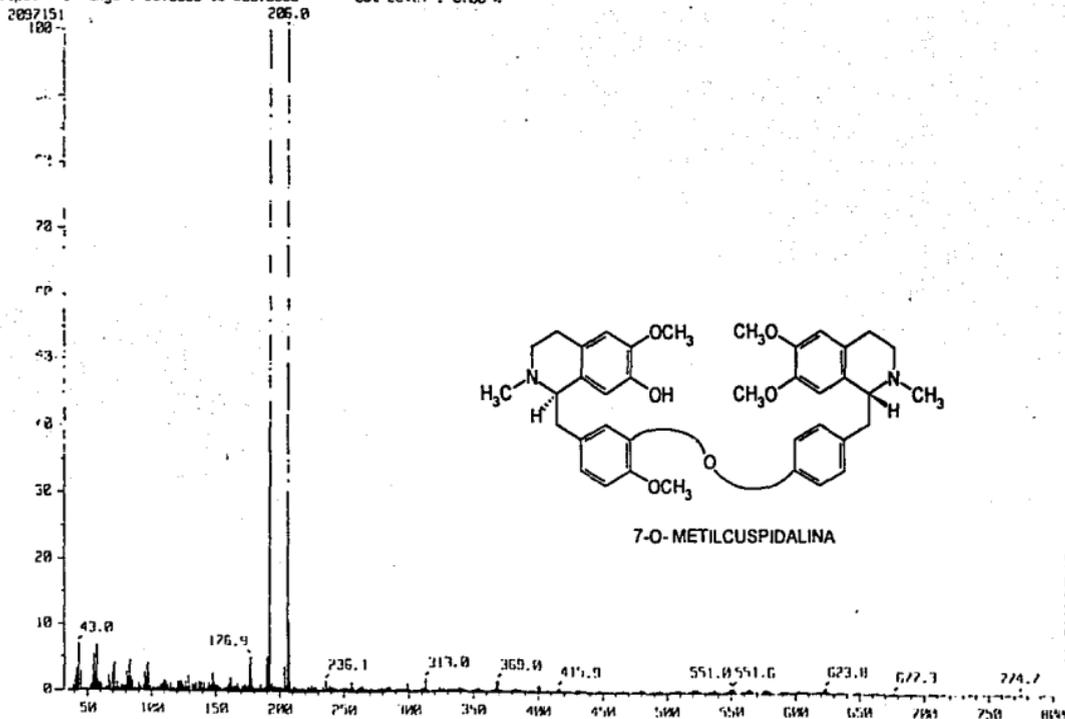
Date : 11-May-94 18:21

Note : *

Ion Mode : EI+

Temp : 79.0 deg.C

Cut Level : 0.00 %



7-O-METILCUSPIDALINA

ESPECTRO 11

[Mass Spectrum]

Data : Dra-Expejo

Date : 07-Jul-94 12:02

Sample : Dra-Expejo

Note : nba-dicloro

Inlet : Direct

Ion Mode : FAB+

Spectrum Type : Regular (MF-Linear)

RF : 1.17 min Scan# : (3,4)

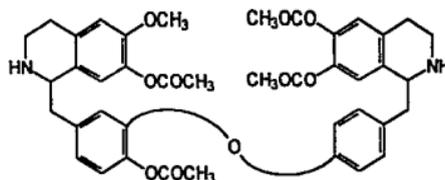
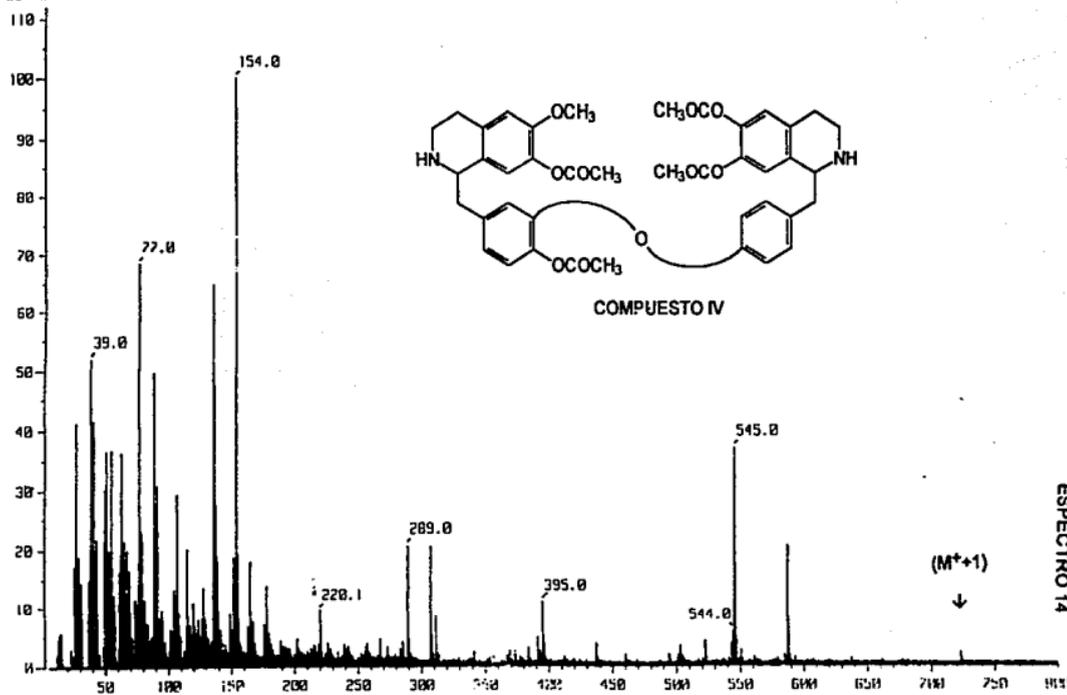
Temp : 99.1 deg.C

BP : m/z 154.0198 Int. : 18.28

Output m/z range : 5.6338 to 800.0000

Cut Level : 0.00 %

429700



COMPUESTO IV

ESPECTRO 14

BIBLIOGRAFIA

1. Farnsworth N. R., *J. Ethnopharmacology*, **1993**, *38*, 145-152
2. Camacho Uribe D. Estudio Químico de *Aristolochia littoralis*. Tesis de Maestría, UNAM, **1990**
3. Ruecker, G; Ming, Ch., *Phytochemistry*, **1990**, *29(3)*, 983-5
4. Zeng, J; Li, G., *Kexue Tong bao*, **1988**,*33(3)*,201-6; C.A: 110(17)154598c
5. Zhang, J; He, Linxing., *Chin. Chem. Lett*, **1990**, *1(3)*, 223-4
6. Kazuhito, O; Zhao, J., *Bull. Coll. Sci*, **1992**, *54*, 17-28
7. Mizuno, M; Oka, M., *J. Nat. Prod*, **1990**, *53(1)*, 179-81
8. Lopes, L.M.X; Bolzani, V.S., *Phytochemistry*, **1988**, *27(7)*, 2265-8
9. Leitao, G; Kaplan, M., *Phytochemistry*, **1992**, *31(9)*, 3277-79
10. Laitao, G; Kaplan, M., *Phytochemistry*, **1992**, *31(9)*, 3277-9
11. Chakravartu, M; Chaudhuri, Ch., *Planta Med*, **1988**, *54(5)*, 467-8
12. El, T; Kamai, E., *Int. J. Pharmacogn*, **1991**, *29(2)*, 101-10
13. Lou, F.C; Ding, L.S., *Yaoxue Xuebao*, **1989**, *24(4)*, 305-7
14. Urzua, A; Shamma, M., *J. Nat. Prod*, **1988**, *51 (1)*, 117-21
15. Urzua, A; Rojas, V., *Fitoterapia*, **1990**, *61(2)*, 190-1
16. Urzua, A; Presie, L., *Phytochemistry*, **1993**, *34(3)*, 874-5
17. Kostalova, D., *Chem. Pap*, **1991**, *45(5)*, 713-6
18. Lopes, L.M.X; Martins, J.A., *Eclética. Quim*, **1991**, 16
19. Cortes, D; Dadoun, H., *J. Nat. Prod*, **1987**, *50*, 910
20. Lopes, L.M.X., *Phytochemistry*, **1992**, *31(11)*, 4005-9
21. Houghton, P; Ogunverren, M., *Phytochemistry*, **1991**, *30(2)*, 717-8
22. Achenbach, H; Waibel, R., *J. Nat. Prod*, **1992**, *55(7)*, 918-22
23. Luiz, V; Bolzani, V., *Quim. Nova*, **1990**, *3(4)*, 250-1
24. El-Sebakhy; P. Richomme., *J. Nat. Prod*, **1989**, *52(6)*, 1374-5

25. Zhu, D.Y; Song, B.Z., *Planta Med*, **1990**, *56*(6), 514
26. Lopes L. M. X; Bolzani, V. D. S., *Phytochemistry*, **1990**, *29*(2), 660-2
27. Conserva, L. M; Silva, M. S., *Phytochemistry*, **1990**, *29*(1), 257-60
28. Houghton, P. J; Ogutveren, M., *Phytochemistry*, **1991**, *30*(1), 253-4
29. Hinou, J; Demetzos, C. J., *Crude Drug Res*, **1990**, *28*(2), 149-51
30. Larrahondo, J; Acevedo, C., *An. Asoc. Quim. Argent*, **1990**, *78*(6), 355-8
31. Dae-Suk. H; Bo, Sup., *Saengyak Hakhoechi*, **1989**, *20*(1), 1-5; 112(9)74264s
32. Heum, L; Dae, H., *Saengyak Hakhoechi*, **1990**, *21*(1), 52-5; 114(1)3438g
33. Lee, H; Han, D., *J. Nat. Prod*, **1992**, *55*(9), 1165-9
34. Lee, H; Han, D., *Saengyak Hakhoechi*, **1993**, *24*(1), 32-7; 119(22)233789e
35. Chen, W; Mayer, R., *Phytochemistry*, **1989**, *28*(11), 3233-4
36. Aguilar Flores F. Contribución al Estudio Fitoquímico de *Aristolochia littoralis*. Tesis de Licenciatura, UNAM, **1993**
37. Zhong-Liang, Chen., *The Alkaloids*, Academic Press, Inc, **1987**, 29-65
38. Govindachari. T. R; Viswanathan. N., *Indian. J. Chem*, **1967**, *5*, 655
39. El-Sebakhy; Waterman, P. G., *Phytochemistry*, **1984**, *23*, 2706-7
40. Ruecker, G; Mayer, R., *Planta. Med*, **1985**, *51*(2), 183-4
41. Liu. C; Xiao. P., *Yaoxue Tongbao*, **1983**, *18*, 287
42. He, L; Zhang, J., *Zhiwu Xuebao*, **1987**, *29*(2), 197-203; C.A:107(3)20754e
43. Yamaguchi, T; Ogino, T., *Chem. Abstract*, **1992**, *117*(22)220065z,
44. Ahmed, S., *J. Nat. Prod*, **1984**, *47*(2), 331-341
45. Cortes, D; Figadere, B., *J. Nat. Prod*, **1992**, *55*(9), 1281-6
46. Wall, M. E; Wani, M. C., *J. Nat. Prod*, **1988**, *51*(5), 866-873
47. Schiff, P. L., *J. Nat. Prod*, **1987**, *50*(4), 529-599
48. Kakisawa, H; *Phytochemistry*, **1972**, *11*, 2289-93
49. Baldas, J, *J. Chem. Soc*, **1972**, 592-601