



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

***FACULTAD DE CIENCIAS***  
**BIOLOGÍA EXPERIMENTAL**

**ESTUDIO ETNOBOTÁNICO, FITOQUÍMICO Y ANTIINFLAMATORIO**  
***DE Aristolochia grandiflora Sw***

*TESIS*

***PARA OPTAR POR EL GRADO ACADÉMICO DE***  
**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA

***DULCE YEHIMI LÓPEZ MIRANDA***

**DIRECTOR DE TESIS:** DR. RICARDO REYES-CHILPA, DEPARTAMENTO DE PRODUCTOS  
NATURALES, INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

**COMITÉ TUTORAL:**

**\*DR. GIL MAGOS GUERRERO, DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA, FACULTAD DE  
MEDICINA, UNAM**

**\*DRA. MÓNICA ADRIANA TORRES RAMOS, UNIDAD PERIFÉRICA DE NEUROCIENCIA  
UNAM-INNYN, INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA "MANUEL  
VELASCO SUAREZ"**



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.





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

***FACULTAD DE CIENCIAS***

**BIOLOGÍA EXPERIMENTAL**

**ESTUDIO ETNOBOTÁNICO, FITOQUÍMICO Y ANTIINFLAMATORIO**

**DE *Aristolochia grandiflora* Sw**

***TESIS***

***PARA OPTAR POR EL GRADO ACADÉMICO DE***

***MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS***

**PRESENTA**

***DULCE YEHIMI LÓPEZ MIRANDA***

**DIRECTOR DE TESIS:** DR. RICARDO REYES-CHILPA, DEPARTAMENTO DE PRODUCTOS  
NATURALES, INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

**COMITÉ TUTORAL:**

**\*DR. GIL MAGOS GUERRERO, DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA, FACULTAD DE  
MEDICINA, UNAM**

**\*DRA. MÓNICA ADRIANA TORRES RAMOS, UNIDAD PERIFÉRICA DE NEUROCIENCIA  
UNAM-INNYN, INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA "MANUEL  
VELASCO SUAREZ"**



OFICIO FCIE/DAIP/695/2018

ASUNTO: Oficio de Jurado

**Lic. Ivonne Ramírez Wence**  
**Directora General de Administración Escolar, UNAM**  
**Presente**

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **30 de abril de 2018** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Biología Experimental** del (la) alumno(a) **LOPEZ MIRANDA DULCE YEHIMI** con número de cuenta **304123043** con la tesis titulada "**Estudio etnobotánico, fitoquímico y antiinflamatorio de *Aristolochia grandiflora Sw***", realizada bajo la dirección del (la) **DR. RICARDO REYES CHILPA:**

Presidente: **DRA. PATRICIA GUEVARA FEFER**  
Vocal: **DR. SOL CRISTIANS NIIZAWA**  
Secretario: **DR. GIL ALFONSO MAGOS GUERRERO**  
Suplente: **DRA. MÓNICA ADRIANA TORRES RAMOS**  
Suplente: **DRA. HELIA REYNA OSUNA FERNÁNDEZ**

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"  
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 30 de julio de 2018

**DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**  
**COORDINADOR DEL PROGRAMA**



AGNS/VMVA/ASR/ipp

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, por darme la oportunidad de cursar la Maestría y los medios necesarios para concluir mis estudios satisfactoriamente.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por proporcionarme la beca CVU #706129 otorgada para realizar mis estudios.

Al proyecto “Química, Farmacología y Botánica de las plantas del Códice de la Cruz Badiano de 1552” 2018-2020 DGAPA-UNAM-PAPIIT IG200418, por el apoyo recibido para la realización de esta tesis.

*A los miembros del comité tutor:*

Dr. Ricardo Reyes Chilpa.

Dr. Gil Alfonso Magos Guerrero

Dra. Mónica Adriana Torres Ramos

*A los miembros del comité sinodal:*

Dra. Patricia Guevara Fefer

Dr. Sol Cristians Niizawa

Dr. Gil Alfonso Magos Guerrero

Dra. Mónica Adriana Torres Ramos

Dra. Helia Reyna Osuna Fernández

## **AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL**

Agradezco al Dr. Ricardo Reyes Chilpa, Instituto de Química, UNAM; y al Dr. Gil Alfonso Magos Guerrero, Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, UNAM; por darme un lugar en su laboratorio donde me brindo los conocimientos y paciencia necesaria para realizar esta tesis., que sin su ayuda no hubiera sido posible.

A la Dra. Mónica Adriana Torres Ramos, Unidad Periferia de Neurociencias, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía; por todas las observaciones realizadas para el mejoramiento de este trabajo. Y por fomentar mi pensamiento crítico y objetivo durante toda la maestría.

A la Dra. Helia Reyna Osuna Fernández del laboratorio de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias UNAM; por asesorar y fomentar el estudio etnobotánico que es parte fundamental de esta tesis, además de su amistad.

Agradezco a la Dra. Patricia Guevara Fefer del laboratorio de Fitoquímica, Facultad de Ciencias, UNAM; por aceptar ser parte de esta tesis, y brindarme la ayuda y asesoría necesaria.

Al Dr. Sol Cristians Niizawa, laboratorio de Etnobotánica del Jardín Botánico, UNAM; por aceptar ser parte de mi comité sinodal, brindándome con ello asesoría, apoyo y amistad.

A la Dra. Silvia Laura Guzmán Gutiérrez, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, y al M.C. Antonio Nieto Camacho, Instituto de Química, UNAM, y a los biólogos Israel Villanueva Solís e Ivan Fernando Pozas Ocampo; por su asesoría y apoyo en los experimentos de actividad biológica.

Dr. Javier Caballero Nieto y a la Biol. Laura Cortés Zárraga, del Instituto de Biología, UNAM. Por permitirme el acceso al la Base de Datos Etnobotánicos de Plantas Mexicanas (BADEPLAM).

A los Dr. Guillermo Laguna, Dra. Alicia Brechú y M.C. Rosa María Fonseca por su apoyo incondicional, asesoría y amistad durante todos estos años.

A mis compañeros del laboratorio, en especial a Paola, Heidi, Griselda, Israel, Juan y Dr. Rafael que me apoyaron e hicieron más amena la estancia del laboratorio

## RECONOCIMIENTO

A mi papá Sebastián López que me apoyo durante toda esta mi estancia en el posgrado, por la ayuda y conocimiento que me ha brindado durante toda mi vida. Y quien junto con mi mamá María Dolores Miranda<sup>+</sup>, fueron mis primeros y mejores maestros que he tenido.

A mi hermano Alejandro Y. López, quien con su apoyo y comprensión hicieron más amena esta etapa de mi vida.

A mis amigas Sandra, María Teresa, Nidia y Jessie, que me animaron a dar este paso.

La mente humana no esta hecha para comprender ciertos misterios...

No entendemos la muerte, ni el amor

No entendemos el viento, o el cause de un río,

ni las rutas de las estrellas, ni la vida.

No entendemos el color camaleón del cielo,

ni las alas de una mariposa.

Porque esas cosas no se razonan, o se comprenden.

Sólo se admiran, se contemplan, se sienten. Se viven.

# ÍNDICE

	PAG	
<b>1</b>	<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
	1.1 ABSTRACT	3
<b>2</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>ANTECEDENTES</b>	<b>6</b>
	3.1 GÉNERO <i>ARISTOLOCHIA</i>	6
	3.1.1 BOTÁNICA	6
	3.1.2 ETNOBOTÁNICA	6
	3.1.3 QUÍMICA	6
	3.1.4 EL GÉNERO <i>ARISTOLOCHIA</i> COMO ALEXÍTERE	8
	3.2 <i>Aristolochia grandiflora</i> SW.	12
	3.2.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	12
	3.2.2. QUÍMICA	13
	3.3 INFLAMACIÓN	15
	3.3.1 MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN	15
	3.3.2 MEDICAMENTOS ANTIINFLAMATORIOS	17
	3.3.2.1 MEDICAMENTOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS	17
	3.3.2.2 INDOMETACINA	18
	3.3.3 ÁCIDOS GRASOS CON ACTIVIDAD INHIBITORIA DE PLA <sub>2</sub>	18
	3.3.3.1 ÁCIDO PALMÍTICO	19
<b>4</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>20</b>
<b>5</b>	<b>HIPÓTESIS</b>	<b>20</b>
<b>6</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>21</b>
<b>7</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>22</b>
	7.1 REVISIÓN DE LA ETNOBOTÁNICA DEL GÉNERO <i>ARISTOLOCHIA</i>	22
	7.2 COLECTA DE <i>Aristolochia grandiflora</i> SW	23
	7.3 FITOQUÍMICA	25
	7.3.1 EXTRACCIÓN	25
	7.3.1.1 FRACCIONAMIENTO DE COMPUESTOS NITROGENADOS	25
	7.3.1.2 FRACCIONAMIENTO PLACA PREPARATIVA	28
	7.4 ACTIVIDAD BIOLÓGICA	29
	7.4.1 EFECTO ANTIINFLAMATORIO EN EL MODELO DE TPA	29
	7.4.2 ACTIVIDAD DE LA ENZIMA MIELOPEROXIDASA	30
	7.4.3 ACTIVIDAD INFLAMATORIA EN EL MODELO DE CARRAGENINA	30
<b>8</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>32</b>
	8.1 ESTUDIO ETNOBOTÁNICO	32
	8.1.1 ETNOBOTÁNICA DEL GÉNERO <i>ARISTOLOCHIA</i> EN MÉXICO	32
	8.1.2 ETNOBOTÁNICA DE <i>Aristolochia grandiflora</i>	37
	8.2 FITOQUÍMICA	39

8.2.1	ESTANDARIZACIÓN DE ÁCIDO ARISTOLÓQUICO	39
8.2.2	EXTRACCIÓN	42
8.2.2.1	EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS NITROGENADOS	44
8.2.2.2	FRACCIONAMIENTO EN PLACA PREPARATIVA	51
8.3	ACTIVIDAD BIOLÓGICA	52
8.3.1	EFFECTO ANTIINFLAMATORIO EN EL MODELO DE TPA	52
8.3.2	ACTIVIDAD DE LA ENZIMA MIELOPEROXIDASA	55
8.3.3	ACTIVIDAD INFLAMATORIA EN EL MODELO DE CARRAGENINA	55
9	CONCLUSIONES	58
10	PERSPECTIVAS	60
11	LITERATURA CITADA	61
12	APÉNDICES	66
12.1	REVISIÓN ETNOBOTÁNICA	66
12.2	LITERATURA ETNOBOTÁNICA	88
12.3	REACTIVOS QUÍMICOS	97
12.4	REACTIVOS PARA LA PRUEBA DE MIELOPEROXIDASA	98
12.5	RMN H <sup>+</sup> DE. FRACCIONAMIENTO EN PLACA PREPARATIVA	99
12.6	ABREVIATURAS	107

## ÍNDICE DE CUADROS

		PAG
1	PROPIEDADES ALEXÍTERES DEL GÉNERO <i>ARISTOLOCHIA</i> Y DEL ÁCIDO ARISTOLÓQUICO (AA)	9
2	COMPUESTOS REPORTADOS PARA <i>A. grandiflora</i> .	13
3	ACTIVIDAD DE ÁCIDOS GRASOS EN PLA <sub>2</sub>	19
4	CLASIFICACION DE LAS APLICACIONES ETNOMEDICAS DE LAS ESPECIES DE <i>Aristolochia</i>	22
5	DESPLAZAMIENTOS DEL ÁCIDO ARISTOLÓQUICO 1 EN RMNH <sup>+</sup>	39
6	RENDIMIENTOS DE <i>Aristolochia grandiflora</i> .	42
7	RENDIMIENTOS DEL EXTRACTO DE MEOH, DE ACUERDO CON EL MÉTODO DE EXTRACCIÓN UTILIZADO.	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

		PAG
1	ESTRUCTURA DE LOS ÁCIDOS ARISTOLOQUICOS, SUSTITUYENTES EN LOS CARBONOS 2, 6, 7 Y 8.	7
2	ESTRUCUTRA DE LAS ARISTOLACTAMAS	7
3	COMPUESTOS PRESENTES EN EL GÉNERO <i>Aristolochia</i>	8
4	<i>Aristolochia grandiflora</i> .Sw.	14
5	COLECTA DE <i>Aristolochia grandiflora</i> Sw	23
6	FICHA DE COLECTA DE <i>Aristolochia grandiflora</i> Sw	24
7	EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS ARISTOLÓQUICOS POR EL MÉTODO 1.	26
8	EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS ARISTOLÓQUICOS POR EL MÉTODO 2	27
9	MODELO DE TPA	29

<b>10</b>	ADMINISTRACIÓN Y MEDICIÓN CON VERNIER EN EL MODELO ANTIINFLAMATORIO DE CARRAGENINA EN PATA DE RATÓN	<b>31</b>
<b>11</b>	DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES DEL GÉNERO <i>Aristolochia</i> EN AMÉRICA.	<b>32</b>
<b>12</b>	NÚMERO DE ESPECIES DEL GÉNERO <i>Aristolochia</i> UTILIZADAS EN LOS ESTADOS DE LA REPÚBLICA MEXICANA.	<b>33</b>
<b>13</b>	ESPECIES DEL GÉNERO <i>Aristolochia</i> USADAS EN EL EXTRANJERO.	<b>34</b>
<b>14</b>	ESPECIES DEL GÉNERO <i>Aristolochia</i> MÁS UTILIZADAS EN MÉXICO.	<b>34</b>
<b>15</b>	USOS DEL GÉNERO <i>Aristolochia</i> EN MÉXICO	<b>35</b>
<b>16</b>	NÚMERO DE USOS DE LAS ESPECIES DEL GÉNERO <i>Aristolochia</i> EN MÉXICO	<b>36</b>
<b>17</b>	ORGANOS DE LA PLANTA UTILIZADOS EN EL GÉNERO <i>Aristolochia</i> .	<b>37</b>
<b>18</b>	ESTADOS DONDE SE UTILIZA DE <i>Aristolochia grandiflora</i> .	<b>38</b>
<b>19</b>	PATRÓN DE FRAGMENTACIÓN DEL ÁCIDO ARISTOLÓQUICO POR IE	<b>40</b>
<b>20</b>	PATRÓN DE FRAGMENTACIÓN DEL ÁCIDO ARISTOLÓQUICO REPORTADO POR ECKHARDT, G. ET AL 1983	<b>40</b>
<b>21</b>	PATRÓN DE FRAGMENTACIÓN DEL ÁCIDO ARISTOLÓQUICO POR DART	<b>41</b>
<b>22</b>	RMN H+ DEL ÁCIDO ARISTOLÓQUICO	<b>41</b>
<b>23</b>	RMN H+ DEL ÁCIDO ARISTOLÓQUICO REPORTADO POR HANNA, G. M., (2004)	<b>42</b>
<b>24</b>	CCF CON SISTEMA DE ELUSIÓN CH <sub>2</sub> CL <sub>2</sub> -MEOH 90:10 DE LAS FRACCIONES DE LOS EXTRACTOS Y ÁCIDO ARISTOLOQUICO 1	<b>43</b>
<b>25</b>	CCF CON SISTEMA DE ELUSIÓN CH <sub>2</sub> CL <sub>2</sub> -MEOH 90:10 DE LAS FRACCIONES DEL MÉTODO 1	<b>45</b>
<b>26</b>	GC/MS DE LA FO1 DE LA PRIMERA EXTRACCIÓN REALIZADA POR EL MÉTODO 1	<b>46</b>
<b>27</b>	GC/MS DE LA FO2 DE LA PRIMERA EXTRACCIÓN REALIZADA POR EL MÉTODO 1	<b>47</b>
<b>28</b>	CCF CON SISTEMA DE ELUSIÓN CH <sub>2</sub> CL <sub>2</sub> -MEOH 90:10 DE LAS FRACCIONES DEL MÉTODO 2	<b>47</b>
<b>29</b>	GC/MS DE LA FO2 SIN CRISTALES DEL MÉTODO 2	<b>48</b>
<b>30</b>	GC/MS DE LA FO3 SIN CRISTALES DEL MÉTODO 2	<b>49</b>
<b>31</b>	IR DE FO1 CRISTAL MÉTODO 2	<b>50</b>
<b>32</b>	IR DE OXALATO DE CALCIO (NIST)	<b>50</b>
<b>33</b>	RESULTADOS DE LOS EXTRACTOS Y ÁCIDO ARISTOLÓQUICO EN EL MODELO DE TPA	<b>53</b>
<b>34</b>	RESULTADOS DE LAS FRACCIONES DEL MÉTODO 2 EN EL MODELO DE TPA	<b>54</b>
<b>35</b>	ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL ÁCIDO PALMÍTICO	<b>55</b>
<b>36</b>	ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA ENZIMA MPO DEL ÁCIDO PALMÍTICO	<b>56</b>
<b>37</b>	ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO MeOH EN EL MODELO SUBPLANTAR DE CARRAGENINA A 24 HORAS	<b>57</b>
<b>38</b>	ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA EN EL MODELO SUBPLANTAR DE CARRAGENINA Y ADMINISTRACIÓN ORAL DEL EXTRACTO	<b>58</b>

## 1 RESUMEN

Las especies del género *Aristolochia* tienen distribución cosmopolita. A varias de estas especies se les atribuyen propiedades medicinales, en particular en el tratamiento de mordeduras de serpientes venenosas; es decir, como alexitére y puede incluir actividad antiinflamatoria, analgésica, neutralizante del veneno, anti-edema, antibacterial, entre otras.

El objetivo de este trabajo consistió en realizar un estudio: etnobotánico, químico y farmacológico de *Aristolochia grandiflora*. Para ello, se realizó una revisión bibliográfica del género *Aristolochia*, observando que en México su uso etnomédico abarca al 94 % de las especies reportadas en el territorio nacional. *Aristolochia grandiflora* es una de las especies más importantes ya que se utiliza en varios estados de la república con actividad alexitére, y para este fin se utiliza la raíz y el rizoma de dicha especie.

Con base en lo anterior se colectó esta especie para análisis fitoquímicos y farmacológicos, en especial para determinar su posible efecto antiinflamatorio. Algunos compuestos lipídicos entre los que destaca el ácido palmítico, el cual en un análisis *in silico* inhibe la actividad de la fosfolipasa A2 (PLA<sub>2</sub>), y con ellos presentando actividad antiinflamatoria.

El análisis fitoquímico se realizó mediante extracción con disolventes orgánicos. El fraccionamiento del extracto MeOH se realizó mediante dos métodos (ácido-base y base-ácido). Las fracciones se analizaron por CCF, GS/MS y RMNH<sup>+</sup>, y se compararon con el ácido aristolóquico 1, determinando con ello que el ejemplar colectado no presenta este compuesto; sin embargo, presenta de manera abundante compuestos lipídicos: ésteres de ácidos grasos saturados y no saturados, entre los que destaca la presencia del ácido palmítico, esteroides y terpenos.

Se determinó la actividad antiinflamatoria de los extractos, de las fracciones y compuestos, mediante el modelo de 13-acetato de 12-tetradecanoilforbol (TPA) y mieloperoxidasa (MPO); así como el modelo de carragenina.

Los resultados del modelo de TPA-MPO sugieren, que el efecto antiinflamatorio de la especie se debe al ácido palmítico encontrado en la fase orgánica 3 (FO3). Sin embargo, no se presentó esta actividad en los extractos. El extracto FO3 presentó un porcentaje de inhibición del 77% a una concentración de 0.31 mg/oreja, mientras que el ácido palmítico presentó una IC<sub>50</sub> de 0.99 mg/oreja en el modelo de TPA y en el modelo de MPO de 0.75 mg/oreja.

En el modelo de carragenina se determinó que el extracto no presenta actividad antiinflamatoria a las 24 horas; en la administración del extracto de manera subplantar (100 mg/mL) y oral (1, 10 y 100 mg/mL), medido con vernier. Sin embargo, se presentó el efecto inflamatorio en la zona subplantar a estas concentraciones.

El ácido aristolóquico 1 no presentó actividad antiinflamatoria en los modelos farmacológicos empleados, contrario a lo esperado y reportado por varios autores.

Con ello podemos concluir que *A. grandiflora* presenta un efecto antiinflamatorio, por la presencia del ácido palmítico aplicado de manera tópica.

## 1.1 ABSTRACT

The species of the *Aristolochia* genus has wide distribution. Several of these species are attributed medicinal properties, particularly in the treatment of poisonous snakebites; that is, as alexitere and may include anti-inflammatory, analgesic, neutralizing the poison, anti-edema, antibacterial, among others.

The objective of this work was to carry out a study: ethnobotanical, chemical and pharmacological of *Aristolochia grandiflora*. To do this, a literature review of the *Aristolochia* genus was conducted. In Mexico its ethnomedical use covers 94% of the species reported in the national territory. *A. grandiflora* is one of the most important species since it is used in several states of the republic with activity alexitere, and for this purpose the root and rhizome of species are used.

Based on the reviewed information, this species was collected for phytochemical and pharmacological analyzes, especially to determine its possible anti-inflammatory effect. Some lipid compounds, among which palmitic acid stands out, inhibits, in an *in silico* analysis, the activity of phospholipase A2 (PLA<sub>2</sub>), and with them presenting anti-inflammatory activity.

The phytochemical analysis was carried out by extraction with organic solvents. The fractionation of the MeOH extract was carried out by two methods (acid-base and base-acid). The fractions were analyzed by TLC, GS / MS and RMNH<sup>+</sup>, and compared with the aristolochic acid 1, determining that the collected sample does not present this compound; however, lipid compounds are present: esters of saturated and unsaturated fatty acids, sterols and terpenes. The anti-inflammatory activity of the extracts, the fractions and compounds was determined by means of the 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) and myeloperoxidase (MPO) models; as well as the carrageenan model.

The results of the TPA and MPO models suggest that the anti-inflammatory effect of the species is due to the palmitic acid found in organic phase 3 (FO3). However, this activity was not presented in the extracts. The FO3 extract showed a percentage of inhibition of 77% at a concentration of 0.31 mg/ear, while palmitic acid showed an IC<sub>50</sub> of 0.99 mg/ear in the TPA model and in the MPO model of 0.75 mg/ear.

In the carrageenan model it was determined that the extract does not present anti-inflammatory activity at 24 hours; in the administration of the extract footpad (100 mg / mL) and oral (1, 10

and 100 mg / mL), measured with vernier. However, the inflammatory effect was presented in the footpad zone to these concentrations.

The aristolochic acid 1 did not present anti-inflammatory activity in the pharmacological models used, contrary to what was expected and reported by several authors.

With this we can conclude that *A. grandiflora* has an anti-inflammatory effect, due to the presence of palmitic acid applied topically.

## 2 INTRODUCCIÓN

La inflamación es una característica de muchas enfermedades, principalmente las que se encuentran asociadas al sistema oseo muscular (Rodríguez, J. L. 2004). Además de representar un mecanismo de defensa para patógenos y venenos de animales, como lo presentes en las serpientes.

En la actualidad existen varios medicamentos antiinflamatorios no esteroideos que se caracterizan por inhibir la ciclooxigenasa. Sin embargo, estos medicamentos presentan varios efectos adversos, principalmente gastropatías. Es por ello, que es necesaria la búsqueda de nuevos fármacos que presenten menos efectos adversos.

Una de las fuentes importantes para la búsqueda de nuevos fármacos, son las plantas. Se estima que entre 5 mil y 20 mil especies se utilizan en la medicina tradicional mexicana para tratar alguna afección. Sin embargo, muy pocas de estas especies que poseen estudios fitoquímicos y farmacológicos formales (Mata, R. 1993).

Este estudio integra el conocimiento tradicional del género *Aristolochia*, basándonos en el uso y distribución de cada una de las especies presentes en la República Mexicana. Para posteriormente realizar estudios fitoquímicos y farmacológicos, con la finalidad de encontrar nuevas moléculas responsables de la actividad antiinflamatoria de *Aristolochia grandiflora*.

### **3 ANTECEDENTES**

#### **3.1 GÉNERO *ARISTOLOCHIA***

##### **3.1.1 BOTÁNICA**

Los integrantes de la familia Aristolochiaceae se caracterizan por ser hierbas, lianas y ocasionalmente arbustos, sus hojas son alternas, espirales y enteras con venación palmeada, lobadas y con puntos translucidos, sin presencia de estipulas. Las flores son bisexuales, radiales o bilaterales, con 3 sépalos, connados en ocasiones bilaterales, tubulares; se encuentran en posición axial, solitaria o en racimos, su fruto se presenta en forma de cápsula. Muchas de las especies se cultivan por la curiosa forma de sus flores y sus hojas frecuentemente variegadas, además de que se le atribuyen propiedades medicinales, en especial las pertenecientes a los géneros *Asarum* y *Aristolochia* (Judd, W., *et al.* 2007; Heywood, V., 1985).

El género *Aristolochia* posee 550 especies que se distribuyen desde Asia suroriental hasta el norte de Australia, India, Sri Lanka, el cercano Oriente, África y Europa meridional; en el hemisferio occidental, desde el sur de Estados Unidos hasta el centro de Argentina y Chile (González, F. 1990). En México se encuentran 65 especies de este género (Kelly, L. 2000).

##### **3.1.2 ETNOBOTÁNICA**

Al género *Aristolochia* se le atribuyen propiedades medicinales en diversas partes del mundo, principalmente en China. Otros países de Eurasia en donde se utiliza este género con fines medicinales son: Japón, India y España (Escuela Superior de la Medicina Tradicional China, 2017; Revista de Fitoterapia 2000, Flora de Guinea, 2017).

En América Latina se reporta su uso en Nicaragua, Colombia y México en donde el principal uso reportado es inhibir los efectos causados por mordedura de serpientes venenosas (Cook, K. 2001; Flora de Colombia, 1990; Flora de Norte América, 2017).

##### **3.1.3 QUÍMICA**

Las especies de la familia Aristolochiaceae, y en especial del género *Aristolochia*, se caracterizan por la presencia de ácidos aristolóquicos, los cuales están formados por un fenantreno, un ácido carboxílico y un grupo nitro (Figura 1). Se han descrito once tipos de

ácido aristolóquicos con diferentes sustituyentes en los carbonos 2, 6, 7 y 8 del fenantreno (Houong Thi Bich & Li-Li Hsiao 2008).

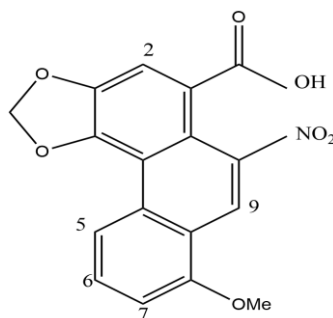


Figura 1. Estructura de los ácidos aristolóquicos, sustituyentes en los carbonos 2, 6, 7 y 8.

Algunas especies en donde se ha encontrado el ácido aristolóquico son: *A. serpentaria* (Mors, W., *et al.* 2000); *A. indica* (Bhattacharjee, P. & Brattacharyya D. 2013); *A. trilobata* (Coe, F. & Anderson G. 2005); *A. shimadai* (Gomes, A. *et al.* 2010); *A. bracteolata* (Shirwaikar, A. *et al.* 2003); *A. cordiflora*, *A. rigens*, *A. radix* (Reyes-Chilpa, R. & Jiménez, M. 1995) y *A. maxima* (Claro, R. *et al.* 2007)

Las aristolactamas (Figura 2), son compuestos derivados del ácido aristolóquico cuya diferencia es el grupo amida (Li-Shian Shi, *et al.* 2004). Su presencia se ha corroborado en: *A. elegans* (Li-Shian Shi, *et al.* 2004); *A. auricularia* (Houghton, P. & Ogutveren, M. 1991); *A. foveolata* (Yann Lu Leu, Yu-Yi Chan & Tian-Shung Wu. 1998); *A. kankauensis* (Tian Shung Wu *et al.* 1994) y *A. esperanzae* (Pacheco, A. *et al.* 2010).

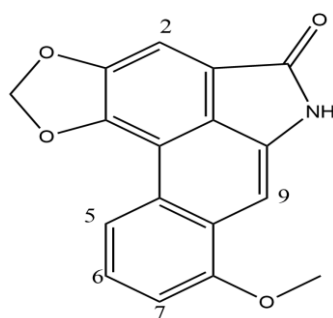


Figura 2. Estructura de las aristolactamas

Otros compuestos encontrados son: terpenos *A. indica* (Perumal R. *et al.* 2008); sitoesterol y estigmasterol en *A. serpentaria* (Mors, W., *et al.* 2000) y *A. trilobata* (Coe, F. & Anderson G. 2005); taninos, compuestos fenólicos, alcaloides, saponinas y flavonoides glicosilados (Figura 3) en *A. bracteolata* (Shirwaikar, A. *et al.* 2003).

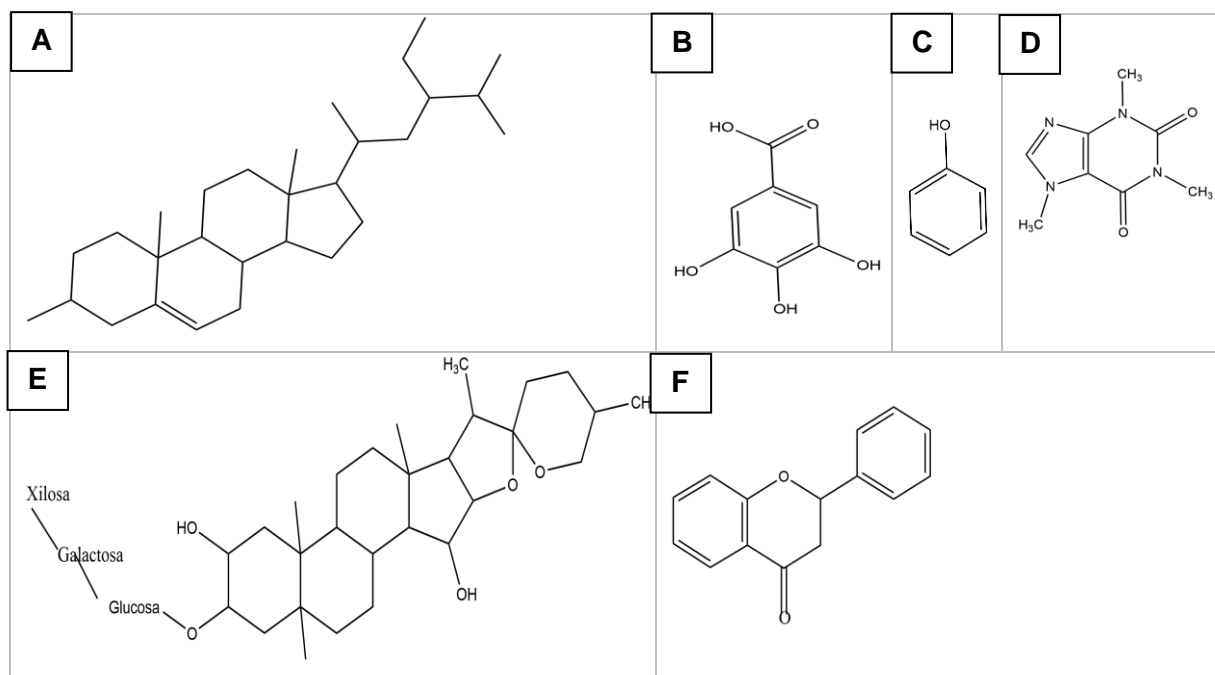


Figura 3. Compuestos presentes en el género *Aristolochia*. Estructura general de: A) Esteroles, B) Taninos, C) Fenoles, D) Alcaloide, E) Saponinas y F) Flavonoides

En el extracto hexánico de *A. longa* (Dhouioui, M. *et al* 2016) se encontraron ácidos grasos: ácido palmítico, estérico, cáprico, láurico, araquídico, behénico, oleico, palmitoleico, linoleico, linolénico y tecofenol (vitamina E).

### 3.1.4 EL GÉNERO *ARISTOLOCHIA* COMO ALEXÍTERE

Como se mencionó anteriormente, a la familia Aristolochiaceae se le atribuyen propiedades medicinales. Uno de los principales usos, específicamente del género *Aristolochia*, es su propiedad alexíttera (Heywood, V., 1985). El término alexíttera se refiere a la capacidad de contrarrestar el veneno de un animal (principalmente serpientes) y los efectos que producen (Reyes-Chilpa, R. & Jiménez, M. 1995).

En México, el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2016 reportó 3,941, mordeduras de serpientes. La familia de serpientes Viperidae se caracteriza por tener un veneno de efecto inflamatorio, necrosante, coagulante o hemorrágico, estos venenos presentan diversas toxinas y enzimas: fosfolipasas, proteasas, miotoxinas y L- aminoácido-oxidasa que afectan múltiples procesos fisiológicos (Prada, E. & Murillo, J. 2009).

La fosfolipasa más importante dentro de la familia Viperidae es la A2 (PLA<sub>2</sub>), la cual está involucrada en el proceso inflamatorio, ya que libera ácidos grasos de la membrana

fosfolipídica, dando lugar a mediadores lipídicos inflamatorios como los leucotrienos. Cuando los ácidos grasos están en contacto con el ácido araquidónico, éste da lugar a distintos eicosanoides: ciclooxigenasas, prostaglandinas, tromboxanos y lipoxigenasas (Ho, P.C. & Orange, R.P. 1978; Murakami M. *et al.* 2011; Yedgar, S. *et al.* 2006; Ariel. A. & Serhan, C. N. 2007).

La liberación de ácidos grasos de la membrana por las PLA<sub>2</sub> puede ocasionar lisis celular y que las células endoteliales desarrollen una serie de vesículas y reduzcan su grosor, hasta el punto de causar disrupción de la membrana de la mitocondria (Maruñak, S. L. *et al.* 2010). Otras actividades que ejercen las PLA<sub>2</sub> de la familia Viparidae son: neurotóxicas, miotóxicas: efecto anticoagulante, hemorrágico, inhibición de la agregación plaquetaria y convulsivo (Inga, R., *et al.* 2010; Carvalho, B.M.A., *et al.* 2013).

Con base en los efectos del ataque ofídico y enzimas implicadas, así como el hecho de que el género *Aristolochia* posee ácidos aristolóquicos, se realizó una revisión del papel del ácido aristolóquico en el tratamiento e inhibición del veneno (Cuadro 1), en la que se destacan las principales actividades probadas: inhibición de la PLA<sub>2</sub>:anticoagulante e inhibición del edema, aunque también se ha estudiado la inhibición de la letalidad y la inhibición de la cascada de señalización del ácido araquidónico (implicada en el proceso inflamatorio).

**Cuadro 1. Propiedades alexíteres del género *Aristolochia* y de los ácidos aristolóquicos (AA)**

Cita	Material examinado	Actividad Probada	Enzima o sustrato utilizado	Dosis o concentración		Efecto		
				DL50	Hemorragia			
			PLA <sub>2</sub> de:	Sin ext	Con ext	Sin ext	Con ext	
Tsai, L. <i>et al</i> 1975	Extracto de <i>Aristolochia radix</i> (= <i>A. shimbada</i> )	(Inhibición de la letalidad DL <sub>50</sub> ) y hemorragia (H)	<i>Trimeresurus granineus</i> ,	4.8	46	0.035	17.5	En general el extracto aumenta la DL <sub>50</sub> y disminuye la hemorragia.
			<i>T. mucrosquamatus</i>	5.5	38	0.075	8	
			<i>Agkistrodon acutus</i>	8.6	104	0.028	26.6	
			<i>Bungarus multicinctus</i>	0.88	0.75	0	0	
			<i>Naja naja</i>	0.95	2	3.63	3.63	
Vishwanath, B. S. <i>et al.</i> 1987	AA	Inhibición del edema y de la Hemolisis	PLA <sub>2</sub> de <i>Trimeresurus flavoviridis</i>	Inhibición del edema TFV PL-X a 20µg		Aumenta la energía de activación de la PLA <sub>2</sub> , interacción 1:1		

Cita	Material examinado	Actividad Probada	Enzima o sustrato utilizado	Dosis o concentración	Efecto
Vishwanath, B., S. & Gowda, T. V., 1987	AA	Hemolisis directa e indirecta, DL <sub>50</sub>	PLA <sub>2</sub> de <i>Vipera russelli</i> (VRV PL-VI)	H. directa =20μM (60%) y H. indirecta =20μM (50%). 10 y 15μg de AA no inh. DL <sub>50</sub>	Aumenta la energía de activación
Vishwanath, B. S. <i>et al.</i> 1988	AA	Inhibición de la PLA <sub>2</sub> y del edema en ratones	PLA <sub>2</sub> de fluido sinovial humano de pacientes con artritis (HSF-PLA <sub>2</sub> ), PLA <sub>2</sub> de plaquetas humanas, PLA <sub>2</sub> de páncreas de cerdo y PLA <sub>2</sub> de <i>Naja naja</i>	HSF-PLA <sub>2</sub> , IC <sub>50</sub> = 85μM PLA <sub>2</sub> de cerdo inhibo el 22% con 1000 μM Edema: 75mM= HSF-PLA <sub>2</sub>	Independiente a la concentración de Ca <sup>2+</sup> = no compite por el mismo sitio activo
Rosenthal, M. D. & Vishwanath, B. S., 1989	AA	Movilización del Araquidonato en neutrófilos	PLA <sub>2</sub> de neutrófilos humanos	100 μM inhibe 50% de araquidonato y al pre-incubarlo 50μM	Inhibición en corto tiempo, inhibe la síntesis de eicosanoides, inhibe el Ca <sup>2+</sup>
Rosenthal, M., Lattanzio, K. S. & Franson, R. C., 1992	AA	Mov. del araquidonato en neutrófilos	Neutrófilos humanos	200μM inhibe el 70% de Ca <sup>2+</sup>	
Moreno, J. J. 1993	AA	Efecto anticoagulante en sangre de ratas  Inhibió el edema (carragenina y aceite crocálico)  Permeabilidad vascular en ratas (PLA <sub>2</sub> )	PLA <sub>2</sub> de <i>Naja Naja</i>	10 <sup>-3</sup> M inhibe la agregación plaquetaria  Inhibición carragenina 150 μg (60%) > PLA <sub>2</sub> (31%) i.m. 40-50% con 25 μg v.t. 52% de inhibición con 250 μg  Inhibición de la permeabilidad a 100μg	Inhibición la producción de TxB <sub>2</sub> , 100μM inh. vía del ác. araquidónico, inh. la liberación de histamina a 0.01 mM.
Sundell, L. B, <i>et al.</i> 2001	AA	Inhibición de la agregación plaquetaria (pobre y rico)  Actividad anticoagulante	Fracción rica de PLA <sub>2</sub> de <i>Micropechis ikaheka</i>	Sangre pobre de plaquetas: Efecto del veneno 432±155 a 171±61 Fracc. 273±81 a 152±38 Sangre rica en plaquetas con veneno-AA (1:2), sin agregación.  Veneno de 148±15 a 140±9	

Cita	Material examinado	Actividad Probada	Enzima o sustrato utilizado	Dosis o concentración	Efecto
		en células epiteliales		Fracc de 188 <sub>+24</sub> a 134 <sub>+32</sub>	
Satish, S. <i>et al.</i> 2004	AA	Agregación plaquetaria en sangre rica de plaquetas	PLA <sub>2</sub> de <i>Naja naja</i> (NND-IV)	Veneno-AA de 1:1 a 1:100 mole/mole	Inhibición parcial, y aumenta a mayor concentración de AA pero -30%
Alali, F. Q. <i>et al.</i> 2006	<i>A. maurorum</i>	Actividad toxica con <i>Artemia salina</i> .  Inhibición de la agregación plaquetaria		CL <sub>50</sub> 4.9 (extracto de raíz), 1.4 (extracto de semillas) y 20.2 µg/mL (extracto de hojas) CL <sub>50</sub> = 1.4, µg/mL de AA1, 10.8 de AA2 y 168.9 µg/m AA3. Extracto inhibió 100% a 4.4 mg/mL AA 0.40 mg/mL, 100% Adición: AA1, 2 y AA3 85.3%. -Agregación: AA 0.20 mg/mL, AA1 (39.5%), AA2 (75.8%) y AA3 (100%)	AA1 en raíces  AA2 semillas y hojas. Los ext con AA1, AA2 y AA3a
Das, R., <i>et al.</i> 2010	<i>A. indica</i>	Inhibición del edema	<i>Heteropneustes fossilis</i> (pez)	10mg/Kg la H de 4 µL a 8 µL	
		Inhibición de la DL <sub>50</sub>	PLA <sub>2</sub> de <i>Naja naja</i> , <i>Daboia russelli</i>	200mg/Kg vía oral. super-vivencia a las 48 h del 80%	
Sakthivel, G., <i>et al.</i> 2013	<i>A. bracteolata</i>	Inhibición de PLA <sub>2</sub>  Inhibición de la hemolisis  Inhibición del peróxido	PLA <sub>2</sub> tipo1 de <i>Bungarus caeruleus</i>  <i>N. naja</i> ,  MMT	IC <sub>50</sub> 386 µg  IC <sub>50</sub> 74.05 µg	Interacción con el sitio activo 1 bloqueando la interacción con Ca <sup>+2</sup>
Bhattacharje, P. & Bhattacharyya D., 2013	<i>A. indica</i>	Supervivencia en ratas, inhibición de peróxidos	PLA <sub>2</sub> de <i>Daboia russelli</i>	<i>D. russelli</i> , + tiempo de superv 148 ± 63 mins a 190 ± 80, pre incubado aumenta 24 h a 50:1 AA-PLA2	
Hermann, P. M., <i>et al.</i> 2013	AA	Inhibición de COX, PLA <sub>2</sub> , peroxidación (LTM), daño neuronal en <i>L. stagnalis</i>		10µM	Inhibición de laminarina

Cita	Material examinado	Actividad Probada	Enzima o sustrato utilizado	Dosis o concentración	Efecto
		(caracol) por laminarina			
Desai, D., et al. 2014	<i>A. indica</i>	Inhibición de la IL6 Inhibición de la TNF $\alpha$		10 $\mu$ g/mL, extracto de petróleo (68%), diclorometano (78%) y AcOEt (66%) AA1, IC <sub>50</sub> de 116.8 $\pm$ 83 $\mu$ M AA2, concentración > 100 $\mu$ M.	

### 3.2 *Aristolochia grandiflora* Sw.

#### 3.2.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Sinónimos: *Aristolochia arborescens* L.; *A. cordiflora* Mutis ex Kunth; *A. foetens* Lindl.; *A. gigantea* Hook; *A. gigas* Lindl.; *A. gorgona* M. A. Blanco; *A. grandiflora* Duch; *A. pichinchensis* Pfeifer, *A. tupilulensis* Beutelsp.; *Howardia foetens* (Lindl.) Klotzsch; *H. gigantea* (Mart.) Klotzsch; *H. grandiflora* (Sw.) Klotzsch.

*Aristolochia grandiflora* es un bejuco glabrescente, el peciolo 5-11.5 cm de largo, lámina entera, ovada o anchamente ovada de 6-20 cm de largo y 6-16 cm de ancho. Presenta un pedúnculo floral de 12- 23.5 cm de largo, incluido en el ovario con una bractéola perfoliada circular. Limbo floral unilobado, anchamente obovado a elíptico, apéndice cintiforme de 7-150 cm de largo y 1-2.5 cm de ancho, ovario clavado e hipanto no evidente. Ginostemo de 1-1.6 cm de largo y de 4.7-7 mm de diámetro, con anteras lineales. Cápsula cilíndrica de 13-15.5 cm de largo y de 3.2-3.5 cm de diámetro de mítica, redonda, semillas anchamente ovoides de 1-1.3 cm de largo y de 1-1.2 cm de ancho, planas no aladas (González, F. 1990) (Figura 4).

Esta especie florece todo el año, y se encuentra en selva alta perennifolia, vegetación secundaria derivada de esta y en vegetación riparia. En México se le encuentra en los estados de Campeche, Chiapas, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz y Yucatán, además de distribuirse en el Centro América (Guatemala a Panamá), Las Antillas, hasta Colombia y Ecuador (López-Miranda, D. Y, 2013; Ortega, J. F. & Ortega, R. V. 1997).

Martínez, M. (1979) y Díaz, J. (1976), reportan a esta especie como medicinal. Principalmente para tratar enfermedades reumáticas, cefaleas, abscesos y para contrarrestar el veneno de animales ponsoñosos como serpientes y víboras.

### 3.2.2 QUÍMICA

De acuerdo con la revisión bibliográfica efectuada, esta especie carece prácticamente de estudios químicos. López-Miranda, D. Y. (2013), por la técnica de CG/MS del extracto metanólico de *A. grandiflora*, encontró 14 compuestos de baja polaridad (Cuadro 2).

Cuadro 2. Compuestos reportados para *A. grandiflora*. (López-Miranda, D.Y. 2013)

Compuesto	RT (segundos)	Compuesto	RT (segundos)
1,2,5-cicloheptatrieno	111.256	(4.1.0) Heptano, 1-metil, 4 (2 metiloxiranil)-7-Oxabiciclo	577.806
4 hidroxí-4-metil-2-pentanona	153.206	Ácido nonanoico	584.406
Ácido carbámico, fenil éster	259.656	Ácido tridecanoico, metil éster	597.356
2,6-diol, 2,6-dimetil 3,7-octadieno	337.856	1,2-15,16 Diepoxihexadecano	600.806
3-Metoxihex-1-eno	537.456	Ácido 1,2- bencenodicarboxílico-dihexil éster	608.756
1-2,2-dimetilciclopantenil-etanona	545.006	Ácido palmítico	625.056
Dihidromirceno	546.606	5,7- dodecadieno, (Z, Z)	666.306



Figura 4. *Aristolochia grandiflora* Sw. Realizado por Domínguez De la Torre, A. 2016

### **3.3 INFLAMACIÓN**

La inflamación es un mecanismo de defensa ante patógenos, cuya finalidad es restaurar la estructura y funcionamiento del tejido afectado por una lesión o una infección. En los casos en que la inflamación se dé por una infección, y esta persista, es posible que la inflamación aguda pase a ser crónica (Rang, H. *et al.* 2015).

En la respuesta inflamatoria, las células y los mediadores interactúan entre sí, mediante la formación de capilares y vasos alrededor del tejido lesionado, provocando el aumento del flujo sanguíneo al sitio de lesión y enrojecimiento. Los leucocitos migran desde los vasos hacia los tejidos lesionados para eliminar la infección y reparar el tejido. Los neutrófilos se encuentran en gran medida en esta respuesta inflamatoria temprana, mientras que los monocitos se encuentran después de las 24 horas (Rang, H. *et al.* 2015; Goldan, D. *et al.* 2001).

Una vez que empieza el proceso de reparación y cicatrización de los tejidos lesionados, se termina el proceso de inflamación aguda, pero si este proceso no se detiene, se produce una inflamación crónica (Goldan, D. *et al.* 2001).

#### **3.3.1 MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN**

Los principales mediadores de la inflamación son:

**Histamina:** inicia la respuesta inflamatoria, se sintetiza y se almacena en los gránulos de mastocitos y basinófilos. En la piel produce enrojecimiento y eritema, el enrojecimiento es el resultado de la vasodilatación de las arteriolas y los esfínteres pre capilares. El eritema se da por la estimulación de las fibras nerviosas sensitivas que liberan vasodilatadores (Rang, H. *et al.* 2015; Goldan, D. *et al.* 2001).

**Citocinas:** regulan la función leucocitaria, afectan la proliferación y función de la respuesta inflamatoria e inmune. Las principales citosinas son las interleucinas y TNF, las cuales son secretadas por las células hematopoyéticas en respuesta a la inflamación aguda (Goldan, D. *et al.* 2001).

**Eicosanoides:** Son los mediadores y moduladores más importantes en la inflamación, el principal precursor es el ácido araquidónico que se encuentra esterificado en la membrana

plasmática y es liberado por la PLA<sub>2</sub> citosólica. Los principales eicosanoides son (Rang, H. *et al.* 2015; Goldan, D. *et al.* 2001):

1. Ciclooxigenasa de ácidos grasos (COX), en humanos se encuentran las isoformas COX-1 y COX-2, ambas son enzimas glicosiladas. La COX-1 produce prostanooides como reguladores homeostáticos en respuestas vasculares, equilibrio del flujo sanguíneo renal y gastrointestinal, así como el ácido gástrico. La COX-2 se produce durante los estímulos inflamatorios, fiebre, dolor, estrés renal, ovulación, placentación y contracciones uterinas. Ambas COX pueden transformarse en diferentes prostanooides que se encuentran en los macrófagos, neutrófilos y mastocitos

Los prostanooides más importantes son las prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos.

Las prostaglandinas: son importantes en el proceso inflamatorio y en numerosos procesos patológicos, se dividen en 3 subseries: PG1, deriva del precursor del ácido araquidónico (DHGLA); PG2, son derivados directos del ácido araquidónico; y PG3, derivado del ácido EPA.

La prostaciclina más importante es el PGI<sub>2</sub>, ya que es el primer eicosanoide que se encuentra en el endotelio vascular debido a su función de vasodilatador y vasodilatador. Otra prostaciclina importante, es el PGE<sub>2</sub>, ya que esta activa a los leucocitos.

El tromboxano TxA<sub>2</sub>, es el principal producto eicosanoide de las plaquetas, que emite señales a través de las proteínas G transmembranales (GPCR). Es un potente vasoconstrictor y promotor de la adhesión y agregación plaquetaria.

2. Las lipoxigenasas producen leucotrienos y lipoxinas que se encuentran en plaquetas, mastocitos y leucocitos, las principales lipoxigenasas son LOX-5, LOX-12 y LOX-15 (Rang, H. *et al.* 2015; Goldan, D. *et al.* 2001).

Entre los leucotrienos se encuentra el LTB<sub>4</sub>, que es un potente quimiotáctico para los neutrófilos y los macrófagos. En los neutrófilos incrementa la expresión de moléculas de adhesión de la membrana, la producción de radicales libres de oxígeno y liberación de enzimas granulares, además de regular la función lisosómica neutrofílica.

Las lipoxinas finalizan el proceso inflamatorio, regulan la migración de neutrófilos y estimulan la captación y eliminación de células apoptóticas: revolvinas, pro lectinas y maresina.

3. Las epoxigenasas del citocromo P450 oxigenan el ácido araquidónico provocando la formación de EET que son importantes en los tejidos que no expresan COX y LOX (Rang, H. *et al.* 2015; Goldan, D. *et al.* 2001).

### **3.3.2 MEDICAMENTOS ANTIINFLAMATORIOS**

#### **3.3.2.1 MEDICAMENTOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS**

Los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE's) son medicamentos no esteroideos inhibidores de la ciclooxigenasa, se recetan para aliviar los síntomas de la fiebre, dolor e inflamación aguda y ocasionalmente crónica. La mayoría de los AINE, con excepción del ácido acetil salicílico, inhibe de forma competitiva y reversible la COX, justo en el canal hidrófobo donde se enlaza al ácido araquidónico. Estos fármacos inhiben la respuesta inflamatoria pero no necesariamente revierten el proceso inflamatorio.

La actividad antiinflamatoria de los AINE's se debe a la inhibición de COX-2 que ocasiona vasodilatación y edema, además de inhibir la liberación de citoquinas, la migración de leucocitos, enzimas lisosómicas y especies reactivas de oxígeno. He incluso, inhibe concentraciones de PGE2 (principalmente en el cerebro).

Los efectos adversos se deben en su mayoría a la inhibición de COX-1 afectando la función citoprotectora, ocasionando gastropatía (daño sistémico al recubrimiento gastrointestinal, debido a la disminución de la síntesis de prostaglandinas por parte de la mucosa, ulceración de la mucosa por la inhibición de PGE2), además de isquemia renal, necrosis papilar, nefritis intersticial e insuficiencia renal (por la inhibición de PGE2 y PGI2), pueden también relacionarse con riesgo cardiaco. Los efectos digestivos graves provocan la hospitalización de más de 100,000 personas en Estados Unidos, y un 15 % fallece por enfermedades iatrogénicas. Los AINE's causan a si mismo lesiones en el intestino delgado, aunque no está claro si dependen de las acciones sobre COX. También inhiben la síntesis de tromboxanos lo que puede ocasionar sangrado, retención de sal, agua e insuficiencia renal.

Los AINE's pueden presentar efectos adversos sobre la piel, desde erupciones leves, urticaria y fotosensibilidad, hasta problemas como el síndrome de Stevens-Johnson. Los efectos cardiovasculares elevan la presión arterial por lo que predisponen a padecer complicaciones cardiovasculares como infarto al miocardio.

Otras consecuencias de este grupo de medicamentos: es el efecto cruzado por una infección virilica preexistente y sensibilizante al sistema nervioso central, alteraciones en la medula ósea y trastornos hepáticos (Rang, H. *et al.* 2015; Goldan, D. *et al.* 2001).

### **3.3.2.2 INDOMETACINA**

Históricamente la actividad antiinflamatoria de la indometacina se descubrió al tratar el edema subplantar causado por la administración de carragenina en ratas. Se ha observado, que la indometacina es efectiva para tratar la poliartritis en el mismo modelo (Winter, C. A. *et al.* 1963).

La indometacina inhibe la actividad de la ciclooxygenasa y la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos, por lo que es utilizada en humanos como analgésico, para tratar el reumatismo y como antipirético.

Los efectos secundarios que presenta este fármaco son similares a los demás AINE's, entre ellos se encuentran: náusea, vomito, dolor abdominal, úlceras en el intestino, hemorragia gastrointestinal, gastritis, dolor de cabeza, mareo, depresión, ansiedad, vértigo, fatiga, debilidad muscular, contracciones musculares involuntarias y convulsiones (Montpellier, 1999).

### **3.3.3 ÁCIDOS GRASOS CON ACTIVIDAD INHIBITORIA DE PLA<sub>2</sub>**

Algunos ácidos grasos presentan actividad antiinflamatoria. El estudio realizado por Wen-Cheng, H. *et al.* 2014, señalan que el ácido láurico y el ácido cáprico poseen actividad antiinflamatoria inhibiendo la activación de NF-kB (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas, implicada en respuesta celular a estímulos de estrés) y la fosforilación de las MAP quinasas en un modelo de *Propionibacterium acnes* induciendo la inflamación en oreja de ratón e *in vitro* en sebocitos SZ95 humanos y monocitos THP-1 tratados con *P. acnes* sólo en presencia de ácidos grasos.

Como se describe en la patente de Horrobin, D. & Finnen, M. (1993), el ácido graso 18:4 cis 6,9,12,15-octadecatetraonico (18:4 n-3, SA), inhibe la PLA<sub>2</sub> de piel humana y macrófagos de rata a una IC<sub>50</sub> de 37±3µM y 52±8µM respectivamente. Otros ácidos grasos analizados con actividad inhibitoria de la PLA<sub>2</sub> se observan en el cuadro 3:

Cuadro 3. Actividad de ácidos grasos en PLA<sub>2</sub>. (Horrobin, D. & Finnen, M., 1993).

	IC <sub>50</sub> , PLA <sub>2</sub> humana $\mu$ M	PLA <sub>2</sub> rata $\mu$ M
<b>Ácido linoleico</b>	85 $\pm$ 5	
<b>Gamma linolénico</b>	52 $\pm$ 3	
<b>Alfa linolénico</b>	45 $\pm$ 6	75+-9
<b>Dihomo-gama-linolénico</b>	61 $\pm$ 5	71+-11
<b>20:5 5,8,11,14 eicosatetraenóico</b>	45 $\pm$ 8	65+-8
<b>20:2 cis 11,14 eicosadienóico</b>	87 $\pm$ 6	>100

En un estudio similar realizado por Ballou, L. R. y Wai Yui Cheung (1985), se analizó la PLA<sub>2</sub> extraída de plaquetas humanas por columna DAEA de celulosa. Se observó una fracción inhibitoria de la PLA<sub>2</sub> compuesta por ácidos grasos, la cual se analizó por CC+F y CG. Posteriormente, se observó que PtdCho (fosfatidilcolina) inhibió la actividad enzimática en un 50 % a 40  $\mu$ M y en un 95 % a 10<sup>-2</sup> M. Se analizaron también otros ácidos grasos saturados e insaturados, los ácidos grasos saturados: ácido palmítico, ácido estérico, inhiben la acción de la PLA<sub>2</sub> cerca de un 25 %; sin embargo, el ácido araquídico inhibe en un 40 %.

Los ácidos grasos insaturados analizados que inhibieron la actividad de la PLA<sub>2</sub> fueron: palmitoléico, oléico, linoléico, linolénico, araquidónico, docosatetraenóico, docosahezaenóico con una IC<sub>50</sub> de 2x10<sup>-6</sup> M a excepción del ácido oléico que fue de 2X10<sup>-7</sup> M, siendo estos más potentes que los ácidos grasos saturados. La potencia de estos ácidos grasos fue: ácido oléico < ácido docosatetraenóico < ácido linoléico < docosahexaenóico < ácido linolénico < ácido palmitoléico < ácido araquidónico. Se observó que la actividad enzimática máxima del ácido linolénico fue del 40 % pero no fue competitiva a 1  $\mu$ M a concentraciones de PtdCho como sustrato de 1-20  $\mu$ M, cabe mencionar que el PtdCho sin el ácido linolénico no presenta actividad inhibitoria de la PLA<sub>2</sub> a estas concentraciones.

### 3.3.3.1 ÁCIDO PALMÍTICO

Aparna *et al.* (2012), analizó el efecto del ácido palmítico para inhibir la PLA<sub>2</sub> en un modelo *in silico*. Este estudio consistió en usar lecitina de soya como sustrato, 1mg/mL de PLA<sub>2</sub> con ácido palmítico disuelto previamente con DMSO/agua. Las concentraciones de la PLA<sub>2</sub> y el ácido palmítico fueron 1:10, 1:20 y 1:30 molar. En este experimento se observó que el ácido palmítico inhibe el sitio activo de la PLA<sub>2</sub> de manera competitiva con una IC<sub>50</sub> 43.26X 10<sup>-5</sup> M. Por análisis de rayos X se observó que la interacción del ácido palmítico con la enzima es hidrofóbica mediante puentes de hidrógeno formados fuera del sitio activo, para ello se

necesitan 2 iones de calcio y 58 moléculas de agua. Con estos experimentos se determinó que el ácido palmítico sí inhibe la PLA<sub>2</sub>.

Ju Younget, *et al.* (2010) estudiaron el efecto antiinflamatorio del ácido palmítico, específicamente en la producción de TNF $\alpha$  y IL6 que estimula la movilización de macrófagos LPS peritoneales de ratón. Se observó que los macrófagos LPS fueron inhibidos por el tratamiento con ácido palmítico de manera dosis dependiente, la producción de TNF $\alpha$  y IL6 también fueron inhibidas a una concentración de 100mM de ácido palmítico un 30.11 $\pm$  2.8 % y 35.31 $\pm$ 2.1 %, respectivamente.

En otro experimento realizado en este mismo estudio, se analizó el efecto del ácido palmítico en la producción de PGE2 con este mismo modelo, observando que se inhibe su producción cuando se pre trata con 10-100 mM de ácido palmítico, teniendo una máxima inhibición a 100mM 42.31 $\pm$ 3.4 %. También se observó que el ácido palmítico inhibe el incremento de COX-2 de manera dosis dependiente, además de inhibir NO (óxido nítrico) de manera dosis dependiente cuando las células son pre-tratadas por 2 horas con ácido palmítico y 48 horas antes con LPS (el cual estimula la expresión de macrófagos peritoneales), la máxima inhibición fue de 31.21 $\pm$ 3.3 % (100  $\mu$ M de ácido palmítico).

#### **4 JUSTIFICACIÓN**

A la fecha no se ha investigado desde el punto de vista químico y farmacológico las propiedades atribuidas a *Aristolochia grandiflora*, en especial relacionadas con procesos inflamatorios en mordeduras de serpientes venenosas, así como en otros padecimientos como aftas, reumatismo y golpes, etc.

#### **5 HIPÓTESIS**

Los usos etnomédicos de *A. grandiflora* para el tratamiento de mordeduras de serpientes venenosas, en especial procesos inflamatorios, tendrán sustento químico y farmacológico, por lo cual se podrá aislar e identificar compuestos con actividad antiinflamatoria en modelos murinos.

## 6 OBJETIVOS

### General:

- Realizar un estudio etnobotánico, químico y farmacológico de *Aristolochia grandiflora*.

### Particulares:

- Compilar los usos etnomédicos y distribución de las especies del género *Aristolochia* con base información bibliográfica y de herbario.
- Identificar los compuestos presentes en *Aristolochia grandiflora*, en particular determinar el contenido de ácido aristolóquico.
- Determinar si los extractos y los compuestos aislados poseen propiedades antiinflamatorias.

## 7 MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 REVISIÓN DE LA ETNOBOTÁNICA DEL GÉNERO *ARISTOLOCHIA*

Se realizó una revisión bibliográfica, en la que se consultaron fuentes históricas, artículos de investigación, bases de datos, libros, tesis y fuentes etnobotánicas, así como los herbarios MEXU, FCME y ENCB.

La información obtenida se trabajó de la siguiente manera:

1. Se consultó la página de Missouri Botanical Garden (2017) para corroborar que el nombre taxonómico reportado sea correcto, con base a los criterios taxonómicos APG IV (2016).
2. De cada una de las 61 especies, se identificó: uso, distribución, nombre común, la parte usada y la forma de preparación, esta última en el caso de los usos etnomédicos.
3. Se catalogaron los usos etnobotánicos y etnomédicos reportados de acuerdo con el Cuadro 4:

Cuadro 4. Clasificación de las aplicaciones etnomédicas de las especies de *Aristolochia*.

Sistema	Actividad/ Problema a tratar/ Uso	Sistema	Actividad/ Problema a tratar/ Uso
Alexitére	Piquete de alacrán	Nervioso-Cardiovascular	Cefalea
	Alexitére	Oftálmico	Problemas de los ojos
	Mordedura de serpiente	Óseo-muscular	Antirreumático
Antipiretica-Analgésica	Antiinflamatorio		
Auditivo	Problemas en los oídos		Dolor muscular
Cardiovascular	Afrodisíaco		Varias enfermedades
	Antihemorrágico	Otros	Ornamental, juguete, cuerda
	Problemas del corazón / sangre	Reproductivo	Problemas del embarazo
Dérmico	Problemas de la piel		Abortiva /Anticonceptivo
Digestivo	Dolor de estomago		Enfermedades de transmisión sexual
	Antiespasmódico		Favorece la fertilidad en la mujer
	Antihelmínticos		Problemas menstruales
	Digestivo / Contrarrestar el estreñimiento	Varias enfermedades	
	Disentería	Respiratorio	Expectorante
Diurético		Enfermedades de las vías respiratorias	

Sistema	Actividad/ Problema a tratar/ Uso	Sistema	Actividad/ Problema a tratar/ Uso
Endocrino	Problemas de la vesícula	Tóxico	Tóxico
	Diabetes	Urinario	Problemas urinarios
	Varias enfermedades		Cálculos renales
Síndrome de filiación cultural	Enfermedad cultural	Varios	Antitumoral
Inmunológico	Varias enfermedades infecciosas		Animalario
NE	No especificado		Medicinal, no especificado
Nervioso	Problemas del sistema nervioso		Varias enfermedades

## 7.2 COLECTA DE *Aristolochia grandiflora* Sw

Se colectaron 4 Kg de peso fresco raíz y rizoma de un ejemplar de *Aristolochia grandiflora*, el día 28 de junio del 2015, en la localidad de San Andrés Tuxtla, Veracruz; a 1.5 Km del campo Militar n. 25, al poniente de la calle Juan de la Barrera (18°26'13" N 95°12'51" O) (Figura 5). La vegetación característica del sitio es selva mediana perturbada, a orillas de un arroyo y cerca de un cultivo de mango.

El material fue lavado con abundante agua y puesto a secar con focos de 60 W, para posteriormente ser triturado con un molino automático, obteniendo 538.76 g.





Figura 5. Colecta de *Aristolochia grandiflora* Sw. 1. Fotografía frontal de la flor (López-Miranda, A. Y.), 2. Fotografía lateral de la flor. 3. Raíz y rizoma colectados.

Las flores colectadas se identificaron mediante la clave "Flora de Colombia"; las cuales se prensaron en campo y posteriormente se herborizaron durante 8 días, agregándoles CAPTAN para evitar la contaminación por hongos. Estos ejemplares fueron depositados en el herbario del Centro Médico, IMSS, junto con 5 g de raíz y rizoma secos (ejemplar # 16250) (Figura 6).

<b>Estado de Veracruz</b>	
Especie: <u><i>Aristolochia grandiflora</i> Sw.</u>	
Municipio: <u>San Andrés Tuxtla</u>	
Localidad: <u>San Andrés Tuxtla, a 1.5 Km del campo Militar (Ejército nacional N. 25) al Poniente sobre la calle Juan de la Barrera</u>	
Altitud: <u>300 m.s.n.m.</u> Tipo de Vegetación: <u>Selva perturbada, cerca de un cultivo de mango</u>	
Coordenadas: <u>18°26'13" N 95°12'51" O</u>	
Vegetación asociada: <u>Bejuocos.</u>	
Información Ambiental: <u>En la pared cerca de un Arroyo</u>	
Altura:	Forma biológica: <u>Bejuco</u>
Abundancia: <u>Regular</u>	
Flor: <u>Coloración blanca con venación vino proveniente del centro de la flor</u>	
Suelo: <u>De coloración negra húmedo con abundantes herbáceas</u>	
Nombre común: <u>Pato, Guaco.</u>	
Otros: <u>Se encuentra cerca de cuerpos de agua.</u>	
Uso: <u>Ornamental, Medicinal</u>	
Colector: <u>López Miranda Dulce Yehimi</u>	Número de Colecta:
Determino:	Fecha de Colecta: <u>28/06/2015</u>

Figura 6. Ficha de colecta de *Aristolochia grandiflora* Sw.

## **7.3 FITOQUÍMICA**

### **7.3.1 EXTRACCIÓN**

Con la finalidad de analizar si la planta poseía ácido aristolóquico, se adquirió y utilizó ácido aristolóquico 1 (Sigma-Aldrich); como control positivo. Su identidad se corroboró por RMNH<sup>+</sup> en el Instituto de Química, UNAM.

Los 538.76 g de planta seca (raíz y rizoma), se maceraron con disolventes orgánicos: por 2 semanas con 3 L de hexano (Hex); y 11 semanas con 3 L de hexano-metanol (Hex: MeOH) y metanol (MeOH) por 11 semanas. Los extractos obtenidos se concentraron a presión reducida con un rota vapor y se agruparon de acuerdo al disolvente utilizado.

Los extractos se analizaron por cromatografía en capa fina (CCF) para determinar la similitud en los compuestos utilizando como control positivo ácido aristolóquico 1. Las placas utilizadas fueron de sílica gel fase normal, las cuales se eluyeron con las fases móviles: 70:30 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH, 83:17 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH y 90:10 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH. Cada una de estas CCF se observaron a luz visible, UV onda corta, UV onda larga y posteriormente reveladas con soluciones de sulfato sérico al 1 % en ácido sulfúrico 2N, Dragendorff, reactivo de Márquis, reactivo de Wagner (Apéndice 12.3).

#### **7.3.1.1 FRACCIONAMIENTO DE COMPUESTOS NITROGENADOS**

Se compararon dos tipos diferentes de extracción de alcaloides, para extraer los ácidos aristolóquicos de la planta. Las fracciones de ambos métodos se analizaron por Cromatografía de Gases acoplado a Masas (CG/MS), (con el equipo Jeol, The AccuTOF JMS-T100LC).

##### **MÉTODO 1**

Se pesó 0.32 g del extracto MeOH: hexano, el cual se disolvió con 15 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se colocó en un embudo de separación con NH<sub>4</sub>OH al 1 % hasta obtener un pH de 9.

Se realizaron 3 lavados obteniendo así la fase orgánica 1 (FO1) (inferior) y la fase acuosa (FA) (superior), la FO1 se rompió la emulsión formada dejando caer gota a gota sobre un papel filtro con sulfato de sodio anhidro. La FA se llevó a un pH de 3-4 con ácido clorhídrico (HCl) al 1% y se realizaron lavados con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> hasta el agotamiento, obteniendo la Fase orgánica 2 (FO2) donde se encontrarán los ácidos aristolóquicos y se secó con sulfato de sodio anhidro. Ambas

fracciones se colocaron en la campana para su secado, y posteriormente se analizaron por los métodos de CCF descritos anteriormente (Figura 7).

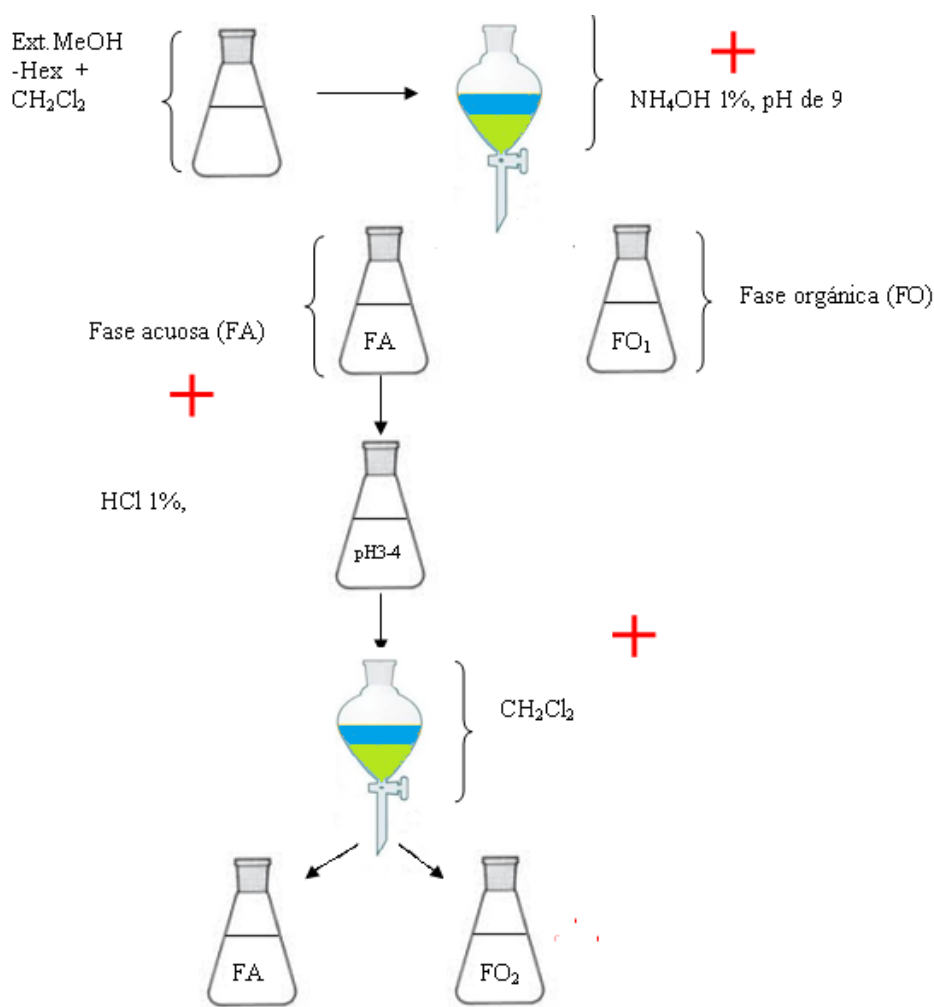


Figura 7. Extracción de ácidos aristolóquicos por el método 1, López-Miranda, D. Y. 2013.

## MÉTODO 2

Se pesó 0.28 g (sin que se secará por completo) de Ext-MeOH y se disolvió con 1.5 mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) al 25 %, se le agregó 2.5 mL de diclorometano ( $CH_2Cl_2$ ) y 7 mL de  $H_2O$  destilada, para posteriormente ser vertido en un embudo de separación. Se separó la FA (superior) y la FO1 de coloración verde (Inferior).

La FA se le agregó hidróxido de amonio al 1 % ( $NH_4OH$ ) hasta llevar la disolución a un pH de 9, su coloración cambió a amarillo. A esta disolución se le agregó acetato de etilo (AcOEt) hasta el agotamiento para recuperar los alcaloides, obteniendo la FO2. La FA se le agregó AcOEt: MeOH 3:1, para recuperar alcaloides poco solubles, obteniendo la Fase orgánica 3

(FO3). Las FO1, 2 y 3 se secaron con sulfato de sodio anhidro y se colocaron en la campana para su secado, obteniendo cristales en de cada una de las fases orgánicas. Se determinaron los puntos de fusión con el aparato Scorpion Scientific, y los cristales obtenidos de la FO1 se analizaron por espectro de infrarrojo con el quipo Espectrofotómetro IR Brucker Tensor 27 (Figura 8).

Los extractos sin cristales y secos se analizaron por CCF, método descrito anteriormente.

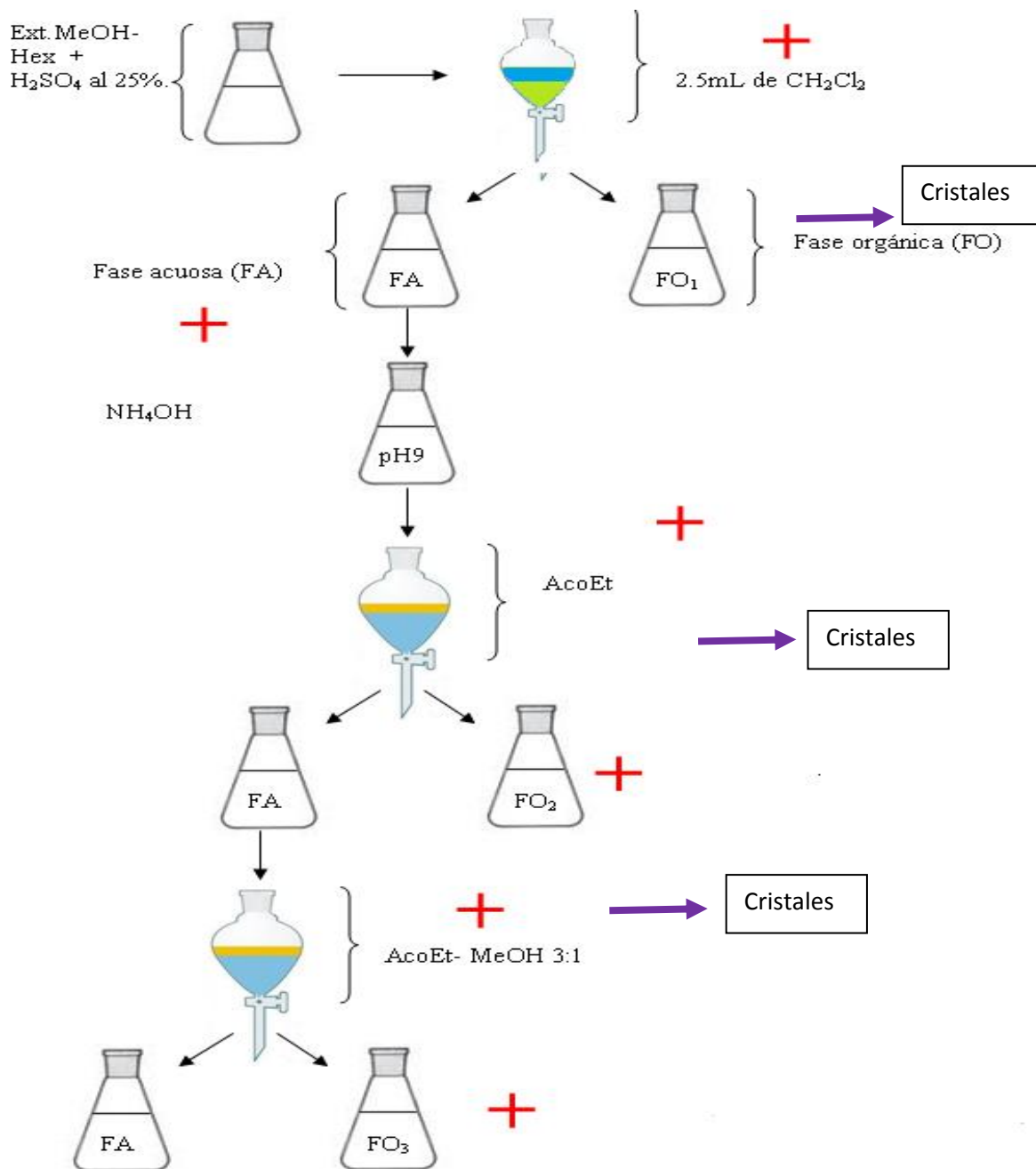


Figura 8. Extracción de ácidos aristolóquicos por el método 2.

### 7.3.1.2 FRACCIONAMIENTO PLACA PREPARATIVA

Se aplicaron 184 mg del extracto de MeOH en una placa preparativa de 20 x 20 cm y un grosor de 2 mm DG-Fertigplatten Sil G-200 UV<sub>254</sub>, se eluyó 2 veces con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH 8:2 preparado previamente y se observó a luz visible, UV onda corta, UV onda larga y 1 cm del extremo derecho de la placa se reveló con reactivo de Márquis. Esta observación nos permitió determinar 6 bandas, para separarlas de la placa preparativa.

Los compuestos de cada fracción se recuperaron eluyéndolas en MeOH: AcOEt 1:1 a vacío y filtrándolas por vacío en un kitasato. Una vez recuperadas se realizaron pruebas de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, con el equipo Bruker Avance III con una frecuencia de 300MHz, con disolventes CDCl<sub>3</sub> y CD<sub>3</sub>OD. Los resultados obtenidos se analizaron mediante el software Mestre Nova versión 8.0.2.

## 7.4 ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Se realizó el modelo antiinflamatorio por TPA y MPO en el laboratorio de pruebas biológicas del Instituto de Química de la UNAM, a cargo del M.C. Antonio Nieto. Y el modelo antiinflamatorio de carragenina en pata de ratón se realizó en el laboratorio de Fito farmacología a cargo del Dr. Gil Magos.

### 7.4.1 EFECTO ANTIINFLAMATORIO EN EL MODELO DE TPA

Este experimento contó con el permiso del comité de bioética CICUAL-IQ-004-17. El método consiste en pesar y anestesiarse a los ratones de la cepa CD1 con pentobarbital aplicado por vía intraperitoneal. Posteriormente en la oreja derecha se aplicó 10  $\mu\text{L}$  de una concentración de 2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de 13-acetato de 12-tetradecanoilforbol (TPA) con una jeringa de HPLC y 20  $\mu\text{L}$  del de la muestra a analizar: los extractos Hex y MeOH a 1 mg, las FO1,2 y 3 del método de fraccionamiento 2 a 0.31 mg, el ácido aristolóquico 1 a 3.1 mg y el ácido palmítico a una concentración de 0.031, 0.1, 0.31, 1 y 3.1 mg; como control positivo se utilizó indometacina a 0.31 mg. En la oreja izquierda se aplican 10  $\mu\text{L}$  de etanol y 20  $\mu\text{L}$  del vehículo. Para el control negativo se aplica en la oreja derecha 10  $\mu\text{L}$  de TPA y 20  $\mu\text{L}$  del vehículo y la oreja izquierda de la misma forma ya descrita (Figura 3). Los grupos ocupados fueron: para los extractos consistieron en una  $n=3$  y para los grupos de las fracciones con una  $n=4$ .

Después de 4 horas, que es cuando el TPA causa su máxima inflamación, los ratones se sacrifican por intoxicación con dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), se les cortan los lóbulos de las orejas (con un sacabocados), se colocan en tubos Eppendor y se pesa la diferencia de los tubos (Figura 9). Se realizó un análisis estadístico ANOVA de una vía y se realizó la prueba *post hoc* Tukey con ayuda del programa SPSS 19 (Bradley, P. P. *et al* 1982; Recio, M. C. *et al*, 2000; Suzuki, K. *et al* 1983)

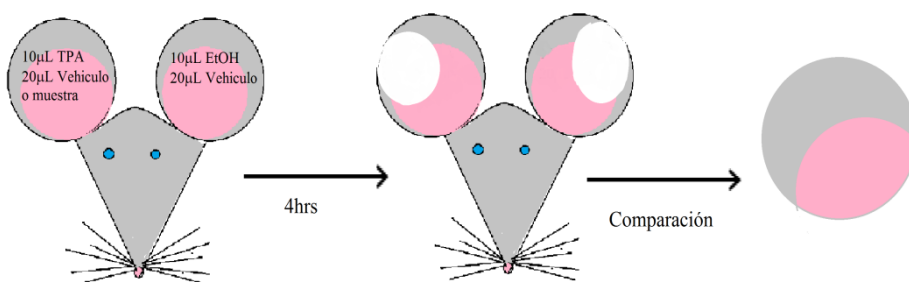


Figura 9. Modelo de TPA

## 7.4.2 ACTIVIDAD DE LA ENZIMA MIELOPEROXIDASA

La actividad de la enzima mieloperoxidasa (MPO) se realizó siguiendo el método de TMB (3,3', 5,5'-tetrametilbenzidina), según los protocolos de Bradley, P. P. *et al* 1982 y Suzuki, K. *et al*. 1983.

Esta técnica consiste en congelar el lóbulo de la oreja (recuperada del modelo de TPA) con hielo seco (sin agregar ninguna solución) y romper la muestra con el pistilo de teflón hasta que se descongele y rompa el tejido. Se agrega 1 mL de HTBA (bromuro de hexadeciltrimilamonio) (0.5% frío y se homogeniza por 30 segundos. Posteriormente se congela y descongela 2 veces y la tercera vez se zonifica 20 segundos (Apéndice 12.4).

La muestra una vez zonificada se centrifuga por 10 min a 12,000 rpm a 4 °C, de esta muestra se toman por cuadruplicado 10 µL del sobrenadante y se colocan en una placa de 96 pozos. A los pozos A y H se le agregan 200 µL de PBS (buffer de fosfatos) 80mM a pH de 5.4, y en los pozos de B a G se agregan 180 µL de PBS en las mismas condiciones. La placa de 96 pozos se calienta y mantiene a 37 °C, se le agrega posteriormente 20 µL de peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a 0.017 % a los pozos B a G.

Para iniciar la reacción se inicia adicionando 20 µL de TBM 18.4 mM disuelto en DMF (dimetilformamida) 50 % e incubarlo por 5 minutos a 37 °C con agitación suave. La reacción se detiene agregando 20µL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a 2 M, se realiza la medición de densidad óptica a 450 nm (Apéndice 12.4).

## 7.4.3 ACTIVIDAD INFLAMATORIA EN EL MODELO DE CARRAGENINA

Para realizar la actividad inflamatoria se utilizó la carragenina λ de acuerdo con el protocolo de Morris, C. (2003), utilizada para ocasionar inflamación en pata de ratón de cepa CD1. Su preparación consistió en disolver 10 mg en 1 mL de agua destilada (pH7) al 5 % con DMSO. Se utilizó el extracto MeOH a 1 mg, 10 mg y 100 mg y el ácido aristolóquico 1 como control positivo a 1 mg disuelto en las mismas concentraciones que la carragenina.

Basándose en la metodología de Posadas, I. *et al*. (2004), se utilizaron ratones de 25-30 g de la raza CD4, los grupos de 4 ratones se formaron de manera aleatoria. La administración se realizó de manera subplantar con jeringas de HPLC. Se les administro 50 µL de carragenina y

10  $\mu\text{L}$  del extracto o ácido aristolóquico o agua en el caso del control negativo, en la pata derecha. El control negativo de cada animal se llevó a cabo en la pata izquierda, en la que se le administro 60  $\mu\text{L}$  de agua destilada. La medición se realizó a las 24 horas con un vernier, en base al método utilizado por Sarkhel, S. (2015) (Figura 10).

Para la administración oral, se realizó bajo los mismos estándares. Los extractos se disolvieron a 100, 31 y 10 mg/mL; y como control positivo la indometacina 1 mg/mL de agua destilada por 1 Kg. La medición se realizó con el vernier a las 24 horas.

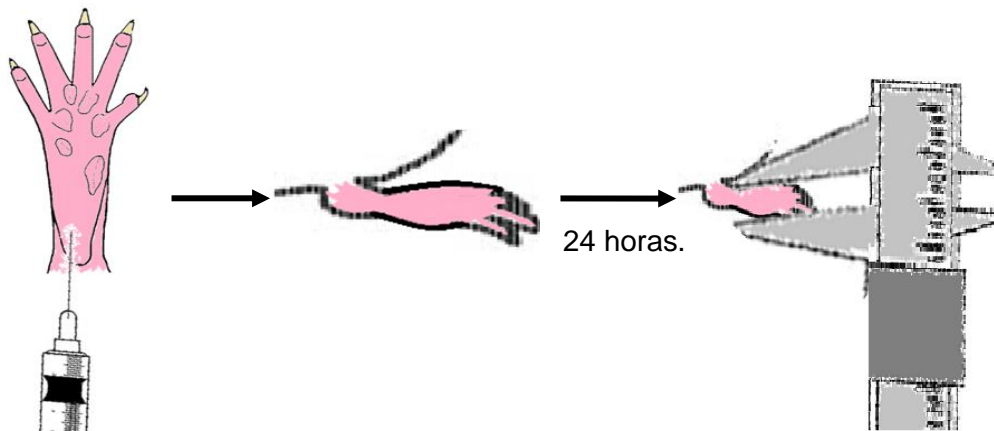


Figura 10. Administración y medición con vernier en el modelo antiinflamatorio de carragenina en pata de ratón.

## 8 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1 ESTUDIO ETNOBOTÁNICO

#### 8.1.1 ETNOBOTÁNICA DEL GÉNERO *ARISTOLOCHIA* EN MÉXICO

En la revisión etnobotánica del género *Aristolochia* (Apéndice 12.1), se encontró que es un género usado con fines ornamentales y médicos. Ampliamente utilizado en Europa: España (3 especies), Francia e Italia (1 especie); Asia: India (1 especie); y como se observa en la Figura 11, también se utiliza en América: Estados Unidos (3 especies), México (61 especies, 94% de las especies presentes en el país), así como en Centro y Sur América (Figura 11).

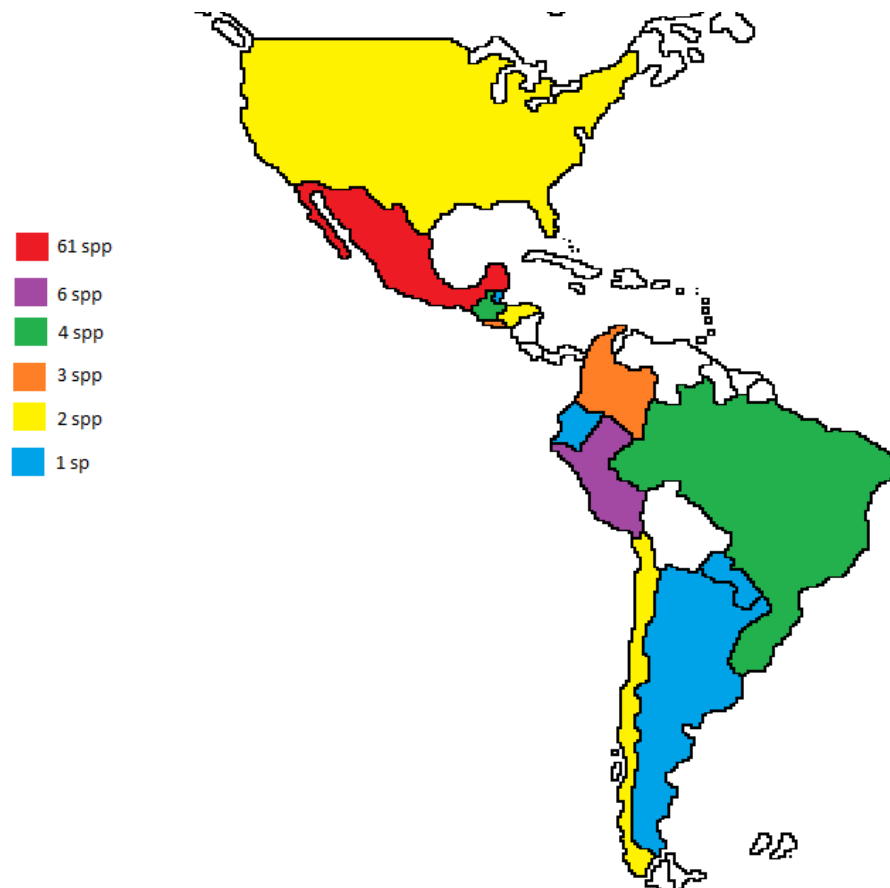


Figura 11. Distribución de especies del género *Aristolochia* en América.

En México, las especies pertenecientes al género *Aristolochia* se utilizan en todos los estados de la república (Figura 12), a excepción de Querétaro y Tlaxcala. Los estados que utilizan más estas especies son: Oaxaca (19 especies), Guerrero (17 especies), Morelos y Veracruz (15 especies). El resto de los estados menos de 15 de estas especies, entre los que destacan los estados de Baja California, Zacatecas, Aguascalientes, Nuevo León, Tamaulipas y Campeche donde utiliza 1 especie.

Cabe mencionar que 3 especies no reportan localidad geográfica (*A. birostris*, *A. karwinskii* y *A. valentina*), por lo que los resultados mostrados en la Figura 12 pueden ser ligeramente modificados en posteriores estudios.



Figura 12. Número de especies del género *Aristolochia* utilizadas en los estados de la República Mexicana.

En la Figura 13 se describen 10 especies más usadas en el extranjero, entre las que destacan *A. anguicida*, *A. debilis*, *A. grandiflora* y *A. maxima* son las más usadas. Mediante el análisis del Apéndice 12.1, se determinó que 6 de estas especies se encuentran en Perú, siendo el país con más reportes.

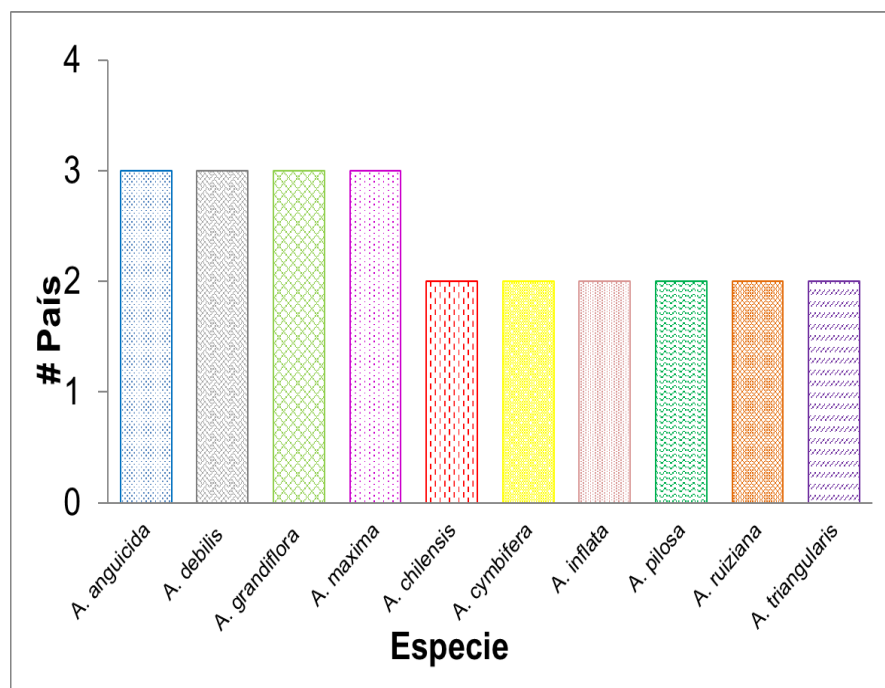


Figura 13. Especies del género *Aristolochia* usadas en el extranjero.

En el territorio mexicano, la especie con mayor distribución es *A. watsonii* en 12 estados, seguida de *A. inflata*, *A. littoralis* y *A. taliscana* en 10 estados, *A. grandiflora* en 9 estados, en la Figura 14 se observa la presencia de otras especies que son usadas en varios estados. Sin embargo, en el Apéndice 12.1 se reportan otras 45 especies tienen una baja distribución entre 1-3 estados y que no se reportan en esta figura.

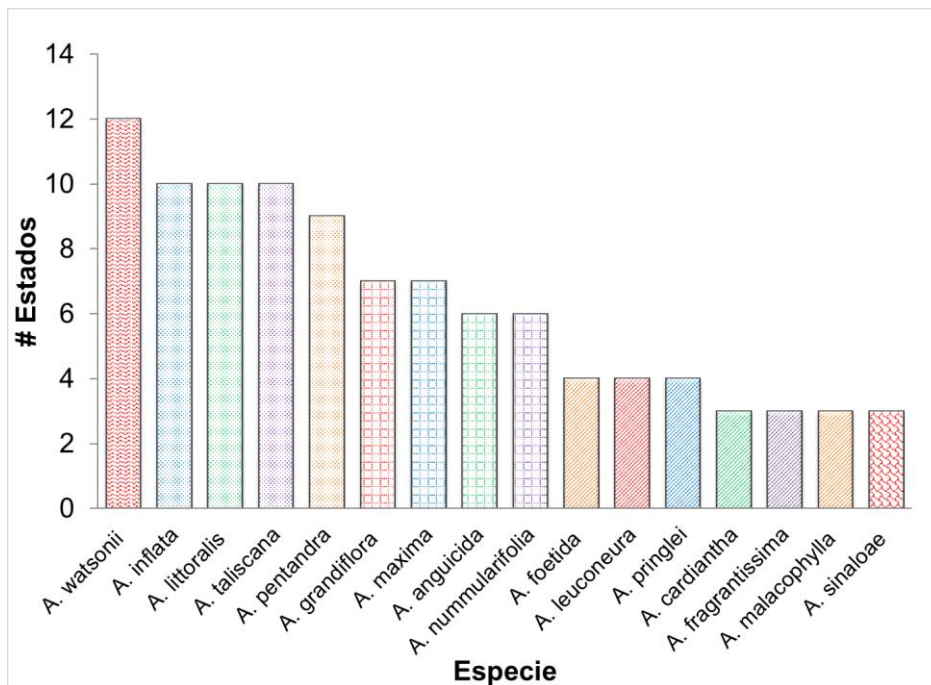


Figura 14. Especies del género *Aristolochia* más utilizadas en México.

Los resultados referentes a los usos etnobotánicos que se muestran a continuación incluyen las especies extranjeras y nacionales, analizando: 1) el número de especies dado un uso específico; 2) la especie que presenta mayores usos etnobotánicos; y 3) órganos vegetales con mayor uso en el género.

En la Figura 15 se observa que la mayoría de las especies son usadas para tratar enfermedades del aparato digestivo (39 especies), seguido del uso alexitére (32 especies); en tercer lugar, se observa que se utilizan para enfermedades del sistema oseo muscular y reproductivo (22 especies). En esta figura también se observan otros usos menos frecuentes de las especies de este género, entre los que destaca su uso tóxico. Cabe mencionar que 33 especies son reportadas para el tratamiento de diversas enfermedades.

Otro uso que se incluyen en esta figura es el uso para enfermedades de filiación cultural (12 especies). Cabe mencionar que en “otros” se encuentra incluida la categoría ornamental, juguete o cuerda (10 especies).

Existen 17 especies que no están incluidas en esta figura ya que no se encontraron reportes del uso que poseen, sin embargo, si son utilizadas ya que tienen un nombre común.

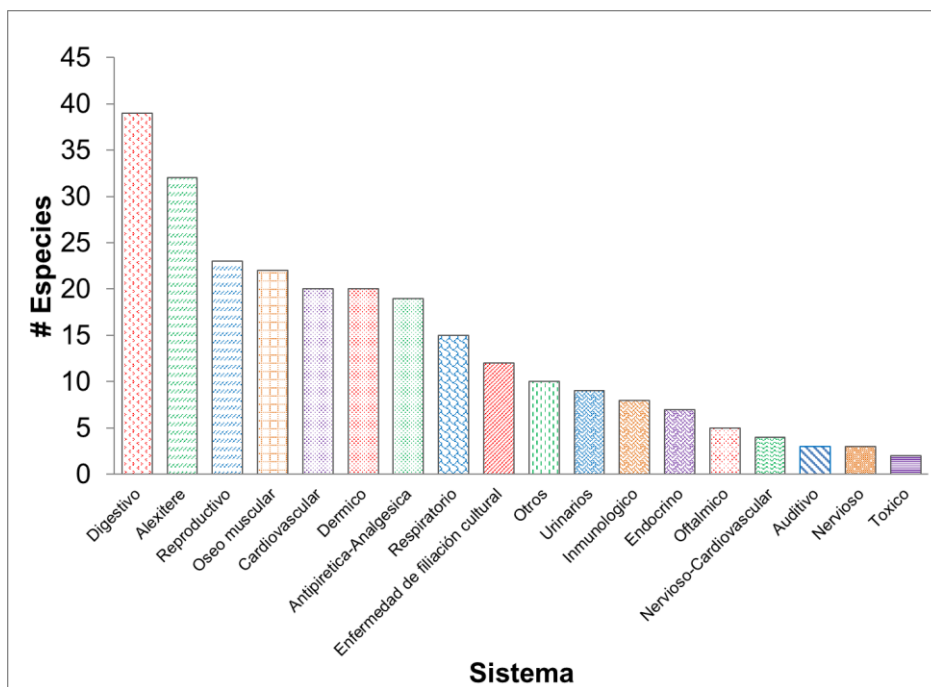


Figura 15. Usos del género *Aristolochia* en México.

El uso de la mayoría de las especies no es único, es decir, se les atribuyen diversos usos. Las especies con mayor número de usos son: *A. anguicida* (15 usos), *A. grandiflora* y *A. inflata* (14

usos). Otras especies tienen menos de 14 usos reportados, sin embargo 52 especies no están incluidas en esta figura ya que tienen de 1 a 4 usos (Figura 16).

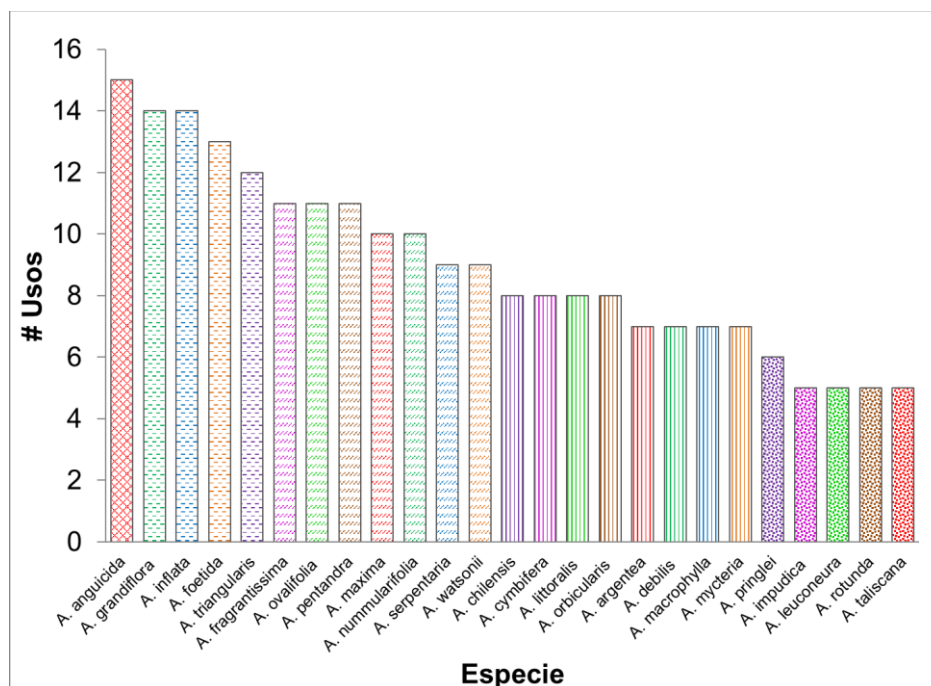


Figura 16. Número de usos de las especies del género *Aristolochia* en México

Se analizaron las especies de este género de acuerdo con al órgano de la planta utilizado (Figura 17). Observamos que la raíz es la parte más usada en la medicina tradicional (59 especies), esto puede deberse a que los ácidos aristolóquico característicos del género y responsables de actividad inhibitoria de PLA<sub>2</sub>, antihemorrágica y antiinflamatoria, se encuentran principalmente en la raíz y con menor frecuencia en el rizoma (Schütte, H., *et al* 1967). Otro órgano de estas especies que es frecuentemente utilizado, son las hojas que también se ha comprobado que presentan ácidos aristolóquicos (Claro, R. *et al.* 2007).

El resto de los órganos mostrados en la Figura 17 son menos utilizados, entre ellos se encuentran el uso del fruto y de toda la parte aérea de la planta. Si bien este último incluyen a las hojas, no se especifican los órganos en los reportes por lo que fueron incluidos en otra categoría. Cabe mencionar que para 31 especies no reportan la parte de la planta utilizada, por lo que posteriores estudios podría ser modificar estos resultados.

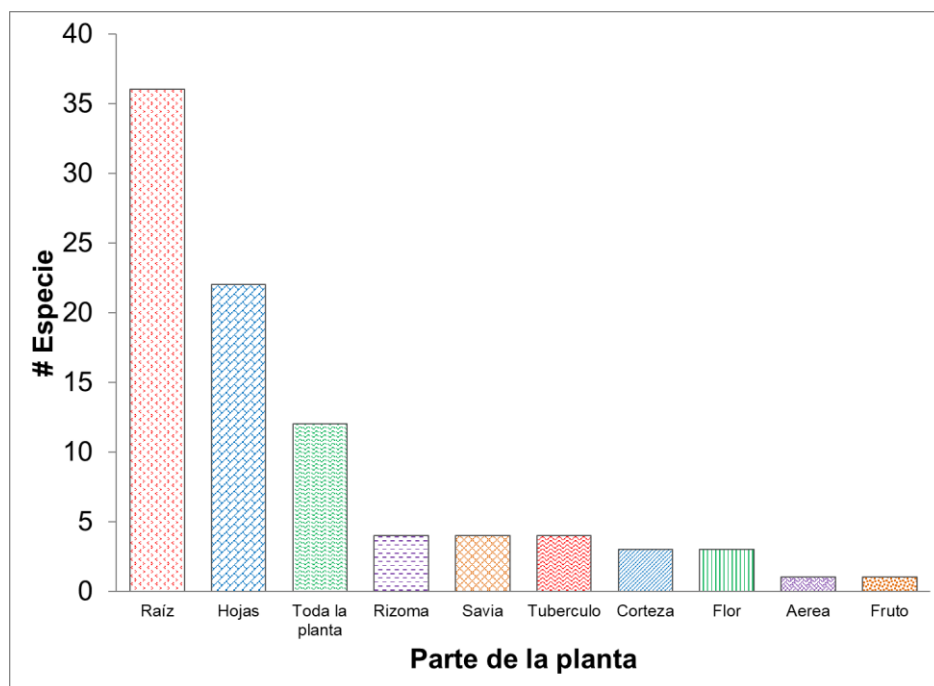


Figura 17. Organos de la planta utilizados en el género *Aristolochia*.

### 8.1.2 ETNOBOTÁNICA DE *Aristolochia grandiflora*

La revisión etnobotánica del género *Aristolochia* permitió determinar que una de las especies más importantes es *Aristolochia grandiflora*, la cual se utiliza en el extranjero (Brasil, Colombia y El Salvador), y en 7 estados de la República Mexicana (Figura 18)



Figura 18. Estados donde se utiliza de *Aristolochia grandiflora*.

Esta especie se utiliza en México para contrarrestar el veneno de animales ponzoñosos (alexitére); como antipirético-analgésico; para el tratamiento de enfermedades cardiovascular, dérmicas, digestivas, endocrinas, inmunológicas, reproductivas, nervioso-cardiovasculares y óseo-musculares. La preparación y administración de esta especie varia de acuerdo a la enfermedad que se desea tratar (Apéndice 12.1).

Se decidió estudiar esta especie por su amplia distribución en el país, su uso alexitére, principalmente en mordeduras de serpientes. Como se mencionó anteriormente uno de los efectos principales en la mordedura de serpiente es el efecto inflamatorio (Prada, E. & Murillo, J. 2009). Este efecto también se puede tener en enfermedades óseo-musculares, como en el reumatismo y dolor muscular (Rang, H. *et al* 2015). Con base en estos antecedentes sugerimos la actividad antiinflamatoria de *A. grandiflora*, dicha actividad podría deberse a ácidos grasos y/o ácidos aristolóquicos característicos del género y que son sintetizados en la raíz.

## 8.2 FITOQUÍMICA

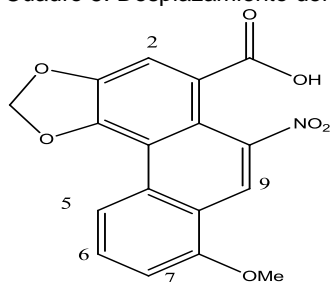
### 8.2.1 ESTANDARIZACIÓN DEL ÁCIDO ARISTOLÓQUICO

Para comprobar la presencia del ácido aristolóquico en la planta colectada mediante diferentes métodos; en primer lugar, se adquirió una muestra auténtica del ácido aristolóquico 1. Se analizó por CCF 2.1 mg en 0.5 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH 9:1, observando que el ácido aristolóquico tiene coloración amarilla en luz visible, naranja en UV onda corta, negra en UV onda larga y café (oxidación) por reactivo de sulfato sérico al 1 % en ácido sulfúrico 2N y Márquis, y un RF de 0.83. También se reveló con el reactivo de Draggendorff, observando que no presentó reacción colorimétrica.

Se analizó el ácido aristolóquico por CG/MS obteniendo un tiempo de retención de 27.46 minutos, al analizarlo por EM-IE no se obtuvo el M<sup>+</sup> pero el patrón de fragmentación de 294 m/z corresponde a M<sup>+</sup>+1-NO (Figura 19), similar al reportado por Eckhardt, G. *et al*, 1983 (Figura 20). Para corroborar estos datos, se analizó por EM-DART (Figura 21), obteniendo el patrón de fragmentación de 296m/z.

También se comprobó la identidad mediante RMNH<sup>+</sup> (Figura 22), obteniendo así su espectro, el cual se comparó con los resultados obtenidos por Hanna, G. M., (2004) (Cuadro 5, Figura 23) observando ligeras variaciones en los desplazamientos, los cuales pueden deberse a que la autora utilizó DMSO deuterado como disolvente mientras que, para el presente estudio, se utilizó cloroformo deuterado.

Cuadro 5. Desplazamiento del ácido aristolóquico 1 (Sigma-Aldrich) en RMN<sup>1</sup>H



Asignación	Desplazamiento Químico Reportado (Hanna, G.M. 2004)	Desplazamiento Químico Experimental
H-5	8.66 dd (J= 8.0, 1.8 Hz)	8.70 s (J=8.5 Hz)
H-9	8.59 s	8.79 d
H-6	7.86 td (J= 8.0, 1.8 Hz)	7.72 td (J=7.71 Hz)
H-2	7.82 s	7.83 s
H-7	7.38 dd (J= 8.0, 1.8 Hz)	7.05 dd (J= 8.0 Hz)
OCH <sub>2</sub> O	6.50 s	6.37 s
OCH <sub>3</sub>	4.07 s	4.06 s

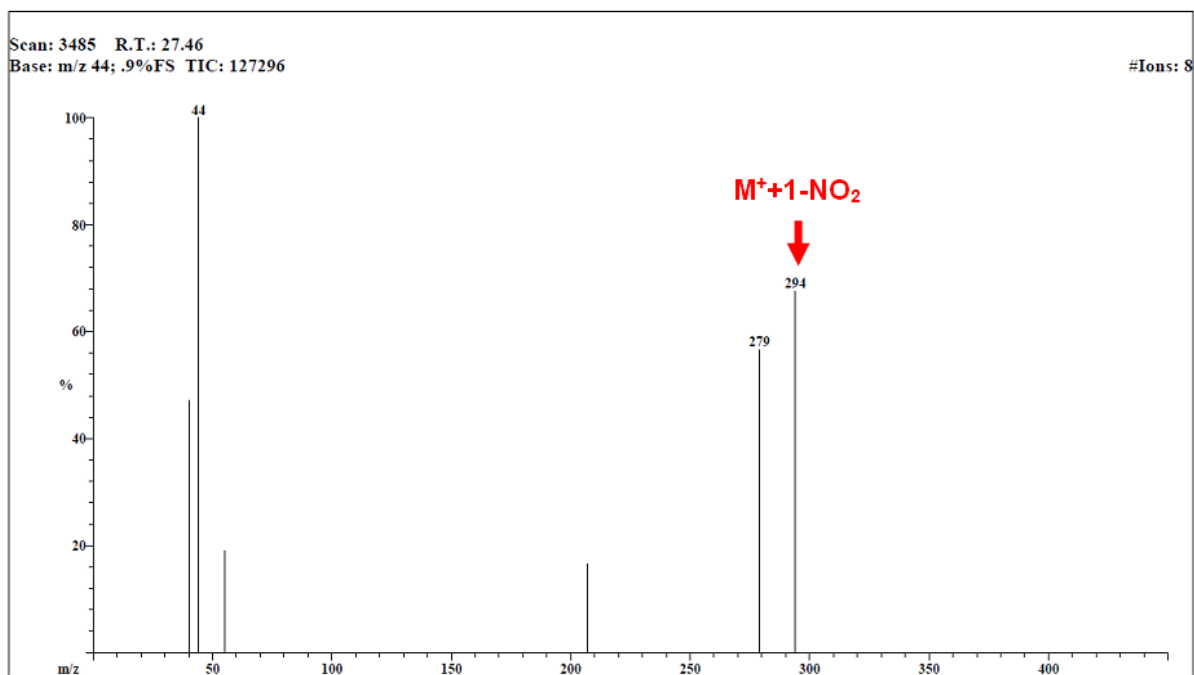


Figura 19. Patrón de fragmentación del ácido aristolóquico por IE

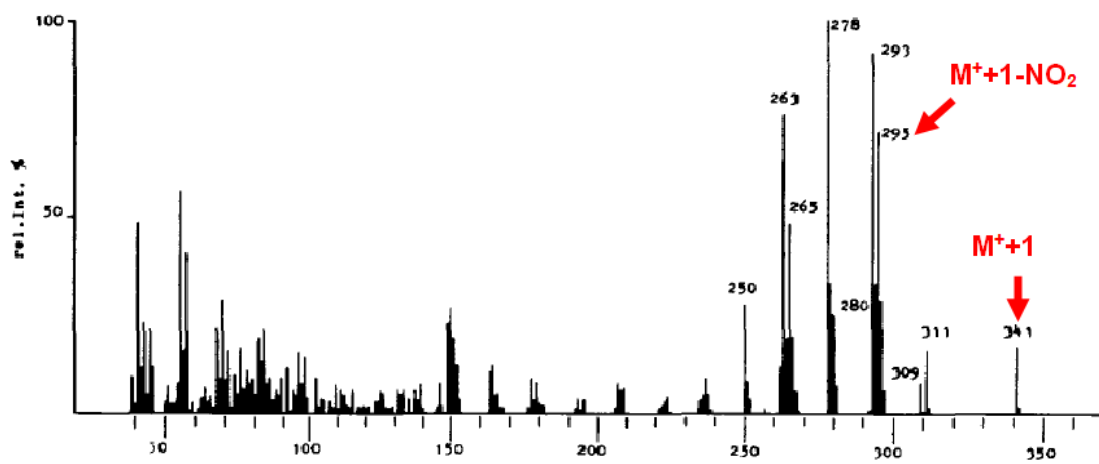


Figura 20. Patrón de fragmentación del ácido aristolóquico reportado por Eckhardt, G. *et al* 1983.

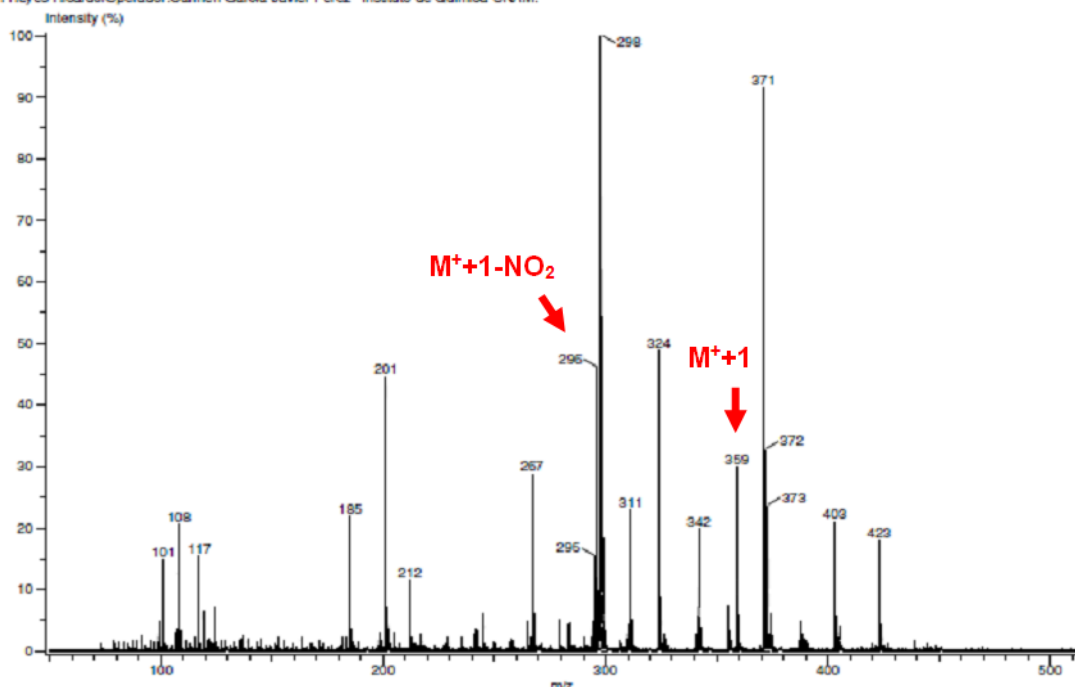


Figura 21. Patrón de fragmentación del ácido aristolóquico por DART

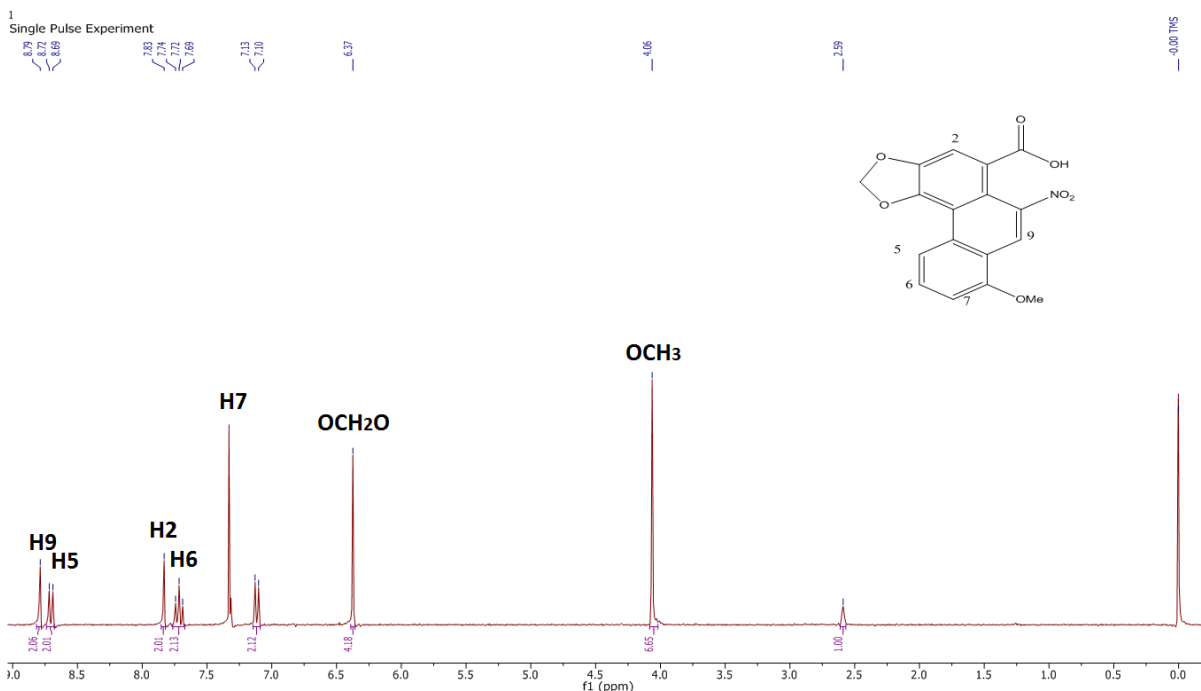


Figura 22. RMN H+ del ácido aristolóquico.

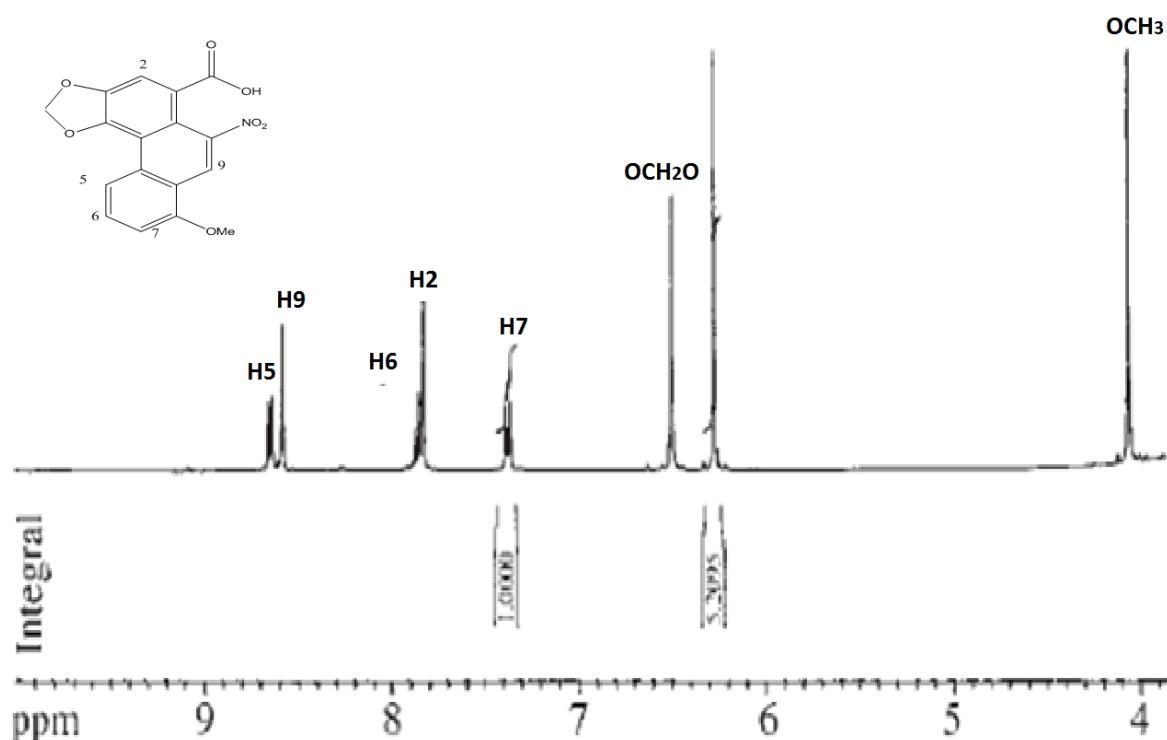


Figura 23. RMNH<sup>+</sup> del ácido aristolóquico reportado por Hanna, G. M., (2004)

## 8.2.2 EXTRACCIÓN

Los rendimientos de los extractos obtenidos por maceración, una vez eliminados los disolventes se muestran en el cuadro 6, el mayor rendimiento se obtuvo con la extracción de MeOH.

Cuadro 6. Rendimientos de *Aristolochia grandiflora*. El extracto MeOH incluye el extracto Hex: MeOH.

Especie	Peso fresco	Peso seco	Extracto	Peso	% Rendimiento de acuerdo el peso seco
<i>Aristolochia grandiflora</i>	4 Kg	538.76 g	Hexano	2.1 g	0.0039
			MeOH	67.21 g	0.1247

Los extractos obtenidos se analizaron por CCF, disolviendo 0.050 g en 0.5 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y eluyendo 3 µL en la placa, para el control positivo (ácido aristolóquico 1) se disolvió 2.1 mg en 0.25 mL. Se utilizó CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH 9:1 ya que con esta fase móvil se observan mejor los compuestos de cada extracto. El extracto de hexano se observa que los compuestos que posee son poco polares, posiblemente mayoritariamente grasas y clorofilas. Mientras que los extracto hexano: MeOH y MeOH son muy similares en su composición, pero varían en la

concentración en la que se encuentran por lo que se juntaron estos extractos (nombrándolos como MeOH).

Se observa que los Ext-hexano: MeOH y Ext- MeOH (Figura 24) presentan un compuesto con mediana polaridad que al compararlo con el control positivo presenta similitudes tanto en UV onda larga y corta, así como al ser revelado con solución de sulfato sérico al 1 % en ácido sulfúrico 2N (Figura 24, 5) y reactivo de Márquis (Figura 24, 4). Su RF fue similar al control positivo, sin embargo, no es una evidencia contundente de la presencia de ácido aristolóquico.

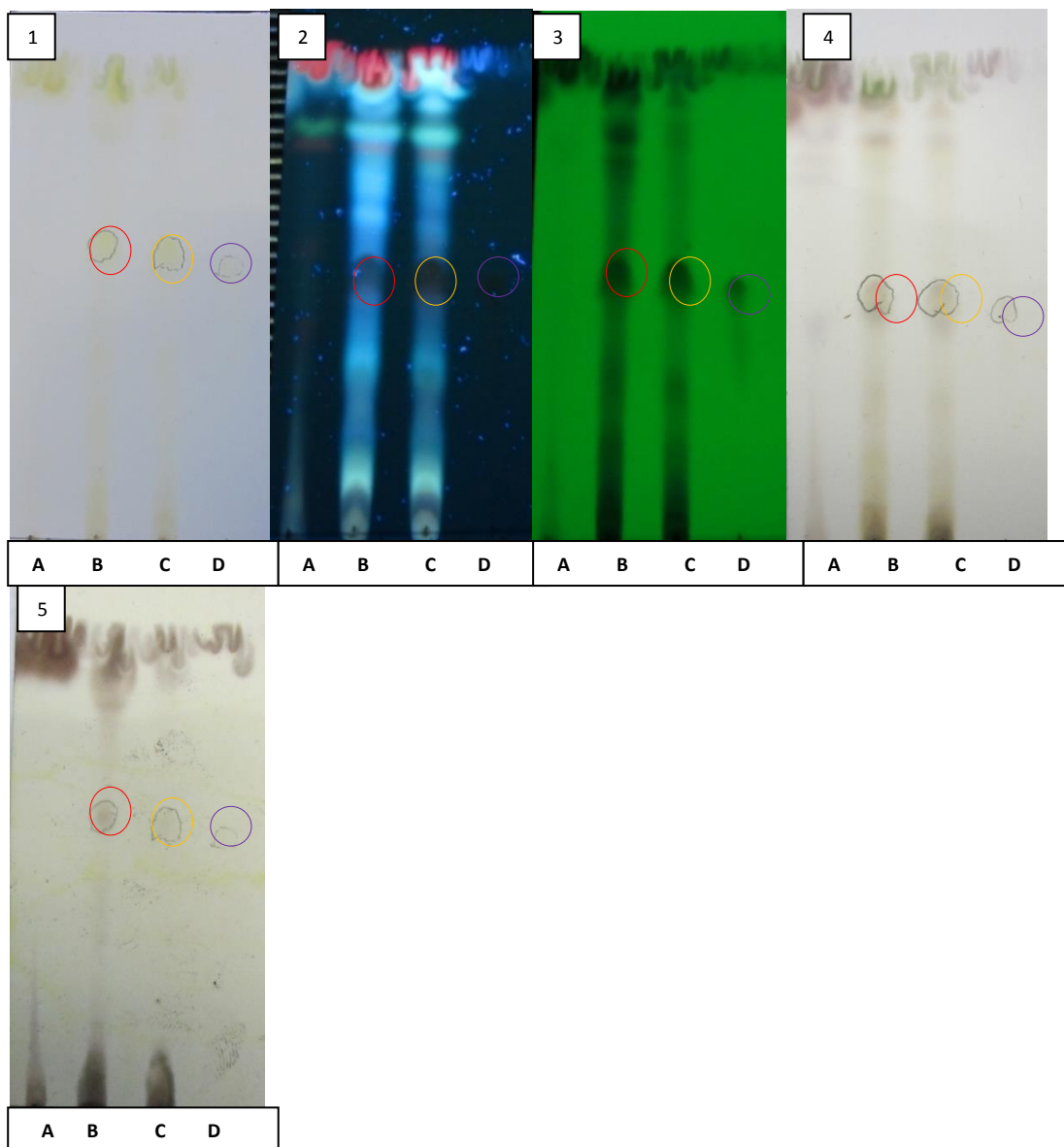


Figura 24. CCF con sistema de elución  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH 90:10 de los extractos y ácido aristolóquico 1. Extracto de hexano (A), Extracto de MeOH-Hex (B), Extracto de MeOH (C) y control positivo AA1 (D). Los extractos fueron observados a luz visible (1) UV onda larga (365nm), (2) UV onda corta (254nm) (3), reactivo de Márquis (4) y solución de sulfato sérico al 1 % en ácido sulfúrico 2N (5). El Ext-MeOH-Hex presentó un compuesto con una RF de 0.6 (red circle), el Ext-MeOH un compuesto con una RF de 0.58 (yellow circle), similares al control positivo que presentó una RF de 0.54 (purple circle).

### 8.2.2.1 EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS NITROGENADOS

Con la finalidad de corroborar cual es el método de fraccionamiento más viable se realizó el cuadro 6, el cual nos permite comparar los rendimientos obtenidos, mediante la utilización del Extracto MeOH.

Cuadro 7. Rendimientos del Extracto de MeOH, de acuerdo con el método de extracción utilizado.

Extracto	Peso utilizado	Método utilizado	Fracción	Peso obtenido	Rendimiento %	Rendimiento total
Extracto MeOH	0.32 g	1	FO1	0.0240g	0.0750	0.0750 <sup>a</sup>
			FO2	0.0188g	0.0587	0.0587 <sup>b</sup>
	0.28 g	2	FO1 sin cristales	0.0410	0.1464	0.3071 <sup>a</sup>
			FO1 cristales	0.0450	0.1607	
			FO2 sin cristales	0.0460	0.1642	0.4356 <sup>b</sup>
			FO2 cristales	0.0760	0.2714	
			FO3 sin cristales	0.0176	0.0628	0.0820
			FO3 cristales	0.0054	0.0192	

Método 1: Con las fracciones obtenidas por este método se realizaron CCF, para tener la misma concentración con la que se realizó los extractos y las fracciones, se disolvió la FO1 en 0.24mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y la FO2 en 0.188 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, se disolvió el extracto original (extracto de MeOH) colocando 0.050 g en 0.5 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; se tomaron 2.1 mg del control positivo y se disolvió en 0.25 mL, de estas disoluciones se tomaron 3 µL. Se utilizó como fase móvil CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 90:10.

En las placas se puede observar que el extracto original presenta un compuesto similar al control positivo, tanto en luz visible, como en UV onda larga y corta, así como al ser revelada con una solución de sulfato sérico al 1 % en ácido sulfúrico 2N (Figura 25, 5) y reactivo de Márquis (Figura 25, 4). Este mismo compuesto se encuentra en la FO2 por lo que se corrobora por este método la presencia de ácido aristolóquico, mientras que la FO1 no lo presenta. La FO1 posee compuestos con fluorescencia rojiza, posiblemente clorofilas y grasas de diferente polaridad.

Las fracciones se analizaron por CG/MS, observando que los principales compuestos presentes en la FO1, son compuestos lipídicos (ácido palmítico y colestá) y estigmasta (Figura 26), mientras que en la FO2 se presentan estigmastán, ácido tiofencarboxílico, ergosta y decano (Figura 27).

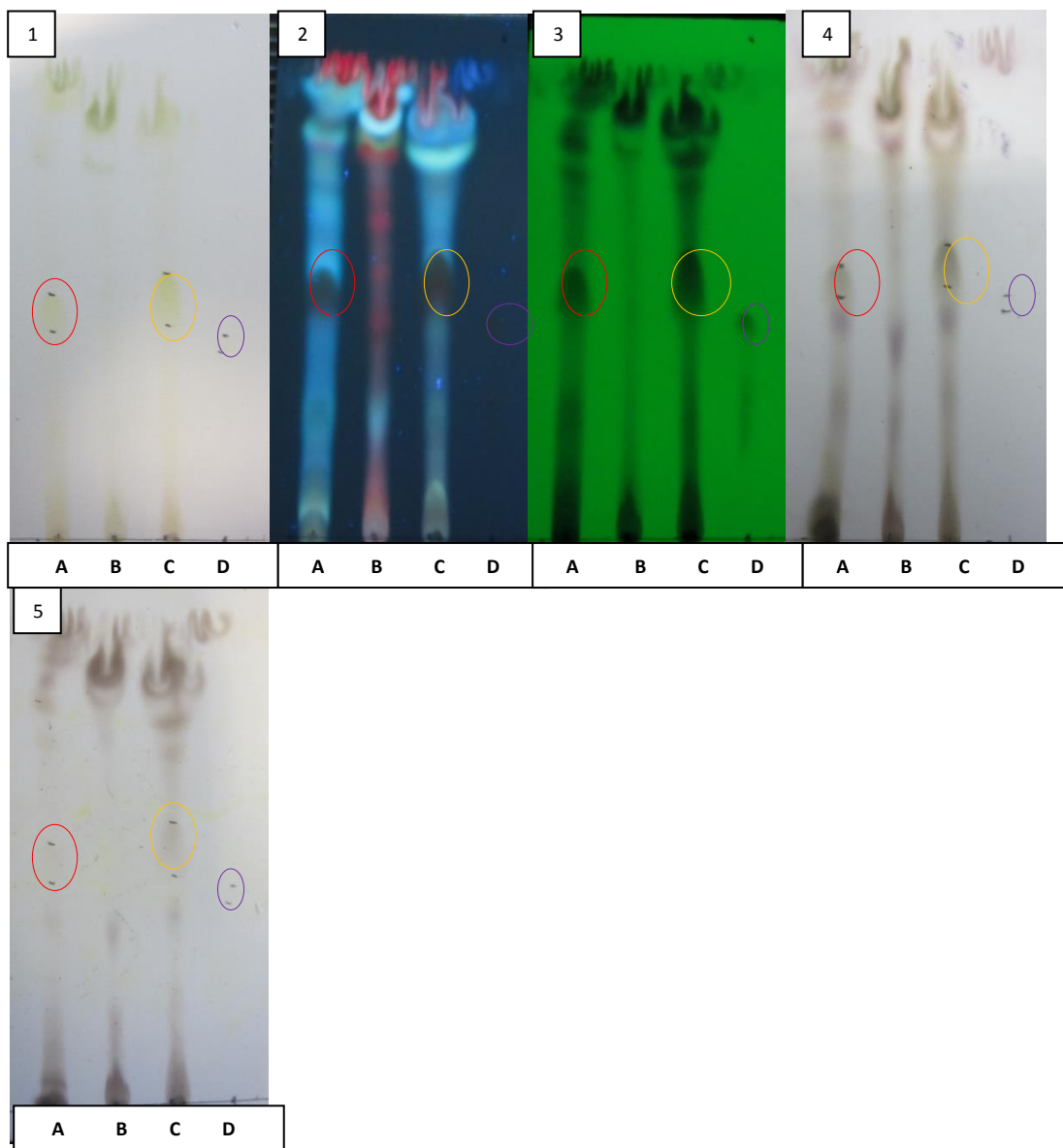


Figura 25CCF con sistema de elución  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH 90:10 de las fracciones del método 1. Extracto de MeOH (A), FO1 (B), FO2(C) y control positivo AA1 (D). Los extractos fueron observados a luz visible (1), UV onda larga (365nm) (2), UV onda corta (254nm) (3), reactivo de Márquis (4) y solución de sulfato sérico al 1 % en ácido sulfúrico 2N (5). El Ext-MeOH presentó un compuesto con una RF de 0.48 (○), la FO2 presentó un compuesto con una RF de 0.52 (○), similares al control positivo que presentó una RF de 0.41 (○)

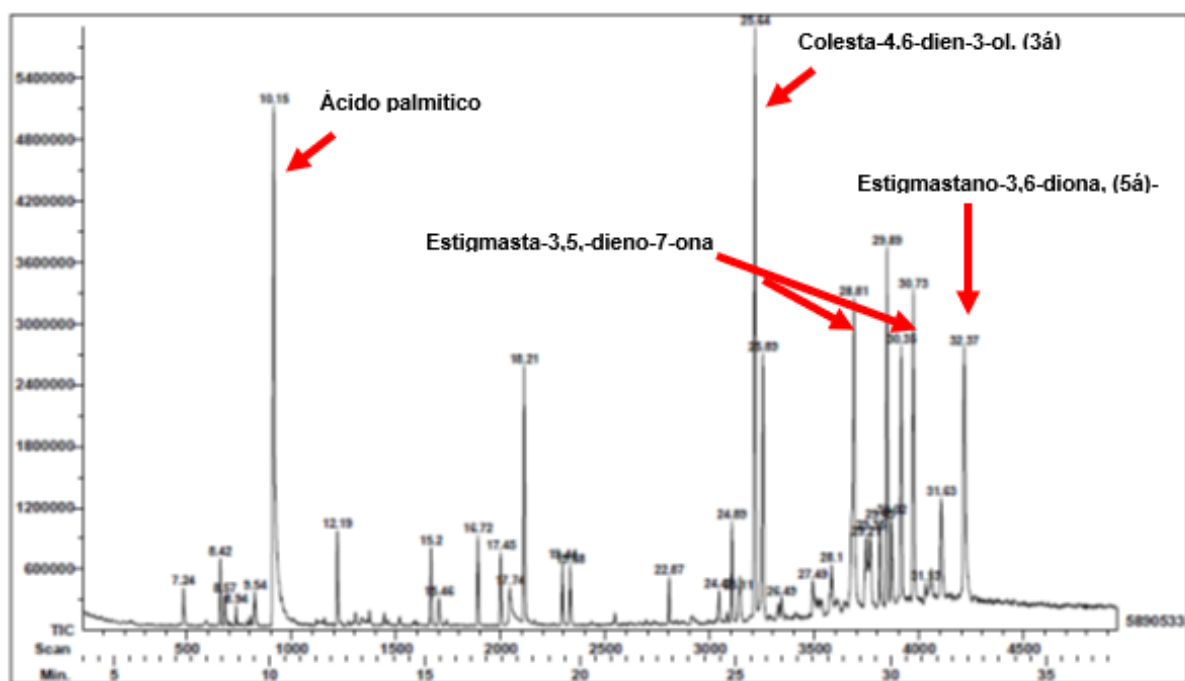


Figura 26. GC/MS de la FO1 de la primera extracción realizada por el método 1. Abundancia: Ácido palmítico, 13.90%; Colesta 4-6-dien-3-ol (3á), 10.90 %; Estigmasta -3,5,-5dien-7-ona, 7.47 % y 6.76 %; Estigmastano-3,6,-diono (5á)-, 5.18 %.

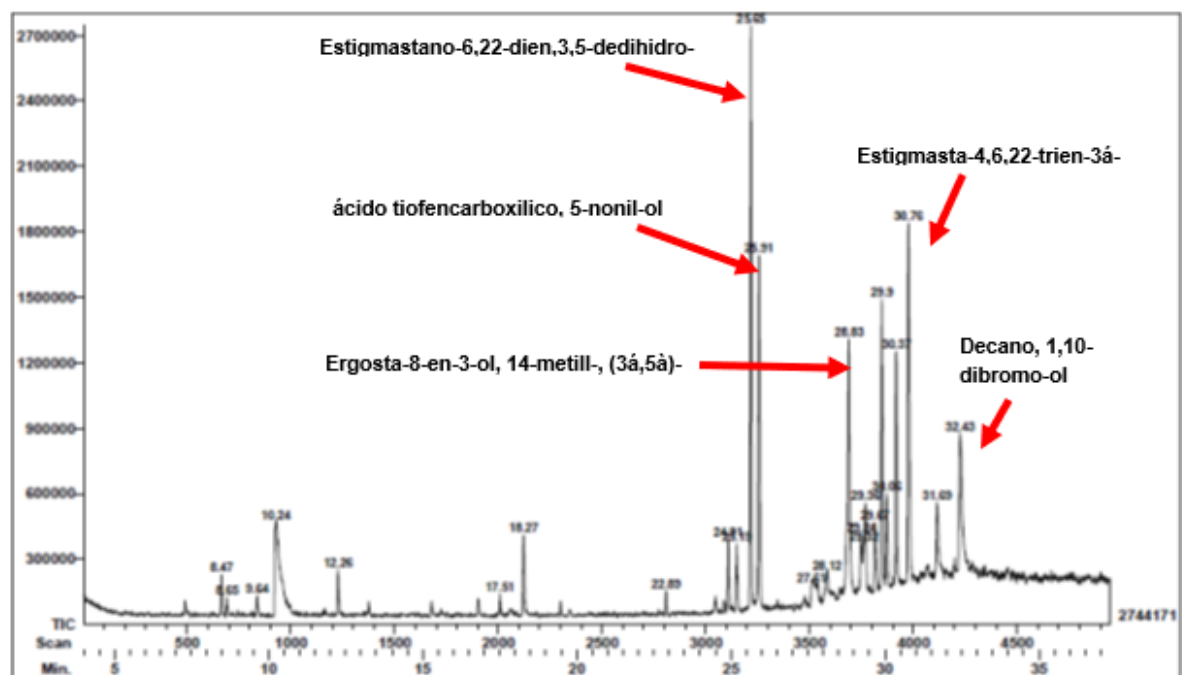


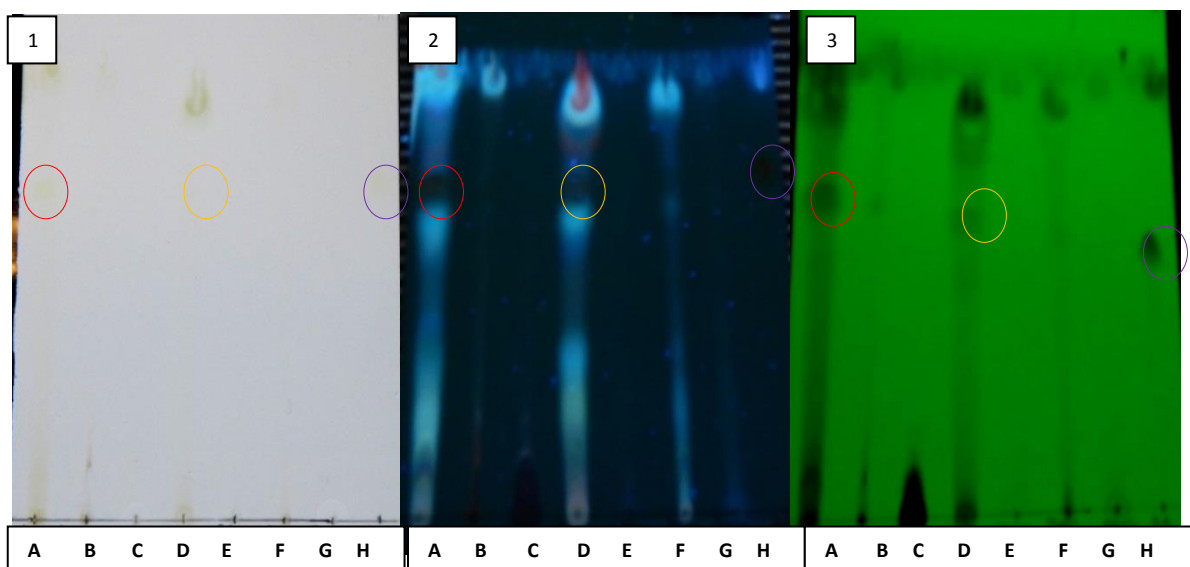
Figura 27. GC/MS de la FO2 de la primera extracción realizada por el método 1. Abundancia: Estigmastano-6,22-dien,3,5-dedihidro-, 13.75 %; 2- ácido tiofencarboxilico, 5-nonil-ol, 10.09 %; Ergosta-8-en-3ol,14metil-(3á,5á), 8.57 %; Estigmasta-4,6,22-trien-3á-ol, 11.96 %; Decane,1, 10-dibromo-ol, 9.27 %

Método 2: Con las fracciones obtenidas por este método se realizaron CCF (Figura 28). Para obtener la misma concentración de cada muestra se disolvió la FO1 sin cristales con 0.041 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , FO2 sin cristales con 0.046 mL de AcOEt y 0.276 mL de MeOH, además se disolvió

el extracto original (Ext-MeOH) colocando 0.050 g en 0.5 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y 2.1 mg del control positivo (ácido aristolóquico) y se disolvió en 0.25 mL. De cada una de las disoluciones se utilizaron 3 µL para realizar la CCF, utilizando como fase móvil CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH 90:10. Los cristales de las FO se disolvieron con agua destilada (FO1c con 0.045 mL, FO2c con 0.076 mL y FO3c con 0.0054 mL respectivamente).

En las placas se puede observar que con UV onda larga y corta, y al ser revelada con la solución de sulfato sérico al 1 % en ácido sulfúrico 2N (Figura 28, 4) y reactivo de Márquis (Figura 28, 5) el extracto MeOH tiene un compuesto similar al ácido aristolóquico 1, este mismo compuesto se puede observar en la FO2 sin cristales, mientras que las demás fracciones no lo presentan, además de presentar un gran número de compuestos desde no polares hasta polares. La FO1 sin cristales presenta compuestos no polares con fluorescencia azul al ser observada, mientras que la FO3 presenta compuestos no polares y polares de fluorescencia azul y amarilla, ambas fracciones al ser observadas a UV onda larga.

De igual forma, las fracciones se analizaron por CG/MS. En este análisis se determinó la presencia de derivados de ácidos grasos: ácido palmítico y colestá, así como estigmastán en la FO2 (Figura 29). En la FO3 (Figura 30), el principal compuesto es el ácido palmítico.



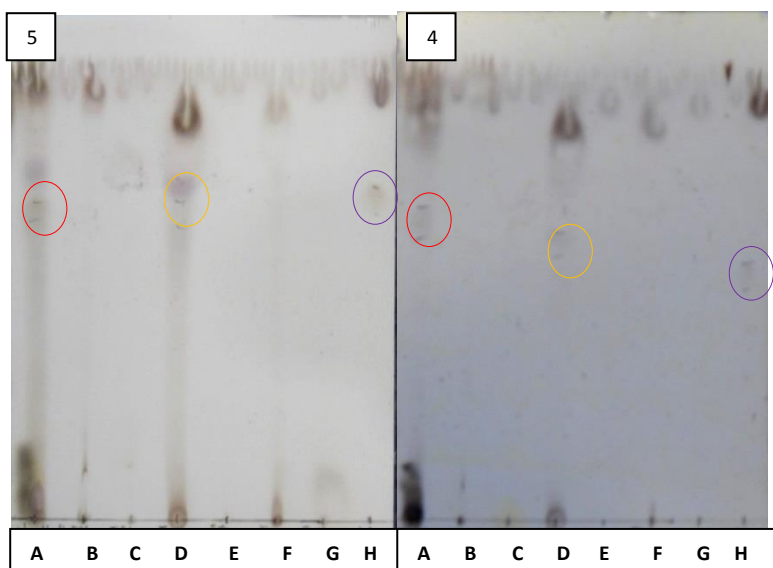


Figura 28. CCF con sistema de elución  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH 90:10 de las fracciones del método 2. Extracto de MeOH (A), FO1 sin cristales (B), FO1 con cristales (C), FO2 sin cristales (D), FO2 con cristales (E), FO3 sin cristales (F), FO3 con cristales (G) y control positivo AA1 (H). Los extractos fueron observados a luz visible (1), UV onda larga (365nm) (2), UV onda corta (254nm) (3), reactivo de Márquis (4) y solución de sulfato sérico al 1 % en ácido sulfúrico 2N (5). El Extracto de MeOH presento un compuesto con una RF de 0.64 (○), la FO2scpresentó un compuesto con una RF de 0.60 (○), similares al control positivo que presento una RF de 0.52 (○).

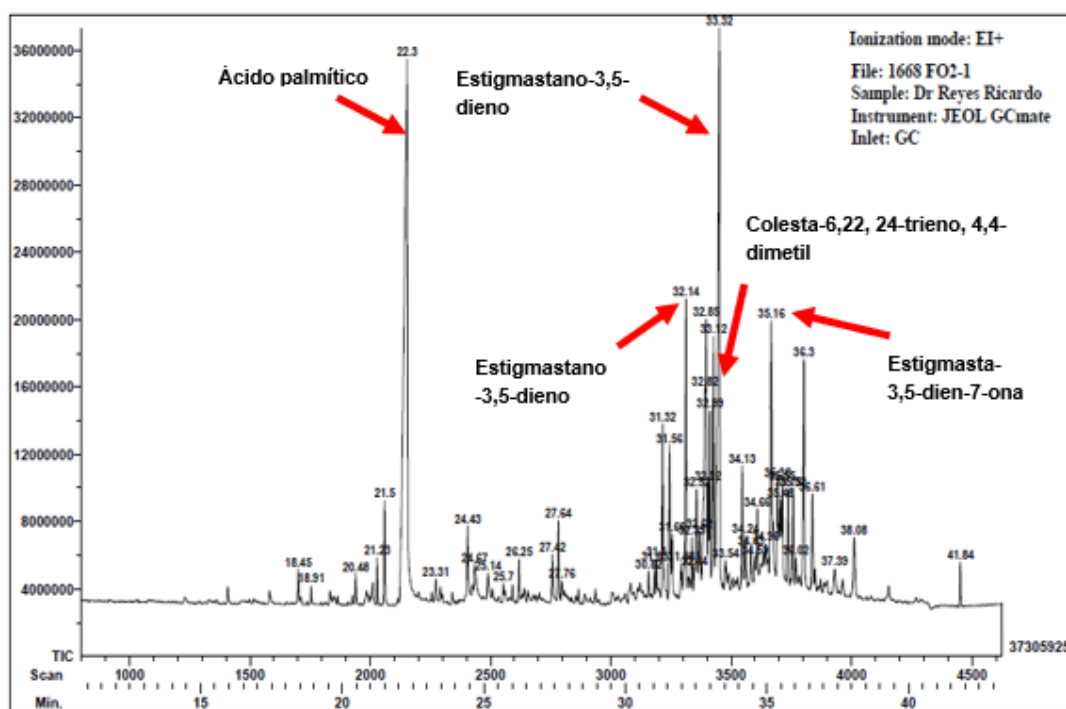


Figura 29. GC/MS de la FO2 sin cristales del método 2. Abundancia: Ácido palmítico, 22.24 %; Estigmastano-3,5-dieno, 4.30 % y 12.05 %; Colesta-6,22,24-triene, 4,4-dimetil, 6.29 %; Estigmastano-3,5-dien-7-ona, 5.16 %

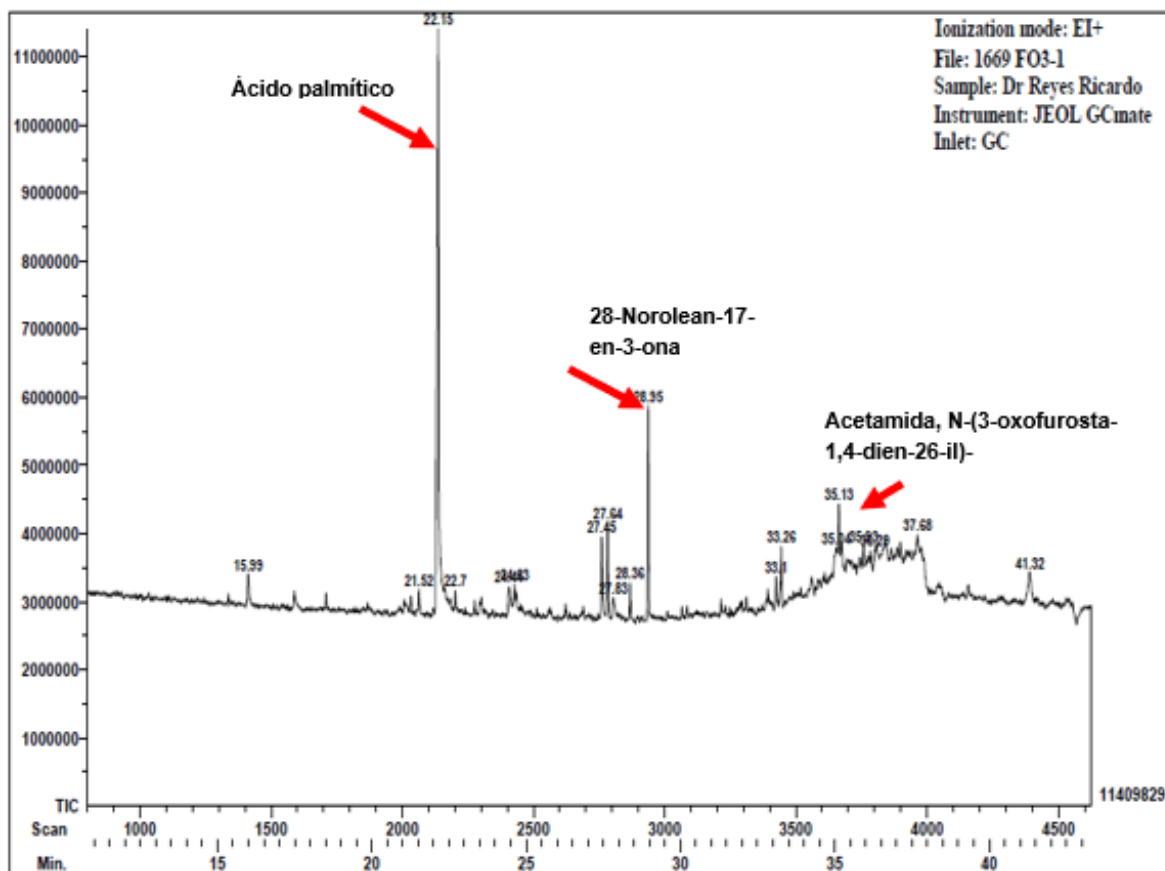


Figura 30. GC/MS de la FO2 sin cristales del método 2. Abundancia: Ácido palmítico, 37.96 %; 28-Norolean-17-en-3-ona, 7.68 %; Acetamida, N-(3-oxofurosta-1,4-dien-26-yl), 8.91 %

Los cristales obtenidos de las FO se analizaron por separado. Se determinó el punto de fusión de la FO1 y FO3 cristales de 120-140 °C y 230-240 °C respectivamente.

Los cristales obtenidos de la FO1 (Figura 31), al compararlo con la base de datos NIST, 2018 (Figura 32) además se les realizó un espectro de infrarrojo, el cual sugiere que sean cristales de oxalato de calcio, ya que presentan similitud en las bandas de absorción a 3493, 1654, 1219 y 855  $\text{cm}^{-1}$ .

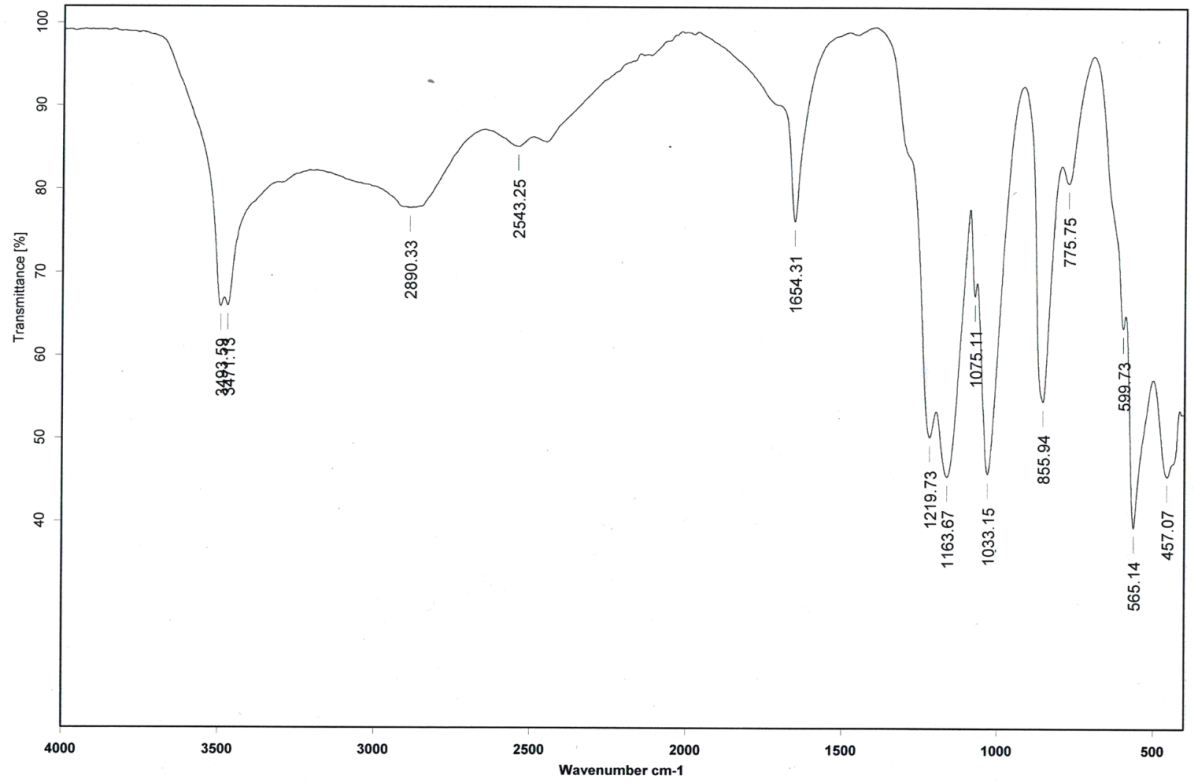


Figura 31. IR de FO1 cristal método 2

Calcium Oxalate

Infrared Spectrum

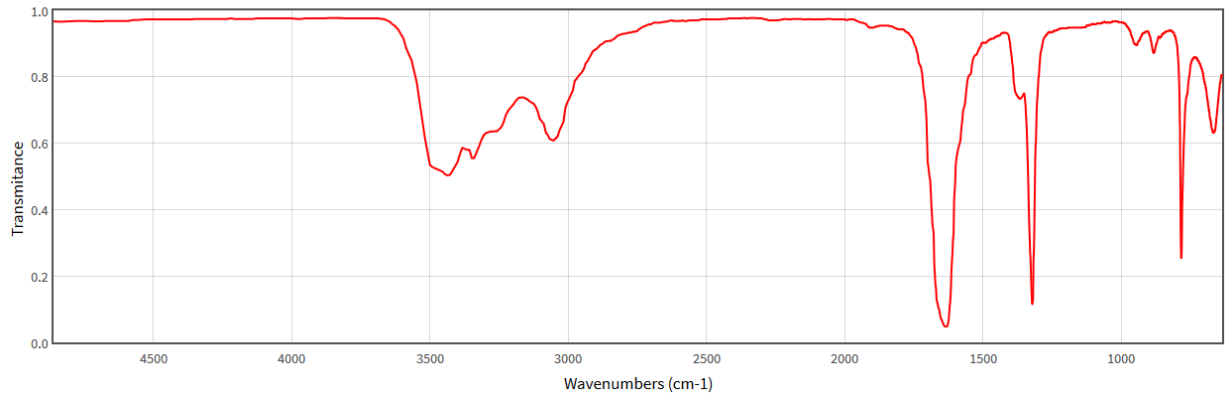


Figura 32. IR de oxalato de calcio (NIST)

### 8.2.2.2 FRACCIONAMIENTO EN PLACA PREPARATIVA

El extracto metanólico se sometió a cromatografía en placa preparativa, una vez eluida se observó con luz visible, UV de onda larga y corta, distinguiendo 6 zonas que se separaron y eluyeron, obteniendo 6 fracciones de la placa preparativa. La fracción 3 reveló con reactivo de Márquis.

Al analizar estas fracciones por RMN, no se encontraron los compuestos característicos del género *Aristolochia*: ácidos aristolóquicos, ni aristolactamas. Los resultados de la RMN nos permitieron determinar que las fracciones 1 y 2 son compuestos de naturaleza lipídica, posiblemente ésteres de ácidos grasos insaturados. La fracción 3 posee ésteres de ácidos grasos saturados. Las fracciones 4 y 5 aún no están determinadas y la fracción 6 presenta azúcares (Apéndice 12.3).

Los estudios fitoquímicos realizados mostraron que *A. grandiflora* no contiene ácidos aristolóquicos ni aristolactamas. Sin embargo, si presenta una alta cantidad de compuestos de naturaleza lipídica como el ácido palmítico, esteroides y terpenos.

Existen otros estudios de especies pertenecientes al género *Aristolochia* que tampoco reportan estos compuestos. Los tipos de compuestos encontrados variaron dependiendo de la especie, Jegadeeswari, J. *et al* 2012<sup>a</sup> realizaron un extracto de etanol de toda la planta de *A. krysagathra* Jegadeeswari, P. *et al* 2012<sup>b</sup>, realizó un extracto metanólico de toda la planta de *A. bracteolata* presentando ácidos grasos y azúcares.

Remya, M. *et al.* 2016, estudiaron *A. tagala*, observando las diferencias en los compuestos presentes en las hojas de la forma silvestre e *in vitro* de tallo y hoja, para ello se realizaron extracciones específicas para azúcares, alcaloides, fenoles y flavonoides los cuales fueron analizados por TLC. También prepararon un extracto metanólico que fue analizado por GC/MS. No observaron la presencia del ácido aristolóquico, pero si azúcares, fenoles y flavonoides y ácidos grasos. En otro estudio realizado por Das, T. S., *et al* en el mismo año, se analizó la actividad antioxidante de los extractos de hexano, acetato de etilo y metanol de *A. bracteolata* (usando toda la planta), obteniendo mayor actividad antioxidante *in vitro* en el extracto metanólico el cual fue analizado por GC/MS acoplado a la base de datos NIST, observando que los compuestos 2- piperidinona, cimeno y estigmasteroles son los más abundantes.

Hasta el momento no se sabe, porque estas plantas al presentar abundantemente compuestos de ácidos grasos no presentan ácidos aristolóquicos. Ni cual es el factor que conlleva a la síntesis de estos.

### **8.3 ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

#### **8.3.1 EFECTO ANTIINFLAMATORIO EN EL MODELO DE TPA**

Los esteroides de forbol, en especial el TPA, inducen la inflamación y la proliferación celular similares a las encontradas en las enfermedades inflamatorias. Stanley, P *et al* 1991 estudiaron el efecto del TPA en la oreja de ratón, observando que una sola aplicación aumenta su peso al doble, además de inflamación y eritema (enrojecimiento de la piel) en un máximo de 6 horas. Cabe mencionar que el peso de la oreja aumenta por la inflamación epidérmica e infiltración celular.

Nuestro estudio se realizó a las 4 horas, según los protocolos estandarizados del laboratorio de pruebas biológicas del Instituto de Química, UNAM. Como control positivo utilizamos la indometacina (inhibidor de la ciclooxigenasa), ya que como lo describen Stanley, P *et al*. 1991, Rodríguez, M. *et al* 2005 y Katzung, B.G. citado en Rodríguez, M. *et al*. 2005, la indometacina es un AINE bloquea los agentes inflamatorios como la elastasa ( $54 \pm 11$  %) de la piel cuando se aplica antes o en conjunto con el TPA.

Es importante destacar que el TPA estimula la liberación de PLA<sub>2</sub> y la producción de ácido araquidónico, el cual se va a metabolizar para dar lugar a la producción de prostraglandinas, tromboxanos y leucotrienos, la indometacina inhibe la producción de estos metabolitos inhibiendo con ello la respuesta inflamatoria.

El modelo de TPA es ampliamente utilizado para la búsqueda de nuevas drogas que inhiban la secreción de PLA<sub>2</sub> y como un acercamiento terapéutico al tratamiento de problemas dermatológicos, como la psoriasis que está implicada en la elevada producción de eicosanoides y PLA<sub>2</sub> (Otuki, M. *et al*. 2011; Yedgar, S. *et al*. 2006)

Para este estudio se realizaron dos experimentos. El primero de ellos consistió en probar los extractos, el ácido aristolóquico, el control negativo y la indometacina como control positivo. En la figura 33, se observa que los extractos no tienen una diferencia significativa con el control y el control positivo (indometacina) presentó un porcentaje de inhibición del 84.80 %.

El ácido aristolóquico presentó una diferencia significativa menor al control positivo, con un porcentaje de inhibición del 23.29 %. Estos resultados difieren a lo esperado, si bien es la primera vez que se prueba en el modelo de TPA, los resultados previos presentados en el cuadro 1 sugieren que el ácido inhibiría la respuesta inflamatoria por la inhibición de la PLA<sub>2</sub>.

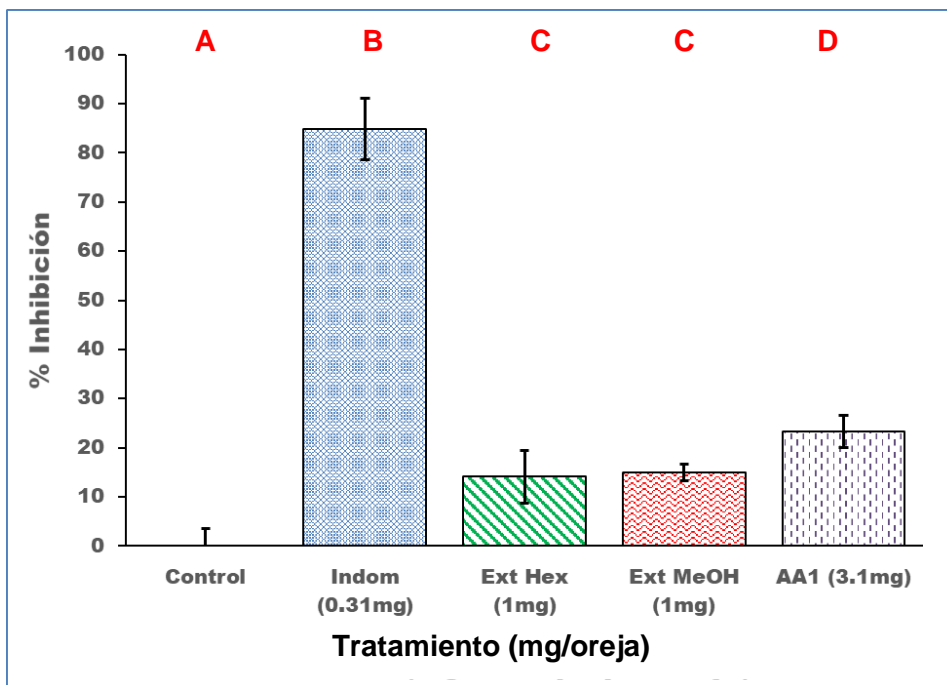


Figura 33. Resultados de los extractos y ácido aristolóquico en el modelo de TPA. Se analizaron mediante una ANOVA de una vía, observando que el ácido aristolóquico (D) presenta diferencia significativa con el control negativo, pero con un porcentaje de inhibición del 23.29 %, Control positivo (indometacina, B) con diferencia significativa con un porcentaje de inhibición del 84.80 %. n=3,  $\alpha=0.05$  y  $p=0.000$ . Barras de error estándar.

El segundo experimento consistió en probar la actividad antiinflamatoria de las fracciones del extracto MeOH obtenidas por el método 2. En la figura 34, se puede observar que la FO1 y FO2 presentaron diferencias significativas con el control negativo, pero su efecto antiinflamatorio no superó el 25%. La FO3 muestra diferencia significativa con el control negativo y tiene actividad antiinflamatoria del 77 %. La indometacina también tiene una diferencia significativa comparada con el control y los tratamientos, tiene un porcentaje de inhibición del 84.80 %.

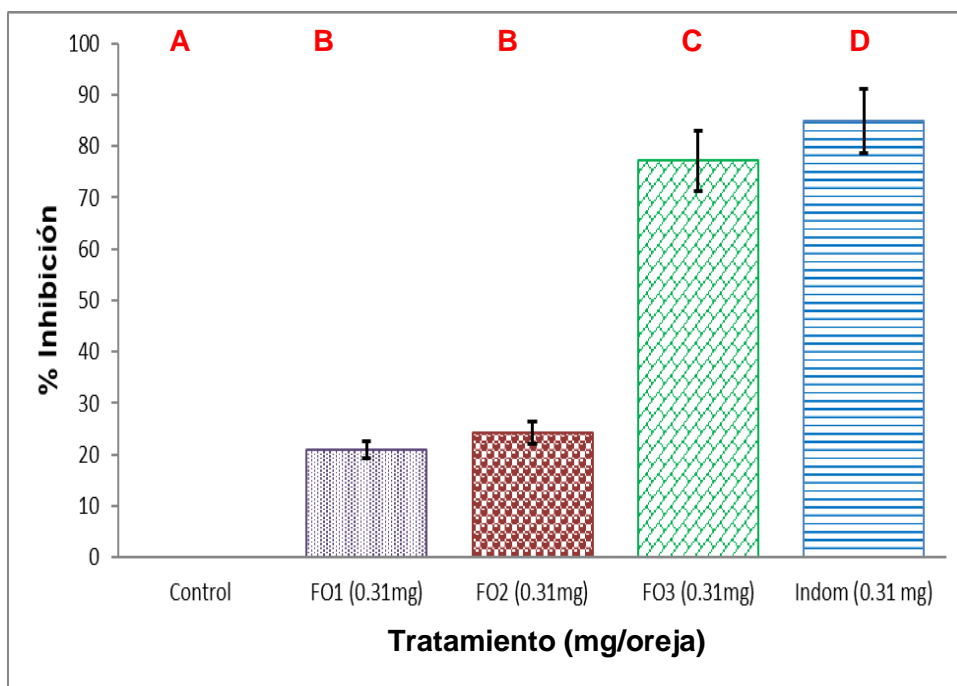


Figura 34. Resultados de las fracciones del método 2 en el modelo de TPA. Se analizaron mediante una ANOVA de una vía, observando que FO3 (C) presenta diferencia significativa con el control negativo, con un porcentaje de inhibición del 77 %, Control positivo (indometacina, D) con diferencia significativa con un porcentaje de inhibición del 84.80 %. n=3,  $\alpha=0.05$  y  $p=0.000$ , Barras de error estándar.

Como observamos en el espectro de masas de la FO3 del método 2, el compuesto más abundante es el ácido palmítico. Con base en los estudios descritos anteriormente, el ácido palmítico inhibe el sitio activo 1 a 1 de la PLA<sub>2</sub> y con una alta afinidad. Además de tener actividad antiinflamatoria al inhibir los macrófagos LPS (lipopolisacáridos) y la producción de TNF $\alpha$ , IL6, NO y COX-2 (Aparna, V. *et al* 2012; Ju Younget *al* 2010).

Realizamos el modelo de inflamación de TPA, estudiando el efecto del ácido palmítico, a concentraciones de 0.031, 0.1, 0.31 y 1 mg/oreja, observamos en la figura 35, que el ácido palmítico tiene un efecto antiinflamatorio con una IC<sub>50</sub> de 0.99 mg/oreja.

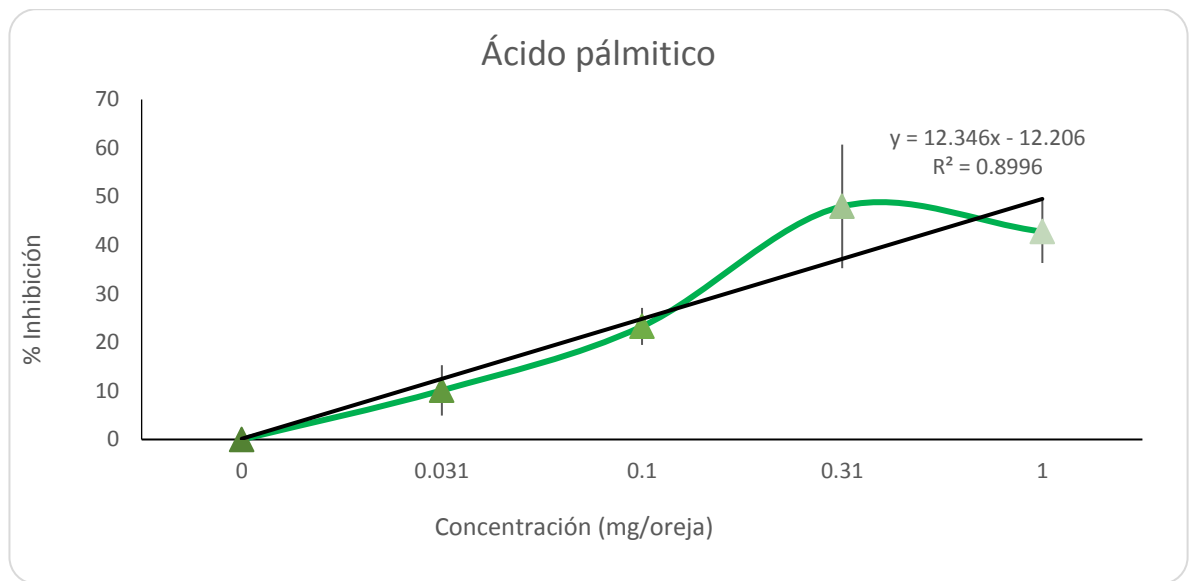


Figura 35. Actividad antiinflamatoria del ácido palmítico. Barras de error estándar.

### 8.3.2 ACTIVIDAD DE LA ENZIMA MIELOPEROXIDASA

La MPO se encuentra en los gránulos azurófilos polimorfonucleares de los leucocitos, que migran al sitio inflamado. Stanley, P *et al.* 1991 observaron que la inflamación ocasionada por la exposición del TPA en oreja de ratón ocasiona la migración y desgranulación de los leucocitos, con un máximo de exposición a las 24 h. Como ya se mencionó anteriormente, este estudio se realizó a las 4 h, tiempo suficiente para observar las diferencias en la migración a la exposición de los tratamientos con el control.

Este estudio se realizó con el material recuperado del experimento de TPA, se calculó la actividad de la enzima mieloperoxidasa. Observamos en la figura 36, que la actividad de la MPO es inhibida por el ácido palmítico, con una  $IC_{50}$  de 0.75 mg/oreja.

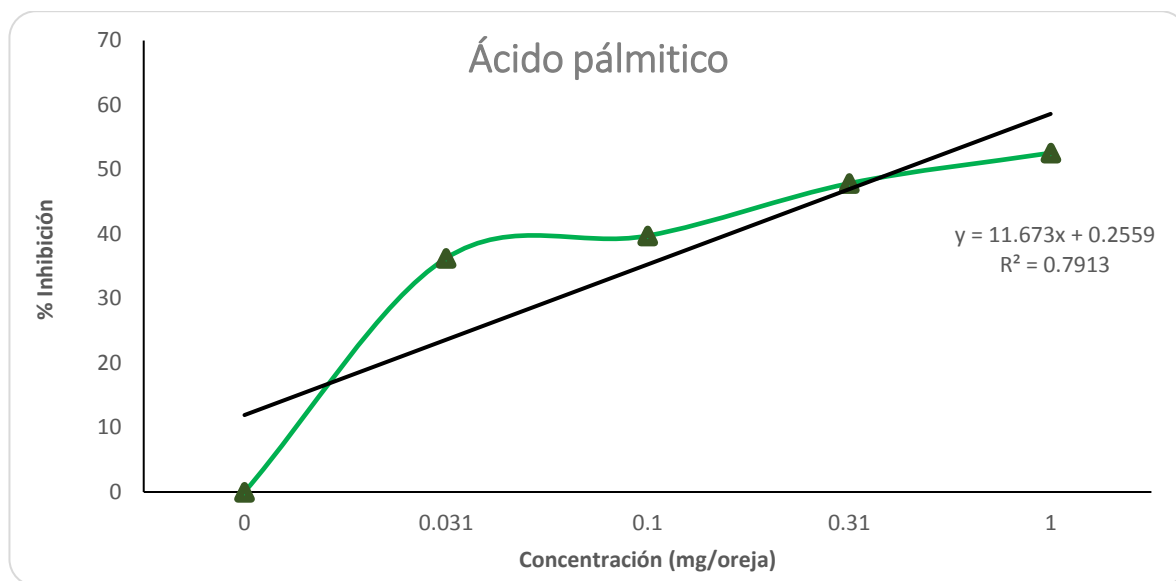


Figura 36. Actividad inhibitoria de la enzima MPO del ácido palmítico

### 8.3.3 ACTIVIDAD INFLAMATORIA EN EL MODELO DE CARRAGENINA

Este estudio se realizó de dos formas, la administración subplantar y oral de los extractos y compuestos, y se midió la inflamación a las 24 h. Durante la administración subplantar de los extractos (figura 37), permitió determinar que el control negativo (al cual se le administró 10  $\mu$ L de agua destilada subplantar y 50  $\mu$ L de carragenina  $\lambda$ ) posee una menor inflamación en comparación las concentraciones del extracto administrado, Posadas, I. *et al* 2004 mencionan que la inflamación en ratón en este modelo disminuye a las 24 h por lo que un compuesto irritante presentará inflamación.

Esta información concuerda con lo observado, la concentración de 100 mg extracto ocasionó una mayor inflamación con diferencias significativa al resto de los grupos, cabe mencionar que se utilizó el ácido aristolóquico como control positivo.

Sin embargo, el ácido aristolóquico a una concentración de 1mg no tiene un efecto antiinflamatorio contrario a lo reportado por Moreno, J. J. 1993 (cuadro 1), quien reportó que presenta una inhibición de la inflamación del 60 %. Cabe mencionar que el ácido aristolóquico tampoco presentó diferencias estadísticas con el efecto inflamatorio observado en 1 y 10 mg de extracto, por lo que se catalogaría como una sustancia irritante o inflamatoria.

La diferencia de los resultados inflamatorios obtenidos con los reportados (cuadro 1) podrían deberse a que nosotros utilizamos carragenina  $\lambda$ , la cual ha sido ampliamente investigada por provocar una respuesta inflamatoria inmediatamente después de la administración

subcutánea, desencadenando la producción de agentes proinflamatorios: bradiquinina, histamina, taquiquininas, especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno (Grassauer, A. & Prieschil-Grassauer, E. 2014). También puede deberse a que nosotros utilizamos el ácido aristolóquico 1, mientras que en el artículo no especifican estas variables, además de que la medición la realizamos con un vernier (método utilizado por Sarkhel, S. 2015) para tener un resultado más exacto mientras que ellos utilizaron un pleistisómetro.

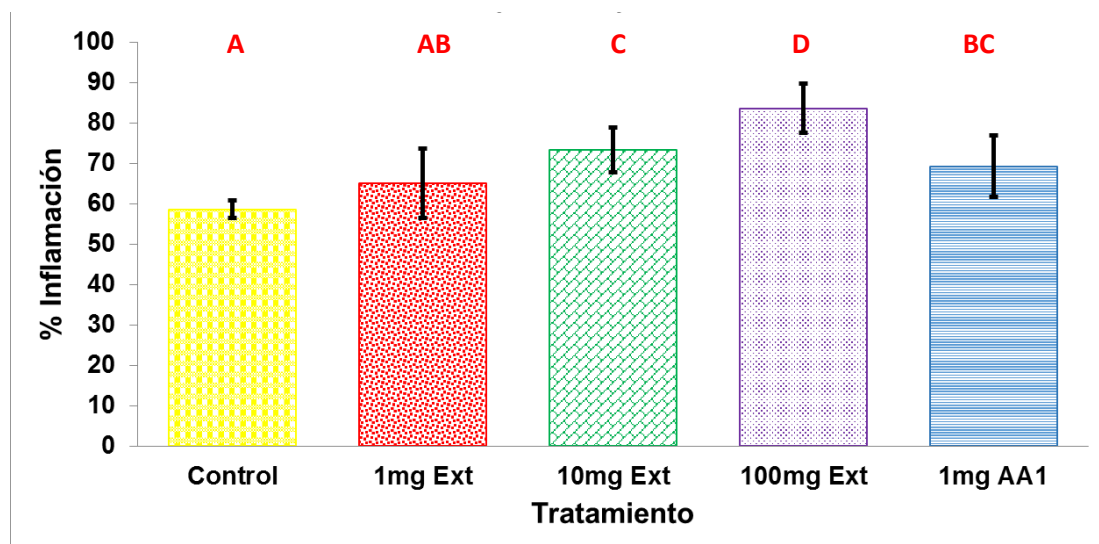


Figura 37. Actividad antiinflamatoria del extracto MeOH en el modelo subplantar de carragenina a 24 h.  $\alpha = 0.05$ ,  $p = 0.168$ . Barras de error estándar.

La administración oral del extracto metanólico (Figura 38) determinó que no hay un efecto antiinflamatorio, al contrario, mostró un efecto inflamatorio en las tres concentraciones empleadas, comparadas con el control negativo (al cual se le administro oralmente 10  $\mu$ L agua destilada y 50  $\mu$ L de carragenina subplantar). El control positivo fue indometacina (10 mg en 10 mL de agua destilada por 1 Kg de peso del ratón) administrada oralmente, presentando un efecto inflamatorio del 17.5 %, se escogió este AINE´s por sus características antiinflamatorias ya descritas anteriormente.

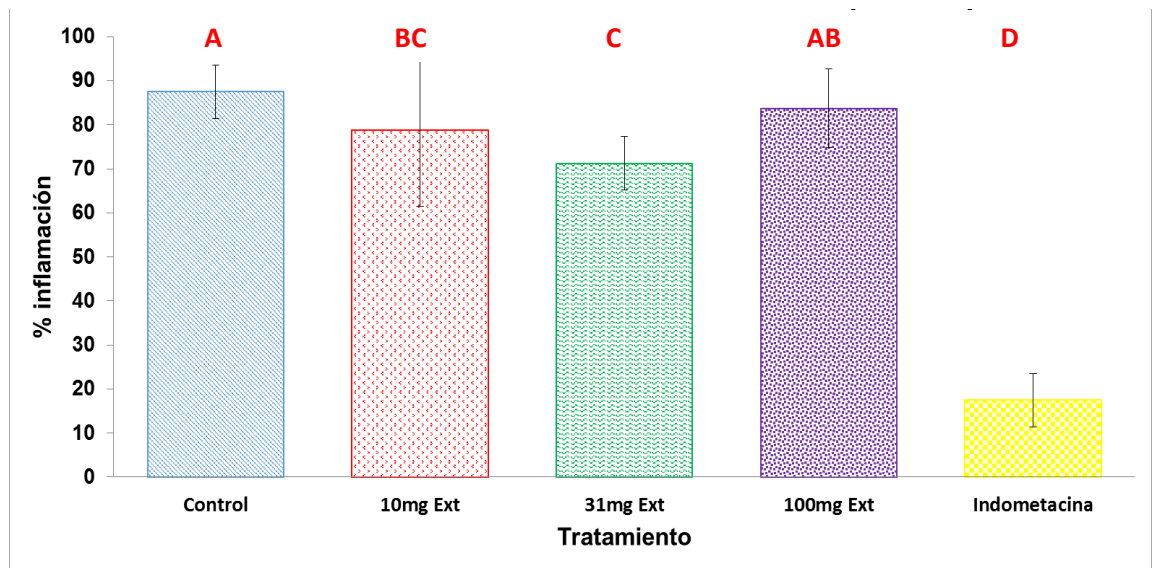


Figura 38. Actividad antiinflamatoria en el modelo subplantar de carragenina y administración oral del extracto metanólico.  $\alpha = 0.05$ ,  $p = 0.0001$ . Barras de error estándar.

## **9 CONCLUSIONES**

### **ETNOBOTÁNICAS**

Con base en la revisión etnobotánica, se concluye que el género *Aristolochia* es ampliamente utilizado en América Latina. En México, se usan el 94 % de las especies pertenecientes a este género, destacando los estados de Oaxaca, Guerrero, Morelos y Veracruz.

Las especies más utilizadas son *A. watsonii*, *A. inflata*, *A. taliscana*, *A. pentandra* y *A. grandiflora*.

Los usos más frecuentes en el género son: para tratar enfermedades digestivas, reproductivas, asociadas al sistema oseo muscular, cardiovascular y dérmico, además de ser usada como alexíttere.

Los órganos de la planta más usados es la raíz y las hojas, aunque también se llega a utilizar otros órganos como el rizoma, la flor y el fruto.

De estos resultados determinamos que en México es *A. grandiflora* es una de las especies más usadas en varios estados del país, donde se utiliza principalmente la raíz y es usada para tratar las enfermedades de los principales sistemas en el cuerpo humano y como alexíttere.

### **FITOQUÍMICA**

Los estudios fitoquímicos determinaron que la raíz y rizoma de *Aristolochia grandiflora* no presentan ácidos aristolóquicos. Sin embargo, presenta compuestos de naturaleza lipídica, entre los que destacan el ácido palmítico, esteroides y terpenos.

### **ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

En el modelo de TPA, los extractos y el ácido aristolóquico 1 no presentaron actividad antiinflamatoria; mientras que la FO3, (cuyo compuesto mayoritario es el ácido palmítico), presentó actividad antiinflamatoria significativa del 77 %. Se determinó con el ácido palmítico, una IC<sub>50</sub> de 0.99 mg/oreja y, una IC<sub>50</sub> de 0.75 mg/ oreja en el modelo de MPO.

En el modelo antiinflamatorio de carragenina, se determinó que no hay una diferencia significativa entre tratamientos, al contrario, en algunos casos se presentó un aumento de la inflamación.

Con esto podemos concluir, que el ejemplar colectado si tiene actividad antiinflamatoria cuando es aplicado de manera tópica, pero contrario a lo ya reportado, esta actividad no se debe al ácido aristolóquico, sino más bien al ácido palmítico.

## 10. PERSPECTIVAS

Se recomienda realizar estudios:

- Etnobotánicos del género *Aristolochia* para ampliar los resultados mostrados aquí, y corroborar que en los estados de Querétaro y Tlaxcala las especies pertenecientes a este género no son utilizadas.
- Fenológicos y fitoquímicos del género y en especial en *A. grandiflora*, con la finalidad de conocer mejor los compuestos que presentan las especies mexicanas. Y determinar con ello, los factores que llevan a la síntesis de los ácidos grasos y ácidos aristolóquicos.
- Farmacológicos de las especies más representativas del género *Aristolochia*, en modelos que permitan corroborar los usos reportados en la medicina tradicional.
- Antiinflamatorios de *A. grandiflora* diferentes a los presentados en esta tesis, por ejemplo: estudios de Elisa para COX, TNF $\alpha$ ; inhibición de PLA<sub>2</sub> *in vitro*.
- Inflamatorios de *A. grandiflora* en modelo de oreja y pata de ratón, para corroborar y analizar, si presenta este efecto.
- Antiinflamatorios del ácido palmítico que permitan determinar el mecanismo de acción y su efectividad, como estudios de Elisa e inhibición de PLA<sub>2</sub> mencionados anteriormente.

## 11 LITERATURA CITADA

1. Alali, F. Q., Tawaha, K., Shehadeh, M. & Telfah, S., 2006, Phytochemical and biological investigation of *Aristolochia maurorum*, Z. Naturforsch C. 9 (10): 685-691 pp.
2. Aparna, V., Dileep, K., Mandal, P., Karthe, P., Sadasivan, C. & Haridas, M. 2012. Antiinflammatory property of n-hexadecanoic acid: structural evidence and kinetic assessment, Chem Biol. Des. 80: 434-439 pp.
3. Ariel. A. & Serhan, C. N. 2007. Resolvins and protectins in the termination program of acute inflammation. Trends Immunol. 28(4): 176–183pp. Citado en: Mruwat, R., Cohen, Y. & Yedgar, S. 2013. Phospholipase A2 inhibition as potential therapy for inflammatory skin diseases, Immunotherapy. 5 (4): 315-317 pp.
4. Ballou, L. R. & Wai Yui Cheung. 1985. Inhibition of human platelet phospholipase A2 activity by unsaturated fatty acids. Proc Natl Aca Sci.372-374 pp.
5. Bhattacharje, P. & Bhattacharyya, D., 2013, Characterization of the aqueous extract of the root of *Aristolochia indica*: Evaluation of its traditional use as an antidote for snake bites, Journal of Ethnopharmacology, 145: 220-226 pp.
6. Bhattacharjee, P. & Brattacharyya D. 2013. Caracterizacion of the aqueous extract of the root of *A. Indica*: evaluation of its traditional use as an antidote for snake bites. Journal of Ethnopharmacology 145: 220-226 pp.
7. Bradley, P. P., Priebat, D. A., Christensen, R. D. & Rothstein, G. 1982. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. J. Invest. Dermatol. 78; 206-209 pp.
8. Carvalho, B.M.A., Santos, J. D. L., Xavier, B. M., Almeida, J. R., Resende, L. M., Martins, W., Marcussi, S., Marangoni, S., Stábeli, R. G., Calderon, L. A., Soares, A., M., Da Silva, S. L. & Marchi-Salvador, D. P. 2013. Snake venom PLA2s inhibitors isolated from brazilian plants: synthetic and natural molecules. BioMed Research International.1-8 pp.
9. Claro, R., Correa, H., Duque, C. Ruíz, N. 2007. Aproximación al estudio de la interacción entre *Aristolochia máxima* y larvas de mariposas *Battus polydamas* y *Parides panares erythrus* medida por ácidos aristoloquicos. Acta biol. Colom. 12.59-68 pp.
10. Coe, F. & Anderson G. 2005. Snakebite ethnopharmacopoeia of Eastern Nicaragua. Journal of Ethnopharmacology 96: 303-323 pp.
11. Cook, K. 2001. Flora de Nicaragua. Aristolochiaceae, Vol 1. Missouri Botanical Garden. USA. Citado en Grijalva, A. 2006. Flora útil: Etnobotánica de Nicaragua, Marena-Araucaria-AECI. 34-35pp.
12. Das, R., Kausik, A., & Pal, T. K. 2010, Anti-inflammatory activity study of antidote *Aristolochia indica* to the venom of *Heteropneustes fossilis* in rats. J. Chem. Pharm. Res, 2 (2): 554-562 pp.
13. Das, T. S., Ramesh, L. & Agastian, P. 2016. GC/MS analysis of bioactive constituents of *Aristolochia bracteolata* Linn with in-vitro antioxidant properties. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 6 (12): 61-66 pp.
14. Desai, D., Jacob, C., Almeida, J., Kshirsagar, R. & Manju, S. L. 2014. Isolation, structural elucidation and anti-inflammatory activity of astragalins, (-), hinokinin, aristolactam I and aristolochic acids (I & II) from *Aristolochia indica*, Natural product Research, 28 (17): 1413-1417 pp.
15. Dhouioui, M., Boulila, A. Jemli, M., Schiets, F., Casabianca, H. & Saïd, M. 2016. Fatty acids composition and antibacterial activity of *Aristolochia longa* L. and *Bryonia dioica* Jacq. Growing wild in Tunisia. Journal of Oleo Science. 1-7pp.
16. Díaz, J. L. 1977. Uso de las plantas medicinales de México. Monografías científicas. Volumen 2. IMEPLAN. México. 330 pp. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Centro

- de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 34, 35, 127, 304, 305 pp.
17. Eckhardt, G., Urzúa, A. & Cassels, B. 1983. Mass spectrometry of aristolochic acid. *Journal Natural Products*, 46, 92-97 pp.
  18. Escuela Superior de la Medicina Tradicional China, 2017. Disponible en: <https://escuelasuperior.mtc.es/>
  19. Ficha técnica de Montpellier, 1999. Disponible en: [www.montpellier.com.ar/prosp/13.pdf](http://www.montpellier.com.ar/prosp/13.pdf)
  20. Flora de Colombia, n. 1190. Instituto de Ciencias Naturales. Universidad Nacional. 39p.
  21. Flora de Guinea, 2017. Disponible en: [http://portal.cybertaxonomy.org/flora-guianas/cdm\\_dataportal/taxon/f2f6bcc8-f7b9-46cd-9a07-b115250ca11a](http://portal.cybertaxonomy.org/flora-guianas/cdm_dataportal/taxon/f2f6bcc8-f7b9-46cd-9a07-b115250ca11a)
  22. Flora de Norte América, 2017. Disponible en: [http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora\\_id=1&taxon\\_id=102606](http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=102606)
  23. Goldan, D., Armstrong E. & Armstrong, A. 2001. Principios de Farmacología: Bases Fisiopatológicas de tratamiento farmacológico. Cuarta Edición, España. 790-814,866, 898-899 pp.
  24. Gomes, A., Sarkhel, S., Mishra R., Mukherjee, S., Bhamik, S. & Gomes, A. 2010. Herbs and herbal constituents active against snake bite, *Indian Journal Experimental Biology*. 48: 865-878 pp.
  25. González, F. 1990. Flora de Colombia: Aristolochiaceae, Instituto de Ciencias Naturales- Museo de Historia Natural. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 12: 44, 45, 82,83, 94-98 pp.
  26. Grassauer, A. & Prieschil-Grassauer, E. 2014. Biololímeros antialérgicos marinos. Oficina Española de patentes y marcas. 2445870.
  27. Hanna, G. M., 2004, NMR regulatory analysis: determination and caracterizacion of Chinese-herb aristolochic acids. *Pharmazie* 59: 170-174 pp.
  28. Hermann, P. M., Park, D., Beaulieu, E. & Wildering, W. C. 2013. Evidence for inflammatory-mediated memory dysfunction in gastropods: putative PLA2 and COX inhibitors abolish long- term memory failure induced by systemic immune changes, *BMC Neurosciencie*. 14 (83): 1-14 pp
  29. Heywood, V., 1985. Las plantas con flores. Ed. Reverté, S.A. Barcelona, España. 37-38 pp
  30. Ho, P.C. & Orange, R.P. 1978. Indirect evidence of phospholipase A activation in purified rat mast cells during reverse anaphylactic challenge. *FASEB.*;37 :1667 p. Citado en: Whitem, 1999 *Mediators of inflammation and the inflammatory process*. *J. Allergy Clin Immunol*. 103 (2): 378-381 pp.
  31. Horrobin, D. & Finnen, M. 1993. United states patent. 5,178,873 pp
  32. Houghton, P. & Ogutveren, M. 1991. Alkaloids and lignin from *Aristolochia ponticum*. *Phytochemistry* 330. (2): 717-718 pp.
  33. Houong Thi Bich & Li-Li Hsiao 2008. Aristolochic acid (Chinese-herb) Nephropathy, *Nephrology Rounds*. 6(2).
  34. Inga, R., Vivas, D., Palermo, P., Mendoza, J., Lazo, F. & Yarlequ', A. 2010. Caracterización biológica y acción de inhibidores de una fosfolipasa A2 del veneno de *Lachesis muta*. *Rev Peru Biol* 17 (1):123-128 pp.
  35. Jegadeeswari, J., Nishanthini, S., Muthukumarasamy & Mohan, V. 2012.<sup>a</sup> GC/MS analysis of bioactive components of *Aristolochia krysagathra* (Aristolochiaceae), *Journals of Current Chemical & Pharmaceutical Science*. 2 (4): 226-232 pp.
  36. Jegadeeswari, P., Nishanthini, A., Muthukumarasamy, S. & Mohan, V. 2012.<sup>b</sup> GC/MS analysis of bioactive components of *Aristolochia bracteolata* Retz (Aristolochiaceae). *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 3 (4): 112-117.

37. Ju Young, Hye Ja Lee, Ji Ahn Jeong & Ji Wook Jung. 2010. Palmitic acid inhibits inflammatory responses in lipopolysaccharide stimulated mouse peritoneal macrophages. *Oriental pharmacy and Experimental Medicine*. 10(1): 37-43 pp.
38. Judd, W., Campbell, C., Kellogg, E., Stevens P., Donoghue, M. 2007. *Plant systematic a phylogenic approach*. 3rd edition. Ed. Sinauer Associates. 247-248 pp.
39. Katzung, B. G. 1995. *Basic & clinical pharmacology*, 6ed. Appleton & Lange, USA. Citado en: Rodríguez, M., Vergel, N., Ospina, L., Calle, J. & Pinzón, R. 2005. Evaluación de actividades enzimáticas elastasa y mieloperoxidasa como marcadores de desgranulación leucocitaria en modelos de inflamación aguda. *Revista Col. Cienc. Químicas Farm.* 34 (1): 35-45 pp.
40. Kelly, L. 2000. *Aristolochiaceae Juss., Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. 29: 1-8.
41. Li-Shian Shi, Ping-Chunh Kuo, Yao-Lung Tsai, Amooru Gangaiah Damu & Tian-Shung Wu. 2004. The alkaloids and other constituents from the root and stem of *Aristolochia elegans*. *Bioorganic and medicinal chemistry letter*. 19: 3036-3040 pp.
42. López-Miranda, D. Y. 2013. Actividad citotóxica de *Aristolochia grandiflora*. Tesis de licenciatura, Asesor. Espejo, O. Facultad de Ciencias. UNAM. 67-70 pp.
43. Martínez, M. 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México. Citado en: Waizel, J. 2006. *Las plantas medicinales y las ciencias: una visión multidisciplinaria*. IPN. México. 34, 339 pp.
44. Maruñak, S. L., Bogado, F., Ortiz, M. L., Gasko, H. & Pérez, O. C. 2013. Acción de venenos ofídicos del género *Bothrops* (yarara) sobre la membrana de eritrocitos de carnero. *Veneno de serpientes. Rev. Vet.* 24 (2): 107-112 pp.
45. Mata, R. 1993. Estudios químicos y aspectos biológicos de algunas plantas usadas en la medicina tradicional de México. En: Secretaria de Salud. *La investigación científica de la herbolaria mexicana*. México. 143-156 pp
46. Moreno, J. J. 1993, Effect of aristolochic acid on arachidonic acid cascade and in vivo models of inflammation, *Inmunopharmacology*, 26: 1-9 pp.
47. Morris, C., Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse, Winyard, P., & Willoughby, D. 2003, *Inflammation protocols, Methods in Molecular Biology*. Springer protocols. 225 p Disponible en: <https://link.springer.com/protocol/10.1385/1-59259-374-7:115#page-1>
48. Mors, W., Nascimento, M. Ruppelt, B. & Alvarea, N. 2000. Plant natural products active against snake bite-the molecular approach. *Phytochemistry* 55: 627-624pp.
49. Murakami M, Taketomi Y, Miki Y, Sato H, Hirabayashi T. & Yamamoto K. 2011. Recent progress in phospholipase A2 research: from cells to animals to humans. *Prog. Lipid Res.* 50(2): 152–192pp. Citado en: Mruwat, R., Cohen, Y. & Yedgar, S. 2013. Phospholipase A2 inhibition as potential therapy for inflammatory skin diseases, *Inmmunotherapy*. 5 (4): 315-317 pp.
50. NIST 2018. Disponible en: <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=B6000065&Mask=80>
51. Ortega, J. F. & Ortega, R. V. 1997. *Flora de Veracruz: Aristolochiaceae*, Instituto de Ecología, A.C. (99)17-19 pp.
52. Otuki, M., Schwob, O., Prudente, A., Zaltsman, I., Metetski, S., Segal, J., Yedgar, S. & Rosenblat, G. 2011. Attenuation of experimental TPA-induced dermatitis by acetylenic acetogenins is associated with inhibition of PLA2 activity, *European Journal of Pharmacology*, 672: 175-179 pp.
53. Pacheco, A., Silva, T., Manfrini, R., Sallum, W., Duarte, L., Piló-Veloso, D. & Alcántara, A. 2010. Estudio Químico e atividade antibacteriana do de *Aristolochia esperanzae* Kuntze (Aristolochiaceae). *Quim. Nova* 33 (8): 1649-1652 pp.

54. Perumal R., Maung, M., Gopalakrishnakote P. & Ignacimathu S. 2008. Etnobotanical survey of folk plants for the treatment of snakebites in Southern part of Tamilnadu India. *Jornual of Ethnopharmacology*. 115: 302-312 pp.
55. Posadas, I., Bucci, M., Roviezzo, F., Rossi, F., Parente, L., Sautebin, L. & Cirino, G. 2004. Carragenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight depent and displays differential nitric oxid ciclooxygenase-2 expression. *British Journal of Pharmacology*, 142: 331-338 pp
56. Prada, E. & Murillo, J. 2009. Estudio químico de la toxicidad del veneno de serpientes de la familia Viperidae *Bothrops atrox* mantenidas en cautiverio en el serpentario de la Universidad de la Amazonia. Universidad de la Amazonia, Facultad de ciencias básicas, 17-20 pp
57. Prada, E. & Murillo, J. 2009. Estudio químico de la toxicidad del veneno de serpientes de la familia Viperidae *Bothrops atrox* mantenidas en cautiverio en el serpentario de la Universidad de la Amazonia. Universidad de la Amazonia, Facultad de ciencias básicas, 17-20 pp.
58. Rang, H., Flower, R. Ritter, J. & Henderson, G. 2015. *Farmacología*. Elsevier. 8va Edición. España. 88-89, 212-221, 317-333pp.
59. Recio, M. C., Giner, R. M., Uriburu, L., Manez, S., Cerda, M., De La Fuente, J. R. & Rios, J. L. 2000. *In vivo* activity of pseudoaguanolide sesquiterpene lactones in acute and chronic inflammation. *Life Sci*. 66: 2509-2518 pp.
60. Remya, M., Narmatha, B. Murugesan, S. & Mutharaian, V. 2016. Changes in bioactive components of *A. tagala*. Cham a rare species of medicinal importance during its in vitro development through direct regeneration. *BioRxiv*. Disponible en: <http://biorxiv.org/content/early/2016/01/17/037028.full.pdf+html>
61. Revista de Fitoterapia 2000, Nefropatía irreversible por utilización de especies vegetales de *Aristolochia* spp.1 (3): 209-214pp,
62. Reyes-Chilpa, R. & Jiménez, M. 1995. Química de plantas alexiteras. *Interciencia* 20 (5): 257-263 pp.
63. Rodríguez, J. L. 2004. Dolor osteomuscular y reumatológico. *REv. Soc. Esp. Dolor*. 11:94-102pp
64. Rodríguez, M., Vergel, N., Ospina, L., Calle, J. & Pinzón, R. 2005. Evaluación de actividades enzimáticas elastasa y mieloperoxidasa como marcadores de desgranulación leucocitaria en modelos de inflamación aguda. *Rev. Col. Ciencias Químicas y Farmacológicas*. 34 (1): 35-45 pp.
65. Rosenthal, M. D. & Vishwanath, B. S., 1985, Franson, R., Effects of aristolochic acid on phspholipase A2 activity and arachidonate metabolims of human neutrophils, *Biochimica et Biophysica Acta*. 1001: 1-8 pp
66. Rosenthal, M., Lattanzio, K. S. & Franson, R. C. 1992. The effects of the phospholipase A2 inhibitors aristolochic acid and PGBx on A23187-stimulated mobilization of arachidonate in human neutrophils are overcome by diacylglycerol or phorbol ester, *Biochimica et Biophysica Acta*. 1126: 319-326 pp
67. Sakthivel, G., Dey, A., Nongalleima, K., Chavalin, M., Rimal, R. S., Surjit, N. & Deb, L. 2013. *In vitro* and in vivo evaluation of polyherbal formulation against Russell's viper and Cobra venom and screening of bioactive components by docking studies, *Evidense Based Complementary and alternative medicine*. 1-12 pp.
68. Sarkhel, S. 2015. Evaluation of the anti-inflammatory activities of *Quillaja saponaria* Mol. Saponin extract in mice. *Toxicology reports* 2: 1-3pp.
69. Satish, S., Tejaswini, J., Krishanakantha, T. P. & Gowda, T. V. 2004. Purification of a class B1 platelet aggregation inhibitor phospholipase A2 from Indian cobra (*Naja naja*) venom, *Biochimie* 86: 203-210 pp.
70. Schütte, H., Orban, U. & Mothes, K. 1967. Biosynthesis of aristolochic acid. *European J. Biochem*. 70-72 pp.

71. Shirwaikar, A., Somashekar, A., Udupa A., Somashekar, S. 2003. Wound healing studies of *Aristolochia bracteolata* Lam. With supportive action of antioxidant enzymes. *Phytomedicina* 19: 558-562 pp.
72. Stanley, P., Steiner, S., Havens, M. & Tramposh, K. 1991. Mouse skin inflammation induced by multiple topical applications of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Skin Pharmacol*, 4: 262-271 pp.
73. Sundell, L. B., Theakston, R. D. G., Kamigati, A. S., Harris, R. J., Treweeke, A. T., Laing, G. D., Fox, J. W., Warrell, D. A. & Zuzel, M. 2001. The inhibition of platelet aggregation and blood coagulation by *Micropechis ikaheka* venom *British journal of Haematology*. 114: 852-860 pp.
74. Suzuki, K., Ota, H., Sasagawa, S., Sakatani, T. & Fujikara, T. 1983. Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. *Anal. Biochem*. 132:345-352 pp.
75. Tian Shung Wu, Li-Fei Ou & Che-Ming Teng. 1994. Aristolochic acid, aristolactam alkaloids and amines from *Aristolochia kankauensis*. *Phytochemistry* 36 (4): 1063-1068 pp.
76. Tsai L. H., Hung-Jung Liu, Chang-Ping Yang & Chen Chang. 1975. Inactivation of formosan snake venoms in vitro by the crude extract of *Aristolochia radix*, *J. Formosan Med. Assoc.*, 74: 352-360 pp.
77. Vishwanath, B. S., Fawzy, A. A. & Franson, R. C. 1988. Edema-inducing activity of phospholipase A2 purified from human synovial fluid and inhibition by aristolochic acid, *Inflammation* 12 (6): 549-561 pp.
78. Vishwanath, B. S., Manjunatha, R. & Gowda, V. 1987. Characterization of three edema-inducing phospholipase A2 enzymes from habu (*Trimeresurus flavoviridis*) venom their interaction with the alkaloid aristolochic acid. *Toxicon* 25 (5): 501-515 pp.
79. Vishwanath, B., S. & Gowda, T. V. 1987. Interaction of aristolochic acid with *Vipera russelli* phospholipase A2: its effect on enzymatic and pathological activities, *Toxicon* 25 (9): 929-937.
80. Wen-Cheng, H., Tsung-Hsein, T., Lu-Te, C., You-Yi, L., Christos, C. & Po-Jung, T. 2014. Anti-bacterial and anti-inflammatory properties of capric acid against *Propionibacterium acnes*: A comparative study with lauric acid. *Journal Dermatological Science*. 73 (3): 232-240 pp. Disponible en: <http://www.jdsjournal.com/action/showFullTextImages?pii=S0923-1811%2813%2900358-7>
81. Winter, C. A., Risley, E. A. & Nuss, G. W. 1963. Anti-inflammatory and antipyretic activities of indomethacin. 1-(*p*-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-indole-3-acetic acid. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 141:369- 376 pp.
82. Yann Lu Leu, Yu-Yi Chan & Tian-Shung Wu. 1998. Sodium aristolochiae derivatives from leaves of *Aristolochia faveolata*. *Phytochemistry* 48 (4): 743-745 pp.
83. Yedgar S., Cohen Y. & Shoseyov D. 2006. Control of phospholipase A2 activities for the treatment of inflammatory conditions. *Biochim. Biophys.* 1761: 1373–1382 pp.
84. Yedgar, S, Cohen, Y. & Shoseyov, D. 2006. Control of phospholipase A2 activities for the treatment of inflammatory conditions. *Biochim. Biophys. Acta* 1761: 1373–1382 pp. Citado en: Mruwat, R., Cohen, Y. & Yedgar, S. 2013, Phospholipase A2 inhibition as potential therapy for inflammatory skin diseases, *Immunotherapy*. 5 (4): 315-317 pp.

## 12 APÉNDICES

### 12.1 REVISIÓN ETNOBOTÁNICA

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
<i>Aristolochia anguicida</i>	Chiapas, Guerrero, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Yucatán, El salvador, Guatemala, Honduras	Hojas, Tallo, Rizoma, Raíz, Corteza, Savia	Alexitére		Local, Oral	30 gotas de tintura	Alcohol	70, 84
			Antipiretica-Analgésica			446		84
			Cardiovascular	Infusión, Maceración	Oral		Alcohol	70, 75, 80, 84, 98
			Dérmico					98
			Digestivo	Cocción, Infusión, Maceración			Gotas de éter	61, 70, 80, 84, 98
			Inmunológico					76, 84
			NE				Hierba muy olorosa	30, 70, 75, 80, 116
			Nervioso					70, 84
			Óseo-muscular		Local			70, 80, 84
			Reproductivo					75, 84, 98
			Respiratorio					84
			Síndrome de filiación cultural					15, 70, 76, 80, 84, 98
			Tóxico					84
			Urinario					84
Varios			Infusión, Maceración			61, 70, 75, 80, 84		
	Chiapas, Tabasco	Hojas	Antipiretica-Analgésica					60, 75

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia	
<b><i>Aristolochia arborea</i></b>			Digestivo	Cocción	Oral	2 veces al día por 3 días	Se usan 5 hojas	75	
			NE						70
<b><i>Aristolochia argétea</i></b>	Guerrero, Morelos	Tallo, Raíz, Toda la planta	Alexitére	Maceración			Alcohol	27, 65, 66, 95	
			Digestivo	Cocción	Oral	10g o 1 raíz gruesa en 1L de agua. Agua de tiempo	Usada con paraca ( <i>Cassia skinneri</i> ) y Tequesquite quemado	27	
			NE						11, 27, 124
			Óseo-muscular	Maceración	Local	Aplicar as veces necesarias	La raíz en trozos en alcohol		26, 27, 65
			Otros						65, 95
			Reproductivo	Cocción					95
			Varios						36
<b><i>Aristolochia asclepiadifolia</i></b>	Veracruz	Tallo, Raíz	Alexitére	Cocción, Infusión, Maceración	Oral		Alcohol	3, 47, 75	
			Digestivo	Cocción, Infusión			Alcohol	47, 75	
			Endocrino	0	Oral		Alcohol	3	
			NE					70, 75, 80	
<b><i>Aristolochia batucensis</i></b>	Sinaloa, Sonora	Tallo, Raíz	Digestivo	Cocción, Infusión	Oral	En cada comida	Se colecta en octubre	2, 67	
			Varios					67	
<b><i>Aristolochia bicolor</i></b>	Morelos	Raíz	Alexitére					79	
			Digestivo						44, 79
			Óseo-muscular						26,79

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
<i>Aristolochia birostris</i>	NEM	NE	NE					131
<i>Aristolochia bracteosa</i>	Jalisco, Nayarit	NE	NE					70, 80
			Varios	Cocción				75
<i>Aristolochia cardiantha</i>	Guerrero, Michoacán, Morelos	NE	NE					60, 75
			Varios					75
<i>Aristolochia chilensis</i>	Argentina, Chile	Hojas, Raíz, Fruto	Cardiovascular					17
			Dérmico		Local		Cataplasma	17
			Digestivo		Oral		Sola o mezclada con vino	17
			NE	Infusión	Oral	2 a 3g de fruta fresca	Usada con jugo de frutas o jarabe	17
			Reproductivo					17
			Respiratorio	Infusión	Oral		Gárgaras	17
			Varios		Local		Cataplasma	17
<i>Aristolochia clematitis</i>	España	Raíz	Dérmico					63, 85
			Óseo-muscular					63
			Reproductivo					85
			Varios					63, 85
<i>Aristolochia cordata</i>	Morelos	Tallo	Respiratorio	Cocción		20 g en 1L de agua. Se toma como agua de tiempo	Endulzada	48, 79
<i>Aristolochia cordigera</i>	NE	NE	NE					131

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
<b><i>Aristolochia cymbifera</i></b>	Brasil, Chile	Raíz, Toda la planta	Cardiovascular		Oral		Puede producir nauseas, problemas psicológicos, no usar en niños o mujeres embarazadas	17
			Dérmico	Cocción	Local		Cataplasma	17
			Digestivo		Oral		Puede producir nauseas, problemas psicológicos, no usar en niños o mujeres embarazadas	17
			NE					17
			Óseo-muscular		Oral		Puede producir nauseas, problemas psicológicos, no usar en niños o mujeres embarazadas	17
			Reproductivo	Cocción	Local		Cataplasma	17
			Respiratorio					131
			Varios		Oral			17, 123
<b><i>Aristolochia debilis</i></b>	España, Francia, Italia	Hojas, Raíz	Antipiretica-Analgésica					63
			Cardiovascular					57, 84
			Dérmico	Colirio	Local			97
			Oftálmico	Colirio	Local			97
			Óseo-muscular					84, 97
			Reproductivo		Local		Puede congestionar el útero	63, 80, 84, 97
			Respiratorio					84
<b><i>Aristolochia didyma</i></b>	Perú	Tallo	Respiratorio				75	

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia	
<i>Aristolochia filipendulina</i>	NE	NE	NE					131	
<i>Aristolochia flexuosa</i>	Michoacán	NE	NE					70, 80	
<i>Aristolochia foetida</i>	Guerrero, Jalisco, Michoacán, Zacatecas	Hojas, Rizoma, Raíz, Savia, Toda la planta	Alexitére	Cocción, Maceración, Pomada	Local, Oral	3 camotes con agua. 1/2 cucharada cafetera cada 15 min por 1 o 2 horas, o 15 gotas debajo de la lengua	1/3 de agua con 2/3 de alcohol, se deja reposar por 20 días	1, 70, 76, 108	
			Antipiretica-Analgésica						81
			Dérmico			30g /100mL de agua			17, 70, 84
			Digestivo	Cocción, Frita	Local		Cataplasma. Se frien con manteca de Armadillo ( <i>Dasytus novemcinctus</i> ) o de Res.		70, 76, 81, 118, 119
			Síndrome de filiación cultural	Cocción, Maceración	Local, Oral			Baños	118, 119
			Inmunológico						76
			NE						36, 70, 75, 80
			Nervioso						17
Nervioso-Cardiovascular	Cocción, Infusión, Maceración	Local, Oral	Dúrate las noches	Alcohol, masajear las sienes			1, 17		

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
			Óseo-muscular	Pomada	Local			108
			Reproductivo	Cocción, Maceración, Pomada	Local, Oral		Baños. Cataplasma. Se frien con manteca de Armadillo (Dasypus novemcinctus) o de Res.	70, 118, 119
			Respiratorio					81
			Varios					36, 60, 75, 81
<b><i>Aristolochia fragrantissima</i></b>	Guerrero, Morelos, Tabasco, Perú	Tallo, Raíz	Alexitére		Local, Oral	Ingesta diaria		57, 84
			Antipiretica- Analgesica					84
			Cardiovascular					84
			Dérmico					84
			Digestivo					84
			Inmunológico					84
			NE					80
			Oftálmico					84
			Óseo-muscular					84
			Reproductivo					84
Varios					84			
<b><i>Aristolochia glandulosa</i></b>	Hidalgo, Michoacán	NE	NE					70, 80
<b><i>Aristolochia glossa</i></b>	Morelos	Raíz	Óseo-muscular	Seca-molida	Local		Mezclada con sebo. Cataplasma	27, 44, 59, 79
			Reproductivo	Seca-molida	Local		Mezclada con sebo. Cataplasma	27, 44, 79, 110

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
<b><i>Aristolochia grandiflora</i></b>	Chiapas, Morelos, Oaxaca, San Luis Potosí, Tabasco, Veracruz, Yucatán, Brasil, Colombia, El salvador	Flor, Hojas, Tallo, Raíz, Savia Y Toda la planta	Alexitére	Maceración, Infusión, Seca-molida	Local, Oral	2 trago, solo una vez se toma	Cataplasma. 25g en 1L de alcohol, se deja reposar 6-7 días. Se usa con: barbasco blanco ( <i>Discorea compositae</i> ), Cascarillo blanco ( <i>Croton nittens</i> ), Cascarillo rojo ( <i>Croton schiedeanus</i> ) se colecta en ayudas antes de las 12 am, secada al sol, en el mismo lugar se limpia la raíz y se muele.	9, 39, 42, 45, 70, 93, 120, 121, 132
			Antipiretica-Analgésica		Oral			99
			Cardiovascular					40
			Dérmico					53
			Digestivo	Infusión				70
			Endocrino					93
			Inmunológico	Infusión	Oral		Con alcohol. Fricciones	9, 93, 99, 120, 121, 132
			NE	Cocción			10g en 1L de agua. 1 a 2 tazas al día	8, 9, 14, 34, 40, 60, 69, 70, 75, 80, 86, 131
			Nervioso-Cardiovascular	Cocción	Local		Se usan 5 hojas. 2 veces al día por 3 días	Baños 75

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
			Óseo-muscular	Maceración	Local		Loción	9, 70, 120, 121, 132
			Otros					26, 75
			Reproductivo	Infusión, Maceración	Local		Loción	9, 70, 93, 120, 121, 132
			Tóxico				Savia	70
			Varios	Infusión, Maceración	Local		Buches, Loción	9, 36, 53, 60, 70, 75, 93, 99, 121
<b><i>Aristolochia guadalajarana</i></b>	Jalisco	NE	Alexitére					70
			NE					70, 80
<b><i>Aristolochia guentheri</i></b>	Perú	NE	NE					75
<b><i>Aristolochia impudica</i></b>	Veracruz, NE	Tallos, Raíz, Corteza	Alexitére	Cocción			Alcohol	47, 75
			Cardiovascular	Infusión	Oral	5 dedos por 1/4 a 1/2 taza		2
			Digestivo	Cocción, Infusión	Oral	5 dedos por 1/4 a 1/2 taza		2, 47, 75
			Reproductivo					47
			Varios	Infusión	Oral	5 dedos por 1/4 a 1/2 taza		2
<b><i>Aristolochia indica</i></b>	India	NE	Alexitére					39
<b><i>Aristolochia inflata</i></b>	Chiapas, Colima, Guerrero, Jalisco, Morelos, Oaxaca, Quintana Roo,	Hojas, Tallo, Raíz, Savia, Toda la planta	Alexitére					70, 75, 84
			Antipiretica-Analgésica	Asada	Local			9, 70, 80, 84, 93, 99, 111, 120

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
	Tabasco, Veracruz, Yucatán, Guatemala, Perú		Auditivo		Local		Gotas	9, 111, 120
			Cardiovascular	Infusión		1 a 5g, o 20g en 1L de agua		70, 84
			Dérmico	Cocción	Local		Baños, Cataplasma	9, 14, 70, 84, 93, 99
			Digestivo	Cocción	Oral	1 a 5g, o 20g en 1L de agua		9, 64, 70, 84, 111, 109, 120
			Inmunológico					84
			NE					14, 34, 69, 70, 75, 80, 131
			Oftálmico		Local		Cataplasma	70, 84
			Óseo-muscular		Local		Cataplasma	70, 75, 84
			Otros					60
			Reproductivo		Local		Cataplasma	70, 84
			Respiratorio		Cocción			9, 64, 111, 120
Varios		Cocción	Local		Cataplasma	70, 82, 84		
<b><i>Aristolochia karwinskii</i></b>	NEM	NE	NE					70, 80
<b><i>Aristolochia labiata</i></b>	NE	NE	Dérmico					98
			NE					131
<b><i>Aristolochia leuconeura</i></b>	Guerrero, Oaxaca, Tabasco, Veracruz	Tallo, Raíz	Alexitére	Cocción		1/2L de agua de 6 a 12 horas		2
			Antipiretica-Analgesica	Cocción		1/2L de agua de 6 a 12 horas		2

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
			Digestivo	Cocción	Oral	2 a 3 cm de raíz		36
			NE					36, 72, 75
			Óseo-muscular	Cocción		1/2L de agua de 6 a 12 horas		2
<b><i>Aristolochia littoralis</i></b>	Estado de México, Guerrero, Hidalgo, Michoacán, Morelos, Oaxaca, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Veracruz, Guatemala	Flor, Hojas, Tallo, Raíz, Toda la planta	Alexitére	Cocción, Maceración, Pomada	Local	Aplicar 2 o 3 veces por día por 20 días	Cataplasmas. 10g en 1/4 de alcohol y se deja reposar 20 días	3, 4, 25, 65, 79, 90, 92, 95, 108
			Cardiovascular					25
			NE					75
			Óseo-muscular					65
			Otros				Se hacian collares para los jovenes que iban al Calmecac	4, 5, 25, 36, 75, 95, 116
			Reproductivo	Cocción				25, 95
			Respiratorio	Cocción	Local	1 a 2 veces días por 8 días	Colocar en el cuello, no tomar agua fria ni estar con los pies mojados	5, 6
Varios					54, 75, 101, 115			
<b><i>Aristolochia longipes</i></b>	Durango, Jalisco	NE	Alexitére					70
			NE					70, 80
<b><i>Aristolochia macrophylla</i></b>	Oaxaca	Raíz	Antipiretica-Analgesica					38
			Cardiovascular					38
			Dérmico					38
			Digestivo					38
			Óseo-muscular					38

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
			Síndrome de filiación cultural					38
			Urinario					38
<b><i>Aristolochia macroura</i></b>	Veracruz	Tuberculo	Digestivo	Cocción	Oral	1/2 camote en 1L de agua. 2 tazas cada 2 horas por un día		2
			NE					131
<b><i>Aristolochia malacophylla</i></b>	Chiapas, Michoacán, Veracruz	Hojas, Tallo	Alexitére					70
			Digestivo					18, 75
			Endocrino	Infusión	Oral			3
			NE					70, 80
<b><i>Aristolochia maxima</i></b>	Campeche, Chiapas, Oaxaca, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz, Yucatán, Belize, Estados Unidos, Guatemala	Hojas, Tallo, Raíz, Tuberculo	Alexitére					10, 61, 71
			Digestivo	Cocción, Seca-molida	Oral			10, 19, 74, 75, 102, 114
			Endocrino					61, 75
			NE					22, 23, 43, 52, 60, 70, 75, 80, 84
			Nervioso-Cardiovascular					71
			Otros					60
			Reproductivo					19, 75
			Respiratorio					10, 61
			Urinario					71
			Varios					60, 71, 75, 126
<b><i>Aristolochia micrantha</i></b>	Guerrero, Tamaulipas	NE	NE					36, 70, 80

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
<i>Aristolochia microphylla</i>	Guanajuato	Hojas, Raíz	Immunológico			30g /100mL de agua		84
			NE					80
			Reproductivo			30g /100mL de agua		84
<i>Aristolochia monticola</i>	Baja California Sur	Hojas, Tallo, Raíz	Digestivo	Cocción	Oral	Todos los días. Varias veces al día	Usada con: estafiate (Artemisa mexicana), en ayunas	89
			Endocrino	Cocción	Oral	Todos los días. 1 taza	En ayunas	89
			Oftálmico	Infusión	Local		Lavados con agua tibia	89
			Varios					75
<i>Aristolochia mycteria</i>	Guerrero, Michoacán	Hojas, Tallo, Raíz, Toda la planta	Alexitére	Cocción, Infusión, Maceración	Local, Oral		Amuletos. Baños. Cataplasma.	75, 118, 119
			Dérmico	Infusión	Local, Oral		Amuletos. Cataplasmas	118, 119
			Digestivo	Cocción, Infusión	Local, Oral	Más de 3 veces al día	Amuletos. Cataplasmas. Usada con: zorrillito (Petiveria alliacea) y manzanilla (Matricaria reticulata)	36, 75, 118, 119
			NE					75
			Óseo-muscular	Cocción, Infusión	Local, Oral		Amarrado a la cintura. Cataplasmas.	36, 75, 118, 119
			Síndrome de filiación cultural	Infusión	Local, Oral		Amarrado a la cintura. Amuletos. Cataplasmas.	118, 119
			Varios					75
<i>Aristolochia nana</i>	San Luis Potosí	NE	Alexitére					70

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
			NE					70
<i>Aristolochia nelsonii</i>	Oaxaca	NE	Síndrome de filiación cultural					75
<i>Aristolochia nummularifolia</i>	Ciudad de México, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Michoacán, Morelos	Hojas, Tallo, Raíz, Toda la planta	Alexitére	Cocción, Maceración, Pomada			Alcohol	29, 70, 95, 108, 122
			Antipiretica-Analgésica	Cocción, Maceración				95
			Auditivo		Local		Se enrolla una hoja y se pone en el oído hasta que se seque	73
			Cardiovascular					29, 122
			Digestivo		Parenteral			29, 70, 82, 108, 122
			NE					80, 131
			Óseo-muscular	Cocción, Infusión, Maceración	Local		Alcohol	1, 33, 58, 95, 119
			Reproductivo	Cocción			Lavados	70, 83
			Síndrome de filiación cultural	Infusión	Local		Alcohol	1
			Varios	Cocción, Maceración	Local		Alcohol	31, 41, 95, 115, 128
<i>Aristolochia oaxacana</i>	Oaxaca	NE	NE					36, 75
<i>Aristolochia orbicularis</i>	Guerrero, San Luis Potosí	Hojas, Tallo, Raíz, Toda la planta	Dérmico	0	Local		Alcohol	5, 46
			Digestivo	Cocción	Oral	2 a 3 cm de raíz		36, 51, 75, 94
			Síndrome de filiación cultural	Infusión	Local, Oral		Cataplasma	118, 119
			NE					36, 75, 119

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
			Nervioso	Cocción	Oral			46, 49
			Óseo-muscular		Local		Alcohol. Usada con: damiana ( <i>Turnera diffusa</i> ), salve real ( <i>Lippia dulcis</i> ) y Pericon ( <i>Tajetes lucida</i> )	5, 6, 36, 46, 49, 75
			Respiratorio		Local	Por 2 o 3 noches	Colocar en el cuello, no tomar agua fría ni estar con los pies mojados	5, 6, 51
			Varios					36, 75
<b><i>Aristolochia ovalifolia</i></b>	Oaxaca, Veracruz	Hojas, Tallo, Raíz, Corteza	Alexitére	Cocción, Maceración	Local	1/2L de agua de 6 a 12 horas. 1 trago, solo una vez se toma. 1 o 2 gotas en la parte afectada 1 sola vez.	Agua y aceite. 25 g en alcohol se deja reposar por 7 días	2, 8, 42, 45, 60, 75
			Antipiretica-Analgésica	Cocción		1/2L de agua de 6 a 12 horas		2, 38
			Cardiovascular					38
			Dérmico					38
			Digestivo	Cocción				38, 75
			NE					60, 68, 70, 75, 80

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
			Óseo-muscular	Cocción		1/2L de agua de 6 a 12 horas		2, 38
			Reproductivo					75
			Síndrome de filiación cultural					38
			Urinario					38
			Varios	0	Oral		Alcohol o vino, un traguito al día. Fermentación	8, 75
<b><i>Aristolochia paracleta</i></b>	Chiapas	Tallo	Digestivo					75
			Varios					75
<b><i>Aristolochia pentandra</i></b>	Jalisco, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Quintana Roo, Sinaloa, Tabasco, Veracruz, Yucatán	Hojas, Raíz, Tuberculo, Toda la planta	Alexitére		Local, Oral		Cataplasma. Masticar un pedazo	10, 36, 64, 70, 75
			Antipiretica-Analgesica	Cocción	Oral			9, 70, 120, 121, 132
			Cardiovascular	Cocción	Oral	5L de agua por 5 días por la mañana	Usada con <i>Lithospermum oblongifolium</i> , <i>Thyallis glauca</i> y <i>Mimosa albida</i>	9, 27, 70, 79, 120, 121
			Dérmico		Local		Cataplasma. Mezclada con masa, grasa y alcohol	27, 44
			Digestivo	Cocción	Oral			3, 10, 60, 64, 75
			NE					14, 34, 72, 75, 80
			Óseo-muscular		Oral			9, 64, 70, 120, 121, 132

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
			Otros		Local		Cataplasma. Mezclada con masa, grasa y alcohol	27, 44
			Reproductivo	Infusión	Oral			9, 60, 64, 70, 120, 121, 132
			Respiratorio					10
			Varios	Cocción	Oral			75
<b><i>Aristolochia peruviana</i></b>	Perú	NE	NE					75
<b><i>Aristolochia pilosa</i></b>	Chiapas, Oaxaca, Colombia, Honduras	NE	Alexitére			50g a 200g en alcohol, tintura 25 gotas o tomar una cucharadita cada hora		39, 70
			NE					75, 80
<b><i>Aristolochia pistolochia</i></b>	España	NE	Cardiovascular					63
			Reproductivo					63
			Varios					63
<b><i>Aristolochia pringlei</i></b>	Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos	Raíz	Alexitére	Maceración	Local	2 a 3 veces al día por 20 días	10g de raíz en 1/4L de alcohol	70, 75, 79, 91
			Antipiretica- Analgesica					76
			Dérmico					76
			Síndrome de filiación cultural	Infusión	Local, Oral		Cataplasma	118
			NE					70, 80, 119
			Varios					75, 76

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
<b><i>Aristolochia pueblana</i></b>	Puebla	Rizoma	Digestivo					60
<b><i>Aristolochia quercetorum</i></b>	Sinaloa, Sonora	Raíz, Tuberculo	Dérmico	Seca-molida	Local		Raíz tostada y mezclada con pinole. Se espolvorea en la llaga. Mezclada con manzanilla, goma de popal, polvo cernido y aceite o manteca "Inca"	2, 67
			Digestivo	Cocción	Oral	1/2 L de agua. 2 a 3 veces al día por 3 días	Usada con yebabuena, excursionera, sal y cal. Se toma en ayunas	2, 3, 67, 130
			Síndrome de filiación cultural		Local		Molido se pone en talco y se espolvorea en el cuerpo	2
			Varios					67
<b><i>Aristolochia rhizantha</i></b>	Oaxaca	NE	Antipiretica-Analgésica					75
			Cardiovascular					75
			Digestivo					75
<b><i>Aristolochia ringens</i></b>	El salvador	NE	NE					75
<b><i>Aristolochia rotunda</i></b>	NEM, España	Raíz	Alexitére					84
			Cardiovascular					57, 80, 84
			Dérmico					63, 84
			Reproductivo					84
			Varios					63

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
<i>Aristolochia ruiziana</i>	Ecuador, Perú	NE	NE					60, 75
<i>Aristolochia savannoidea</i>	Sinaloa	NE	NE					75
<i>Aristolochia serpentaria</i>	NEM, Estados Unidos	Raíz	Alexitére					17, 84
			Antipiretica-Analgésica					17
			Cardiovascular					76
			Digestivo					17, 76
			Inmunológico					84
			NE	Maceración, Seca	Oral	1g en tintura de quina		80, 131
			Reproductivo					76
			Respiratorio					17
Varios					76			
<i>Aristolochia sinaloae</i>	Chihuahua, Durango, Sinaloa	Raíz	Digestivo	Cocción				75
			NE					75
<i>Aristolochia sp.</i>	Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Colima, Durango, Estado de México, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Sinaloa, Tabasco, Veracruz, Yucatán, Brasil, Colombia	Hojas, Tallo, Raíz	Alexitére	Cocción, Maceración	Local, Oral		Cataplasma. Alcohol. Usada con flor de frijol y junto con infusión de borraja, agua de malva de hoja redonda.	24, 57, 70, 71, 75, 82, 106
			Antipiretica-Analgésica	Cocción, Infusión	Local, Oral	1/2 taza por 5 días	Puesto en el cuello con un hilo	9, 50, 82, 107, 111
			Auditivo					82
			Dérmico		Oral			9, 111
			Digestivo	Cocción	Oral	3-4g	Usada con flor de frijol	50, 70, 75, 76, 82
Inmunológico				Amarrado	98			

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
			NE			6-8g		36, 55, 70, 75, 82, 87, 103, 104, 125
			Nervioso-Cardiovascular		Local		Chiquiador	82
			Oftálmico					82
			Óseo-muscular	Cocción, Infusión, Maceración	Local, Oral	1 vez al día	Refregado. Alcohol. Puesto en el cuello con un hilo. Usada con: flor de frijol y trementina	5, 6, 70, 75, 80, 82, 106, 107
			Otros					106
			Reproductivo	Cocción	Oral			3, 82, 106, 107
			Respiratorio					131
			Síndrome de filiación cultural	Pomada	Local		Se mezclada con sebo. Se coloca en coyunturas. Puesto en el cuello con un hilo. Amarrado	16, 82, 98
			Urinario					62, 76, 82
			Varios	Infusión	Local		Cataplasma. Alcohol	70,76, 80, 82, 122
<b><i>Aristolochia styloglossa</i></b>	Oaxaca	NE	NE					75
<b><i>Aristolochia taliscana</i></b>	Colima, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Sinaloa, Veracruz	Hojas, Tallo, Toda la planta	Alexitére					28, 70
			Cardiovascular				Amarrar las piernas después del parto	88
			NE					70, 75, 78, 79, 80, 112

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
			Urinario					36
			Varios					3, 36, 75, 78
<b><i>Aristolochia tentaculata</i></b>	Guerrero, Michoacán	Tallo	Alexitére	Infusión				36, 60, 75
			Digestivo	Cocción	Oral			3
			NE					36, 75
			Varios					36, 60, 75
<b><i>Aristolochia tequilana</i></b>	Jalisco	NE	Alexitére					70
			NE					70, 80
<b><i>Aristolochia teretiflora</i></b>	Oaxaca	Flor, Raíz	Digestivo	Cocción	Oral			75
			Otros				Silbato, se corta la corola y se sopla	75
<b><i>Aristolochia tomentosa</i></b>	NE	NE	Varios					32, 100, 105, 117, 127
<b><i>Aristolochia triangularis</i></b>	Brasil, Paraguay	Tallo, Rizoma, Raíz	Alexitére					17
			Antipiretica-Analgésica					7, 17
			Cardiovascular					7, 17
			Dérmico					98
			Digestivo					7, 17
			Endocrino					17
			NE					31, 77, 123
			Óseo-muscular					7, 17
			Reproductivo	Infusión				7, 17
			Respiratorio					17
			Urinario					7
			Varios					7
<b><i>Aristolochia tricaudata</i></b>	Chiapas, Oaxaca	Hojas	Digestivo	Cocción	Oral	2 veces al día por 3 días	Se usan 6 hojas	75

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
			NE					70, 80
			Otros					36
<b><i>Aristolochia uhdeana</i></b>	Michoacán	NE	NE					70, 80
<b><i>Aristolochia valentina</i></b>	NEM	NE	NE					70, 80
<b><i>Aristolochia variifolia</i></b>	Guerrero, Oaxaca	NE	NE					70, 75, 80
<b><i>Aristolochia veracruzana</i></b>	Veracruz	NE	Alexitére					60
			Digestivo					60
			NE					47
			Otros					75
<b><i>Aristolochia versabilifolia</i></b>	Guanajuato, San Luis Potosí	Hojas	Digestivo	Cocción	Oral			35
			NE					56
			Urinario		Local, Oral		Baños	75
<b><i>Aristolochia watsonii</i></b>	Aguascalientes, Baja California, Baja California Sur, Chihuahua, Ciudad de México, Durango, Nayarit, Nuevo León, Puebla, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora	Hojas, Tallo, Raíz, Aerea, Toda la planta	Alexitére					70
			Antipiretica-Analgésica					96
			Cardiovascular					12
			Digestivo	Cocción	Oral	1/2 taza al día, no comer grasa	Usada con azúcar	12, 13, 21, 67, 96, 113, 129
			Endocrino		Oral			12, 113
			NE					70, 75, 80
			Síndrome de filiación cultural					28
			Urinario					129

Especie	Estados/país	Parte de la planta	Sistema	Forma de preparación	Vía de adms.	Dosis	Especificaciones	Referencia
			Varios	Cocción		1L de agua con 3 trozos de raíz junto. 1 Taza antes de cada alimento	Usada con pionia ( <i>Zexmenia podocephala</i> ), pezuña de vaca tostado y molida	13, 37, 67, 75
<b><i>Aristolochia wrightii</i></b>	Chihuahua, Coahuila	Tallo, Raíz	Antipiretica-Analgésica					20
			Digestivo					20
			NE					75, 80

## 12.2 LITERATURA ETNOBOTÁNICA

### # CITA

1	Actores sociales de la Flore Medicinal en México. 2000. Plantas Medicinales de Copalillo y Temalac, Guerrero. Instituto Nacional de Antropología e Historia. Serie de patrimonio vivo. Colegio Nacional de Ciencia y Tecnología. México. 5-6, 32 pp.
2	Aguilar-Contreras, A., Argueta, A. & Cano, L. 1985. Flora medicinal indígena de México. Treinta y cinco monografías del atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Instituto Nacional Indigenista. México. 141, 195, 270, 382, 1008, 1060, 1131-1132 pp.
3	Aguilar-Contreras, A., Camacho J. R., Chino S., Jaques, P., & López, M. E. 1994. Herbario medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Información etnobotánica, IMSS. México. 253 pp.
4	Aguilar-Contreras, A., Camacho, J., Chino, S. Jacquez, P. & López, M. 1998. Plantas medicinales del herbario IMSS. Su distribución por enfermedades. Instituto Médico del Seguro Social. México. 90 pp.
5	Alarcón, J. B. 1984. Huastec mayan ethnobotany. University of Texas. Estados Unidos de Norte América. 549-550 pp.
6	Alcorn J. 1983. Dynamics of huastec ethnobotany resources. Perception and resources management at Teenek Tsabaal. México. Ph.D Thesis. Austin University of Texas. Unated Stated of America. 992 p.
7	Alonso, J. 2004. Tratado de fitofármacos y nutraceuticos. Editorial Corpus. Argentina. 769-770 pp.
8	Álvarez, M. A. 1997. Estudio de plantas medicinales presentes en los huertos familiares de Balzapote, Veracruz. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 31, 79, 84 pp.
9	Amo, S. 1979. Plantas medicinales del estado de Veracruz. Instituto de investigaciones sobre los recursos bióticos. México. 15-16 pp.
10	Anderson, E., Cauich-Canul, J., Dzib, A., Flores-Guido, S., Islebe, G., Medina-Tzuc, F., Sánchez-Sánchez, O., & Valdez-Chale, P. 2005. Las plantas de los mayas: etnobotánica en Quintana Roo, México. El Colegio de la Frontera Sur. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). México, D.F. 206 pp.
11	Argueta, A. 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional. Instituto Nacional Indigenista, México. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Centro de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 34, 35, 127, 304-305 pp.
12	Azcarraga-Rosette, M.R. 2004. Un acercamiento etnobotánico al Valle de México, plantas útiles en siete mercados urbanos y periurbanos. Tesis de Doctorado. Posgrado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias. UNAM. 331 pp.
13	Bañuelos, N. 1994. Uso de plantas medicinales en la zona costera del municipio de Huatambampo, Sonora, medicina domestica Mayo. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 176 pp.
14	Barrera, A., Barrera-Vázquez, A. & López-Franco, R. 1976. Nomenclatura etnobotánica Maya. Colección Científica # 6. Secretaria de Educación Pública - Instituto Nacional de Antropología e Historia. México. 537 pp.
15	Baytelman, B. 1982. Etnobotánica del Estado de Morelos. Secretaria de Educación Pública-Instituto Nacional de Antropología e Historia. México.
16	Baytelman, B. 1993. Acerca de plantas y curanderos. Etnobotánica y antropología medica del estado de Morelos. Instituto Nacional de Antropología e Historia. Centro regional Morelos. 452 pp. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Centro de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 34, 35, 127, 304-305 pp.

**# CITA**

<b>17</b>	Berdonces, J. 2010. Gran enciclopedia de las plantas medicinales. Editorial Océano. España. 507, 540-541, 740-741, 769-772, 839 pp.
<b>18</b>	Breedlove, D.E. & Laughlin, R. 1993. The flowering of Man: A Tzotzil botany of Zinacantán. Smithsonian Institution. Smithsonian Contributions to Anthropology. Washington, Unidated Stated of America.
<b>19</b>	Brun, R., Schmid, C., Weiss, C., Bruggisser, R., Gersch, J., Wasescha, M., Sticher, O., Ankli A., M. Heinrich, P. Bork, L. Wolfram, P. Bauerfeind. 2002. Yucatec Mayan medicinal plants: evaluation based on indigenous uses. Journal of Ethnopharmacology. 79(1): 43-52 pp.
<b>20</b>	Bye, R. 1985. Medicinal plants of the Tarahumara Indians of Chihuahua, Mexico. Citado en: Tyson, R. & Elrick, D. Two mummies from Chihuahua: A multidisciplinary study. San Diego Museum. (19): 77-104 pp.
<b>21</b>	Bye, R., Mendoza, M., Morales, G., Hilerio, M., Rodríguez, J., Toledo, G., Linares, E., Herrera, E. & Timmermann, B. 2000. Convenio sobre la Diversidad Biológica y la Conservación en la Selva Baja Caducifolia en México: una experiencia. Citado en: Monroy R., Colín, H. & Boyas-Delgado, J. C. Los sistemas agroforestales de Latinoamérica y la Selva Baja Caducifolia en México. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Centro de Investigaciones Biológicas. Laboratorio de Ecología: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Morelos, México. 233-251pp.
<b>22</b>	Caballero, J., Toledo, V., Argueta, A., Aguirre, E., Rojas, P. & Viccon, J. 1978. Estudio botánico y ecológico de la región del río Uxpanapa Veracruz. México. Flora útil o el uso tradicional de las plantas. Biótica, 3(2) 103-144 pp.
<b>23</b>	Carrillo C. 2012. Las plantas en la vida de los pueblos de la Chinantla Baja. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 376 pp.
<b>24</b>	Casas, A., Viveros, J. & Caballero, J. 1994. Etnobotánica Mixteca: sociedad, cultura y recursos naturales en la montaña de Guerrero. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes e Instituto Nacional Indigenista. México.
<b>25</b>	Catálogo de plantas del Jardín Botánico de Cuernavaca. Instituto Nacional de Antropología e Historia. México. 68 pp. Citado en: Rojas, M. 2008. Tratado de Medicina Tradicional Mexicana. Bases históricas, teoría y práctica clínico-terapéutica. Volumen 2. Editorial Tlahui, México. 1336-1337 pp.
<b>26</b>	Cedillo, E. 1990. Las plantas útiles del Municipio de Tepoztlán, Morelos. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. 80-81,425 pp.
<b>27</b>	Chong, F. & Gómez, S. 1985. Conocimiento y uso medicinales de la flora de Amatlán, Municipio de Tepoztlán, Morelos. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 66, 104, 108 pp.
<b>28</b>	Cifuentes, E. & Ortega, M. 1990. Herbolaria y tradiciones etnomédicas en un pueblo Nahua. Coordinación de la Investigación Científica. UNAM, México. 146 pp.
<b>29</b>	Díaz, J. L. 1977. Uso de las plantas medicinales de México. Monografías científicas. Volumen 2. IMEPLAN. México. 330 pp. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Centro de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 34, 35, 127, 304, 305 pp.
<b>30</b>	Dibble, C. E. & Anderson, J. O. 1909. Sahugun Bernardino de 1499-1590, General History of the Things of New Spain, Florentine Codex 1950. Citado en: Jane, E. 1989. El códice Florentino, su información etnobotánica. Colegio de Posgraduados. México.
<b>31</b>	Duke, A. J. 2005. Dr. Duke's phytochemical and ethnobotanical Data bases. 55 pp. Citado en: Waizel, J. 2012. Las plantas y su uso antitumoral con un futuro prometedor. IPN. México. 53-55 pp.

**# CITA**

32	Duke A. J. & Foster. 1990. A Field guide to medicinal plants of eastern and central North America, New York. 55 pp. Citado en: Waizel, J. 2012. Las plantas y su uso antitumoral con un futuro prometedor. IPN. México. 53-55 pp.
33	Espinosa, A. J. 1985. Plantas medicinales de la huasteca hidalguense. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 39 pp.
34	Espinosa, J., Centurión, D., Mayo, A., Cazares, J. & Poot, J. 2012. Conocimiento tradicional de la flora tropical tabasqueña. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México. 168 pp.
35	Estrada, E. 1984. Plantas medicinales y los sistemas tradicionales de curación del municipio Dr. Mora, Guanajuato. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores, Iztacala. UNAM. 61-306 pp.
36	FCME
37	Felger, R. & Moser, M. 1983. People of the desert and sea. Ethnobotany of the seri indians. University of Arizona Press. Tucson, Arizona, Unated Stated of America. 435 pp.
38	Frei, B. 1997. Medicinal ethnobotany of the Isthmus. Sierra Zapotecs (Oaxaca, Mexico) and biological-phytochemical investigation of selected medicinal plants. Marmota, Switzerland. 380 pp.
39	García, E. 1896. Los ofidios venenosos del Cauca: métodos empíricos y racionales empleados contra los accidentes producidos por la mordedura de esos reptiles. Fundación Editorial Epígrafe. Ciencias Naturales. Colombia. 82-87 pp.
40	García, L. 1980. Contribución al estudio y muestreo de 50 plantas medicinales mexicanas. Tesis de de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
41	Gatti, A. B. 2004. Allelopathic activity of aqueous extracts of <i>Aristolochia esperanzae</i> in the germination and growth of <i>Lactuca sativa</i> and <i>Raphanus sativus</i> . Acta Botánica Brasilica. 18 (3): 459-472. Citado en: Waizel, J. 2012. Las plantas y su uso antitumoral con un futuro prometedor. IPN. México. 53-55 pp.
42	Gispert, M. & Gómez-Campos, A. 1986. Plantas medicinales silvestres: el proceso de adquisición, transmisión y colectivización del conocimiento vegetal. Biótica. 11 (2) 113-125.
43	Gispert. M., Diego, N., Jiménez, J., García, L. & Gómez, A. 1977. Etnobotánica de las plantas medicinales empleadas en Balzapote, Veracruz. Citado en: Viesca, C. Estudios sobre etnobotánica y Antropología Medica. Instituto Mexicano para el estudio de las plantas medicinales. Centro de Estudios Económicos y Sociales del tercer mundo. México. 91 pp.
44	Gómez, L. & Chong, E. 1985. Conocimiento y usos de la flora de Amatlan, municipio. de Tepoztlán, Morelos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 185 pp.
45	Gómez-Campos, A. 1980. Conocimiento y uso de las plantas medicinales de la selva alta perennifolia en un asentamiento humano, Balzapote, Veracruz. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 32-34 pp.
46	Gómez-Campos, A. Etnobotánica de 3 compuestos medicinales tradicionales en Xochipala, Guerrero, México. 142-150 pp.
47	Gómez-Pompa A., Krömer, T. & Castro-Cortés, R. 2010. Atlas de la flora de Veracruz. Un patrimonio natural en peligro. Gobierno del Estado de Veracruz: Comisión del estado de Veracruz para la Conmemoración de la Independencia Nacional y la Revolución Mexicana: Universidad Veracruzana. México.
48	Gonzáles, E. Plantas medicinales que se comercializan en el municipio de Cuautla Morelos. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos. 64 pp. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos.

**# CITA**

	Centro de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 34, 35, 127, 304, 305 pp.
49	González, A. 2012. Etnobotánica: factores de cambio en el uso tradicional de la flora de Xochipala, Guerrero. Tesis de licenciatura. Facultad de Filosofía y Letras. UNAM. 150 pp.
50	González, S. 1982. Contribución a la etnobotánica de la costa de Oaxaca, entre los puertos de Salina Cruz y Puerto Ángel. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 53 pp.
51	Guillen, T. & Osuna, R. 2002. Efecto repelente significativo de <i>Aristolochia orbicularis</i> sobre el picudo de maíz y el escarabajo de la harina. Memorias del primer congreso latinoamericano de herbolaria. México. 213 pp.
52	Gutiérrez, M. & Acero, T. Inventario de plantas medicinales de un municipio zoque: Copainala Chiapas: México. Instituto de Historia Natural y Ecología de Chiapas. Chiapas, México. 67 pp.
53	Guzmán, A. 1981. Etnobotánica mexicana: plantas popularmente usadas para combatir enfermedades de la piel. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 19 pp.
54	Habbi, A. M. & Elsebakhy, N. A. 1981. Ent-kaurene and cubebin as natural products from <i>Aristolochia elegans</i> . <i>Pharmazie</i> . 36, 291-294 pp. Citado en: Waizel, J. 2012. Las plantas y su uso antitumoral con un futuro prometedor. IPN. México. 53-55 pp.
55	Hernández, F. 1934- 1977. Historia de las plantas de la nueva España. Instituto de Biología de la UNAM. 1103 pp. Citado en: Waizel, J. 2006. Las plantas medicinales y las ciencias Una visión multidisciplinaria. IPN. México. 34, 339 pp.
56	Hernández, L., Pantoja, Y. & Martínez, M. 2012. Plantas útiles y distribución potencial de las forrajeras, medicinales y de uso múltiple. Citado en: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). La Biodiversidad en Guanajuato. Estudio de Estado. Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato. México. 274-289 pp.
57	Hersch-Martínez, P. 2000. Plantas medicinales: relato de una posibilidad confiscada, Estatuto de la flora en la biomedicina mexicana. Colección científica. México. 221, 433, 477 497 pp.
58	Hersch-Martínez, P., Fierro, A., Guerrero-Borda, C. & González-Chávez, L. 2000. Tendencias en la progresión de la colecta de algunas especies medicinales silvestres de relevancia comercial en la colindancia de Puebla y Guerrero. Citado en: Monroy R. Los sistemas agroforestales de Latinoamérica y la Selva Baja Caducifolia en México. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Centro de Investigaciones Biológicas. Laboratorio de Ecología: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Morelos, México. 573-580 pp.
59	Index Kewensis on compact disc. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Centro de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 34, 35, 127, 304, 305 pp.
60	IPN
61	Isidro-Vázquez, M. A. 1997. Etnobotánica de los Zoques de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Instituto de Historia Natural. Departamento de Botánica. Oficina de Etnobotánica. Gobierno del Estado de Chiapas. México. 125 pp.
62	Kffuri, C., Chechetto, F. & Ming, L. 2010. Plants used to treat genito urinary system disorders in a rural community in the zona da Mata of Minas Gerais, Brazil. <i>Revista de Fitoterapia</i> . 10 (51).
63	Lázaro, B. 2008. Plantas medicinales. Editorial Maxtor. Barcelona, España. 46-48 pp.

**# CITA**

<b>64</b>	Magaña-Alejandro, M.A. 2009. Conocimiento tradicional de las plantas medicinales en cinco comunidades maya-chontales del municipio de Nacajuca, Tabasco. Tesis de Doctorado. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 378 pp.
<b>65</b>	Maldonado, A. B. 1997. Aprovechamiento de los recursos florísticos de la sierra de Huautla, Morelos, México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. 47, 120 pp.
<b>66</b>	Maldonado, B., Ortiz, A. & Dorado, O. 2004. Preparados Galénicos e imágenes de plantas medicinales. Una alternativa para promotores de la salud en la reserva de la Biosfera, Sierra de Huautla. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 51 pp.
<b>67</b>	Márquez-Salazar, G. 1997. Etnobotánica Yoreme (Mayos) en dos comunidades del Norte de Sinaloa. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM.
<b>68</b>	Martínez, M. & Cornejo- Tenorio, G. 2015. Frutos y semillas del bosque tropical perennifolio, región de los Tuxtlas, Veracruz. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). México. 64 pp.
<b>69</b>	Martínez, M. 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México. Citado en: Waizel, J. 2006. Las plantas medicinales y las ciencias: una visión multidisciplinaria. IPN. México. 34, 339 pp.
<b>70</b>	Martínez, M. 2011. Plantas medicinales de México. Ediciones Botas. México.
<b>71</b>	Martínez-Alfaro, M.A., Chavelas, J. & Wing, E. 1982. Appendix I. A guide to the flora of San Lorenzo Tenochtitlán. Citado en: Coe, M.D & Diehl, R. A. In the land of the Olmec. University of Texas Press. Austin and London, Unated State of America. 157-180 pp.
<b>72</b>	Mata, M. S. 1983. Estudio etnobotánico de las plantas medicinales entre los zoquepopoluca de Piedra Labrada, Veracruz. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores, Iztacala. UNAM. 35 pp.
<b>73</b>	Martínez, H. 2008. Etnobotánica de los recursos herbolarios de los Navas Atapexco, Hidalgo. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 83 pp.
<b>74</b>	Méndez-González, M. 2014. Guía ilustrada de la colección de plantas medicinales "Miguel Ángel Martínez Alfaro". Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán, México. 10-11 pp.
<b>75</b>	MEXU
<b>76</b>	Monardes, N. 1992. Herbolaria de Indias. Instituto Mexicano del Seguro Social. México. 179-181 pp.
<b>77</b>	Mongelli, E., Pampuro, S., Coussio, J., Salomon, H. & Ciccía, G.2000. Cytotoxic and DNA interaction activities of extracts from medicinal plans used in Argentina. Journal of Ethnopharmacology. 71(1-2):145-151. Citado en: Waizel, J. 2012. Las plantas y su uso antitumoral con un futuro prometedor. IPN. México. 53-55 pp.
<b>78</b>	Monroy, R., Palacios, G. & González, E. 1986. Comercialización de plantas, evidencia de su diversidad. Expresión Universitaria. 12: 16-20. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Monroy, R. 2006. Las plantas, compañeras de siempre, la experiencia de Morelos. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 517 pp.
<b>79</b>	Monroy-Ortiz, C. & Castillo-España, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Centro de Investigaciones Biológicas. Morelos, México. 399 pp.
<b>80</b>	Mota. J. 1891. Estudio sobre el tacopatlé. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina. UNAM.
<b>81</b>	Muciño, J. M. & Sesse, M. La real expedición botánica a la Nueva España. Ediciones XXI. Volumen 2. 360 pp.
<b>82</b>	Navarro, J. 1992. Historia Natural o Jardín Americano (manuscrito 1801). UNAM, México. 144-146,180-181, 208-209, 292, 298, 298 pp.

**# CITA**

<b>83</b>	Negrete, G. 1991. Etnobotánica de las plantas empleadas en las afecciones de la piel Xochipala, Guerrero. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 51, 59 pp.
<b>84</b>	Noriega, J. M. 1902. Historia de las drogas. Instituto Medico Nacional. Oficina tipográfica de la Secretaria de Fomento. México. 288-296 pp.
<b>85</b>	Nota informática de la agencia Española del medicamento. 2000. Nefropatía irreversible por la utilización de las especies vegetales de <i>Aristolochia</i> spp. 2000 revista de Fitoterapia. 1(3): 209-214. Citado en: Vanadocha, B. & Cañigüeral, S. 2003. Fitoterapia. Editorial Masson España. Barcelona. 126.
<b>86</b>	O'Gorman, H. 1963. Plantas y flores de México. Dirección General Pública. UNAM, México. Citado en: García, L. M. Contribución al estudio y muestreo de 50 plantas medicinales mexicanas.
<b>87</b>	Ocaraza, F. 2014. Historia de la medicina en México. Laboratorio Medi. México. 214pp. Citado en: Waizel, J. 2006. Las plantas medicinales y las ciencias: una visión multidisciplinaria. IPN, México. 34, 339 pp.
<b>88</b>	Ochoa, M. P. 1989. Las plantas medicinales empleadas por las parteras del ejido "El Quemado", Guerrero. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 84 pp.
<b>89</b>	Ordorica, M. E. 1990. Contribución al conocimiento de la flora medicinal del estado de Baja California Sur. Tesis de licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN. 25 pp.
<b>90</b>	Ortega-Ortiz, J. & Ortega-Ortiz, R. 1997. Aristolochiaceae, Flora de Veracruz. Instituto de Ecología University of California. Riverside. México. 48 pp. Citado en: Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Centro de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 34, 35, 127, 304, 305 pp.
<b>91</b>	Ortiz, A. 1986. Contribución al conocimiento de las plantas medicinales de Xoxotla, Morelos. Tesis de licenciatura. Escuela de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca Morelos. 66 pp. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Centro de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 34, 35, 127, 304, 305 pp.
<b>92</b>	Ortiz, A. 1988. Las plantas medicinales de Xoxocotla. Medicina Alternativa. México. 166-210 pp. Citado en: Rojas, M. 2008. Tratado de Medicina Tradicional Mexicana. Bases históricas, teoría y práctica clínico-terapéutica. Volumen 2. Editorial Tlahui. México. 1336-1337 pp.
<b>93</b>	Ossado, R. 1834. El libro del judío o medicina domestica: descripción de las virtudes de las yerbas medicinales de Yucatán. Mérida, Yucatán. México. 296 pp. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Centro de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 34, 35, 127, 304, 305 pp.
<b>94</b>	Osuna, H., Laguna, G. & Brechu, A. Memorama de pantas medicinales de huertos familiares. La prensa de Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM. 17 pp.
<b>95</b>	Parrilla, L. 2003. Jardín etnobotánico, Museo de medicina tradicional y herbolaria, Cuernavaca Morelos. Instituto Nacional de Antropología e Historia. México. 131, 231 pp.
<b>96</b>	Pennington, C. 1963. The Tarahumara of Mexico: Their environment and material culture. University of Utah Press. Unated State of America. 267 pp.
<b>97</b>	Pérez, A. 2001. Enciclopedia de las plantas medicinales. Descubra la sabiduría tradicional que encierran las plantas y cuide su salud de modo más natural. Editorial Edimat Libros. México. 65 pp.
<b>98</b>	Pérez, J. 1957. Plantas mágicas Americanas. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Instituto Bernardino de Sahagún. Madrid, España. 125-126, 130, 137,156 pp.

**# CITA**

<b>99</b>	Pérez-Toro, A. & Sousa, N. Las plantas medicinales de Yucatán. Tesis de licenciatura. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Centro de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 34, 35, 127, 304, 305 pp.
<b>100</b>	Pettit, G. R., Pierson, F. & Herald, C. 1994. Anticancer drugs from animal plants and microorganism. Anticancer botanical In cyber botanica. New York, United State of America. 670 pp. Citado en: Waizel, J. 2012. Las plantas y su uso antitumoral con un futuro prometedor. IPN, México. 53-55 pp.
<b>101</b>	Popoca S. J., Villarrel- Ortega, M. & Aguilar-Contreras, A. 1996. Actividad citotóxica de extractos orgánicos derivados de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana como antitumorales. Resumen de ponencias del 1er congreso nacional de plantas medicinales de México en Tlaxcala. En: Resumen de ponencias del primer Congreso Nacional de Plantas Medicinales de México. 84-85 pp. Citado en: Waizel, J. 2006. Las plantas medicinales y las ciencias Una visión multidisciplinaria. IPN, México. 34, 339 pp.
<b>102</b>	Pulido, M. & Serralta, L. 1993. Lista anotada de las plantas medicinales de uso actual en el estado de Quintana Roo. Centro de Investigaciones de Quintana Roo. México. 7 pp.
<b>103</b>	Quevedo, Y. 2015. Plantas medicinales: un estudio de caso etnobotánico en la localidad de Ocotepc, municipio de Cuernavaca, Morelos. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 47, 114, 130, 190 pp.
<b>104</b>	Ramírez, J. & Alcocer, G. 1902. Sinonimia Vulgar y científica de las plantas mexicanas. Oficina Tipográfica de la Secretaria de Fomento. México. 160pp. Citado en: Waizel, J. 2006. Las plantas medicinales y las ciencias: una visión multidisciplinaria. IPN, México. 34, 339 pp.
<b>105</b>	Rastrelli, L., Capasso, A., Pizza, C., De Tommasi, N. & Sorrentino, L. 1997. New protopine and benzyltetrahydro peotoberberine alkaloids from <i>Aristolochia constricta</i> and ther activity on isolated guinea pig ileum. Journal of Natural products. 60 (1): 1065-1069 pp. Citado en: Waizel, J. 2012. Las plantas y su uso antitumoral con un futuro prometedor. IPN, México. 53-55 pp.
<b>106</b>	Revista Guía México desconocido.1997. A males...Remedios: Padecimientos y plantas medicinales. Plantas que curan. Guía México desconocido. Edición especial. 34 pp.
<b>107</b>	Rodríguez, T. 1994. Prácticas terapéuticas y plantas medicinales utilizadas en los aspectos ginecológicos de los Nahuas de San Luis Potosí. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores, Iztacala. UNAM. 9 pp.
<b>108</b>	Rodríguez-López, T. 2003. Manejo y conservación de las plantas medicinales comerciales, en el Municipio de Copalillo, Guerrero. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. 161 pp.
<b>109</b>	Romero, C. 1981. Etnobotánica de los huertos familiares en los Ejidos Habaneros 2da sección de H. Cárdenas y Mantilla de Cunduacan, Tabasco. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 226 pp.
<b>110</b>	Royal Botanic Gardens Kew Version 2.0 Oxford University Press New York. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Centro de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 34, 35, 127, 304, 305 pp.
<b>111</b>	Roys, R. L. 1931. The ethnobotany of the Mata. Te tulane University of Louisiana. Middle American Research Series Publication. 2: 213-316 pp. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Centro de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 34, 35, 127, 304, 305 pp.

**# CITA**

112	Ruenes-Morales, R. 1993. Estudio de los huertos familiares en los ejidos "El Ahuacate" y "Adolfo López Mateos" de la sierra de San Juan, Nayarit. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. 144 pp.
113	Senties, A. 1984. Plantas medicinales y sistemas tradicionales de curación del valle de Tehuacán, Puebla. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 205-260 pp.
114	Serralta, L. 1996. Centro de Investigaciones de Quintana Roo, Chetumal. México. 7 pp.
115	Shi, L.S., Kuo, P.C., Tsai, Y.L., Damu, A.G. & Wu, T.S. 2004. The alkaloids and the other constituents from the roots and stem of <i>A. elegans</i> . Bioorganic and Medicinal Chemistry. 12 (2): 439-446 pp. Citado en: Waizel, J. 2012. Las plantas y su uso antitumoral con un futuro prometedor. IPN, México. 53-55 pp.
116	Simeón, R. 1984. Diccionario de la lengua Náhuatl o mexicana. Editorial Siglo XXI. México. 783pp. Citado en: Lugo, E. 1989. El código Florentino: Su información etnobotánica. Código de Posgraduados. México. 325 pp.
117	Snyder, A. L. 1997. Table "F" other Anticancer botanical. Cyberbotanical. 55 pp. Citado en: Waizel, J. 2012. Las plantas y su uso antitumoral con un futuro prometedor. IPN, México. 53-55 pp.
118	Soto, J. & Sousa, M. 1995. Plantas medicinales de la cuenca del Río Balsas. Cuaderno 25. Instituto de Biología. UNAM, México. 67, 75, 88, 101, 117, 122, 144-145 pp.
119	Soto, J. C. 1987. Las plantas medicinales y su uso tradicional en la cuenca del Río Balsas, estados de Michoacán y Guerrero. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 106, 107, 118, 127, 134, 138, 139, 166, 167 pp.
120	Souza, N. 1942. Plantas medicinales. Mérida, Yucatán. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Centro de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 34, 35, 127, 304, 305 pp.
121	Standley, P.C. 1930. Flora de Yucatán. Field Museum of Natural History 3: 157-492. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Centro de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 34, 35, 127, 304, 305 pp.
122	Tappan, C. E. 1980. Contribución al estudio medicinal de algunas plantas en la medicina veterinaria. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, México.
123	Taylor, L. 2005. The healing power of rainforest herbs. Tropical plant Database. 53, 65 pp. Citado en: Waizel, J. 2012. Las plantas y su uso antitumoral con un futuro prometedor. IPN, México. 53-55 pp.
124	Torres, B. 1978. Datos etnobotánicos de Coatlán del Río, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM.
125	Valdés, J., Flores, O. & Ochoterena, H. 1992. La botánica en el código de la Cruz en J. Kumite <i>et al</i> 1992. Estudios actuales sobre Libellus de Medicinallibus Indorum Herbis, Secretaria de Salud, México 129-180 pp. Citado en: Waizel, J. 2006. Las plantas medicinales y las ciencias: una visión multidisciplinaria. IPN, México. 34, 339 pp.
126	Vázquez, I. & Moreno, M. Plantas medicinales de Ocuilapa una comunidad zoque de Chiapas, Instituto de Historia Natural y Ecología. Citado en: Gutiérrez, M. & Acero, T. 2002. Inventario de plantas medicinales de un municipio Zoque: Copainala, Chiapas: México. Memorias del congreso latinoamericano de herbolaria. México. 41 pp.
127	Vila, R., Mundina, M., Muschiatti, L., Priestap, H., Bandoni, A., Adzet, T. & Cañigueral, S. Volatile constituents of leaves, roots and stem from <i>Aristolochia elegans</i> . Phytochemistry. 46 (6): 1127-1129 pp. Citado en: Waizel, J. 2012. Las plantas y su uso antitumoral con un futuro prometedor. IPN, México. 53-55 pp.

**# CITA**

- |            |  |
|------------|--|
| <b>128</b> | Wu, T. 2004. Terpenoids of Aristolochia and their biological activity. <i>Natural Products Reports</i> 21 (5): 594-624 pp. Citado en: Waizel, J. 2012. <i>Las plantas y su uso antitumoral con un futuro prometedor</i> . IPN, México. 53-55 pp.   |
| <b>129</b> | Yetman, D. & Van Devender, T. 2002. <i>Mayo ethnobotany: land, history and traditional knowledge in Northwest Mexico</i> . University of California Press. Berkeley. United State of America. 359 pp.  |
| <b>130</b> | Yetman, D. 2002. <i>The Guarijios of the Sierra Madre. Hidden people of Northwestern Mexico</i> . University of New Mexico Press. Albuquerque. Unated Stated of America. 270 pp.   |
| <b>131</b> | Younken, H. 1951. <i>Tratado de farmacognosia</i> . Editorial Atlante. México. 367-370 pp.   |
| <b>132</b> | Zapata, A. 1979. <i>El libro del judío o medicina doméstica. Descripción de las virtudes de las yerbas de Yucatán y las enfermedades a que se aplican</i> . Mérida, Yucatán, México. 269 pp. Citado en: Monroy-Ortiz, C. & Castillo, P. 2000. <i>Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos</i> . Centro de investigaciones biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 34, 35, 127, 304-305 pp. |

### 12.3 REACTIVOS QUÍMICOS

Reactivo de Márquis:

Formaldehído al 40%, se toman 3-4 gotas y se disuelven en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 10%. Se revela la placa con ayuda de un algodón desengrasado previamente.

Reactivo de Draggendorff:

Se realizaron dos soluciones:

Solución A: 0.85 g de nitrato de bismuto  
10 mL de ácido acético glacial  
40 mL de agua destilada

Solución B: 10 g de yoduro de potasio  
40 mL de agua destilada

El reactivo se prepara al momento de su utilización mezclado 1:1 cada una de las soluciones.

## 12.4 REACTIVOS PARA LA PRUEBA DE MIELOPEROXIDASA

Preparación de las soluciones y reactivos requeridos en el ensayo

- *Buffer de fosfatos (PBS) 80 mM, pH= 5.4*

Pesar las siguientes sales y aforar a 500 mL.

KCl .....	100 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	5, 244 mg
NaCl .....	4, 000 mg
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12 H <sub>2</sub> O.....	524.5 mg

*HTAB (Bromuro de hexadecitrimetil amonio) 0.5 %*

Pesar 0.5 g de HTAB y aforar a 100 ml con PBS 80 mM, pH= 5.4

- *3, 3', 5, 5'-tetrametilbenzidina (TMB) 18.4 mM*

El reactivo se prepara en una solución de dimetilformamida (DMF) al 50 % en agua. El TMB se disuelve primero en DMF y después se agrega la misma cantidad de H<sub>2</sub>O desionizada para completar el volumen final usando la siguiente relación:

$$18.4 \text{ mM} = 4.42 \text{ mg/ml}$$

- *Peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 0.017 %*

*Solución A (concentrado):* peróxido de hidrógeno 1.7 %.

Tomar 170  $\mu$ L de peróxido de hidrógeno al 30 % y aforar a 10 ml con agua desionizada.

*Solución B (de trabajo):* peróxido a 0.017 %, tomar los volúmenes señalados en la siguiente tabla.

Volumen de solución de trabajo a preparar (ml)	Alícuota solución A ( $\mu$ L)	Agua desionizada (mL)
10	100	9.9
20	200	19.8
30	300	29.7

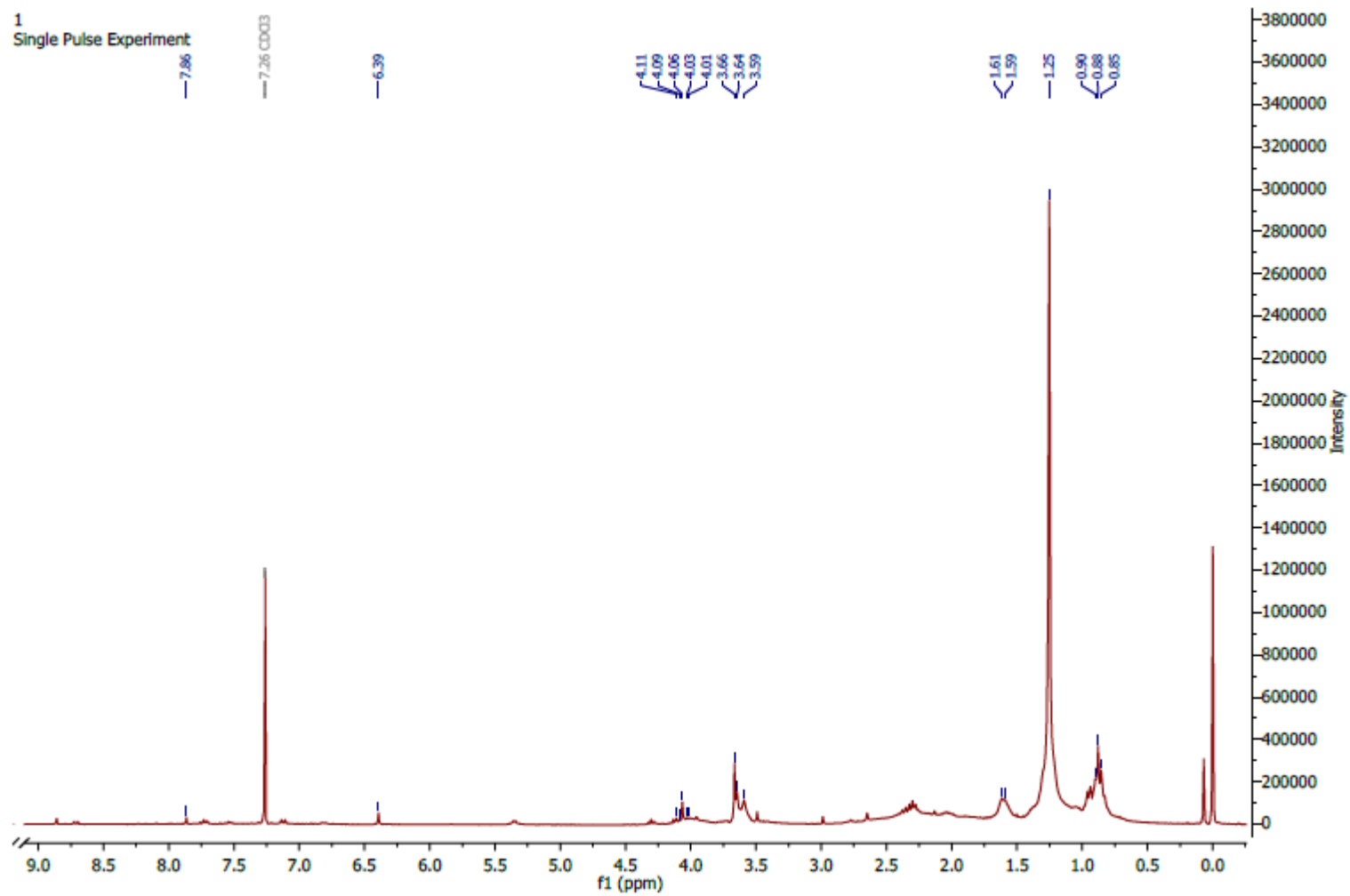
- *H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 M)*

Tomar 10.66 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y aforar a 100 mL con agua des ionizada.

**Precaución:** colocar en el matraz aproximadamente 50 ml de agua fría y agregar lentamente el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para evitar proyecciones de la solución.

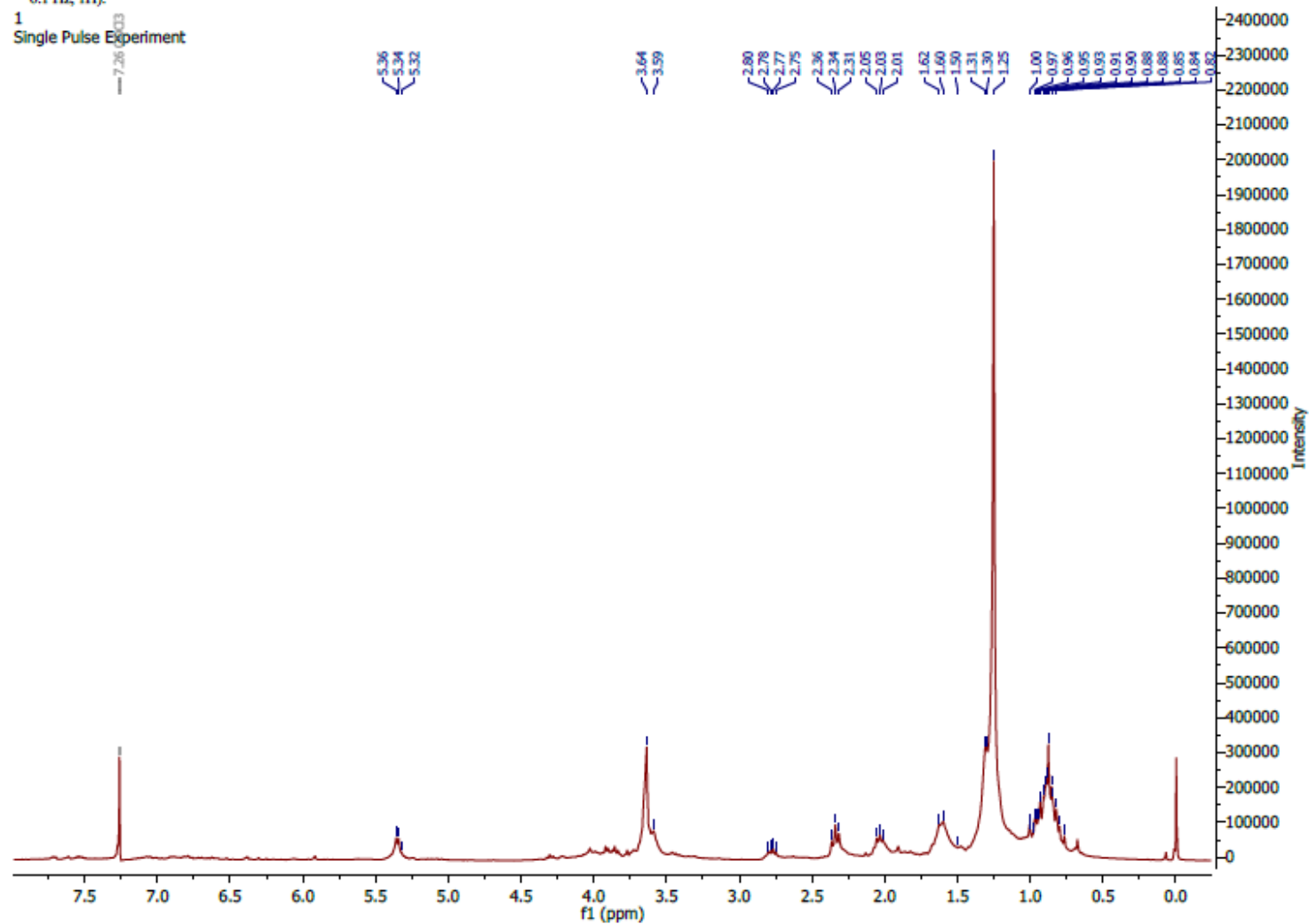
## 12.5 RMN H<sup>+</sup> DE. FRACCIONAMIENTO EN PLACA PREPARATIVA FRACCIÓN 1

<sup>1</sup>H NMR (301 MHz, Chloroform-*d*) δ 3.69 – 3.53 (m, 1H), 1.66 – 1.54 (m, 1H), 1.25 (s, 1H), 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H).



## FRACCIÓN 2

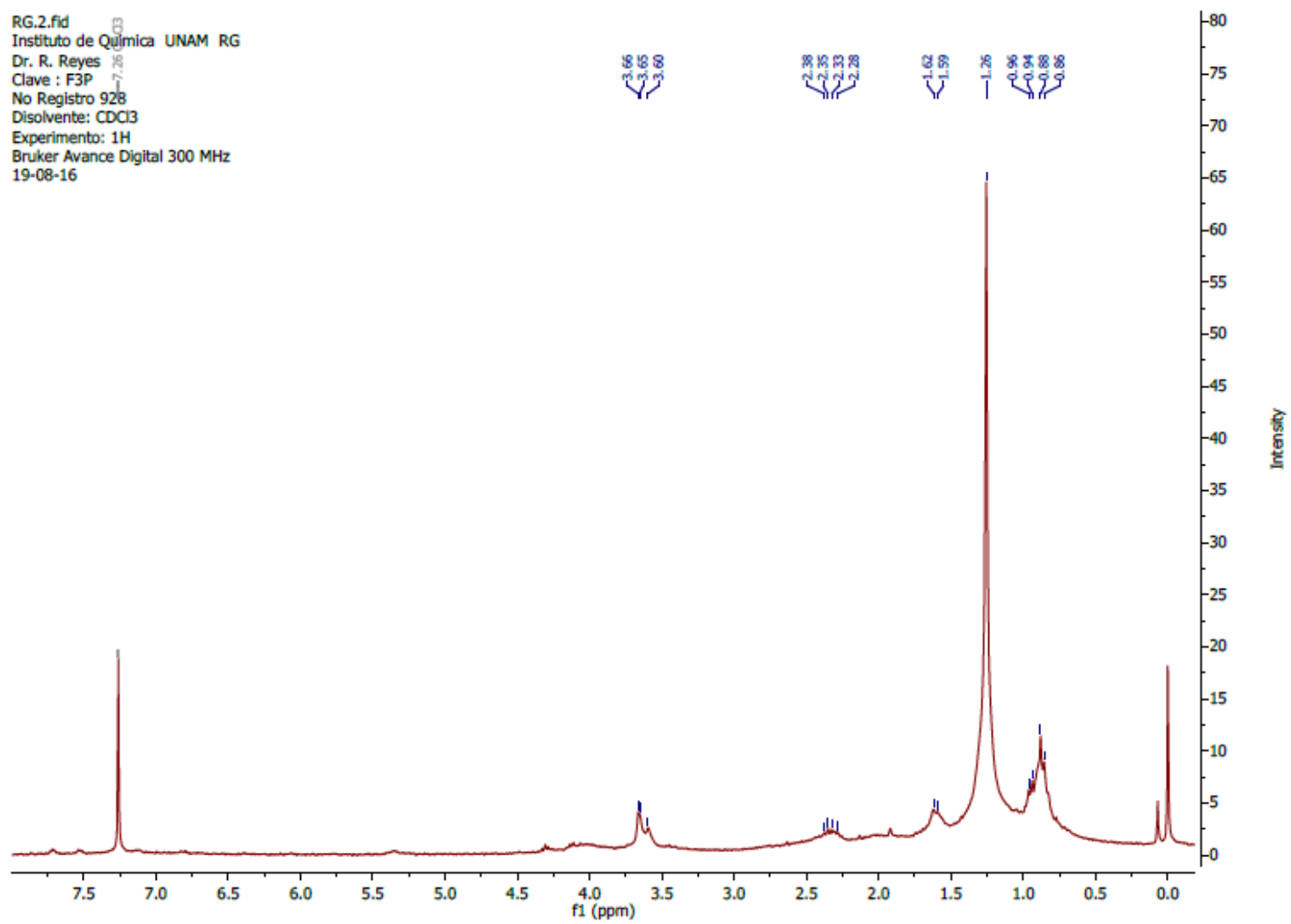
$^1\text{H}$  NMR (301 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  5.35 (d,  $J = 5.4$  Hz, 0H), 3.61 (d,  $J = 14.3$  Hz, 0H), 2.85 – 2.67 (m, 0H), 2.34 (t,  $J = 7.4$  Hz, 0H), 1.27 (d,  $J = 14.3$  Hz, 1H), 0.90 (dddd,  $J = 26.1, 23.2, 11.7, 6.1$  Hz, 1H).



### FRACCIÓN 3

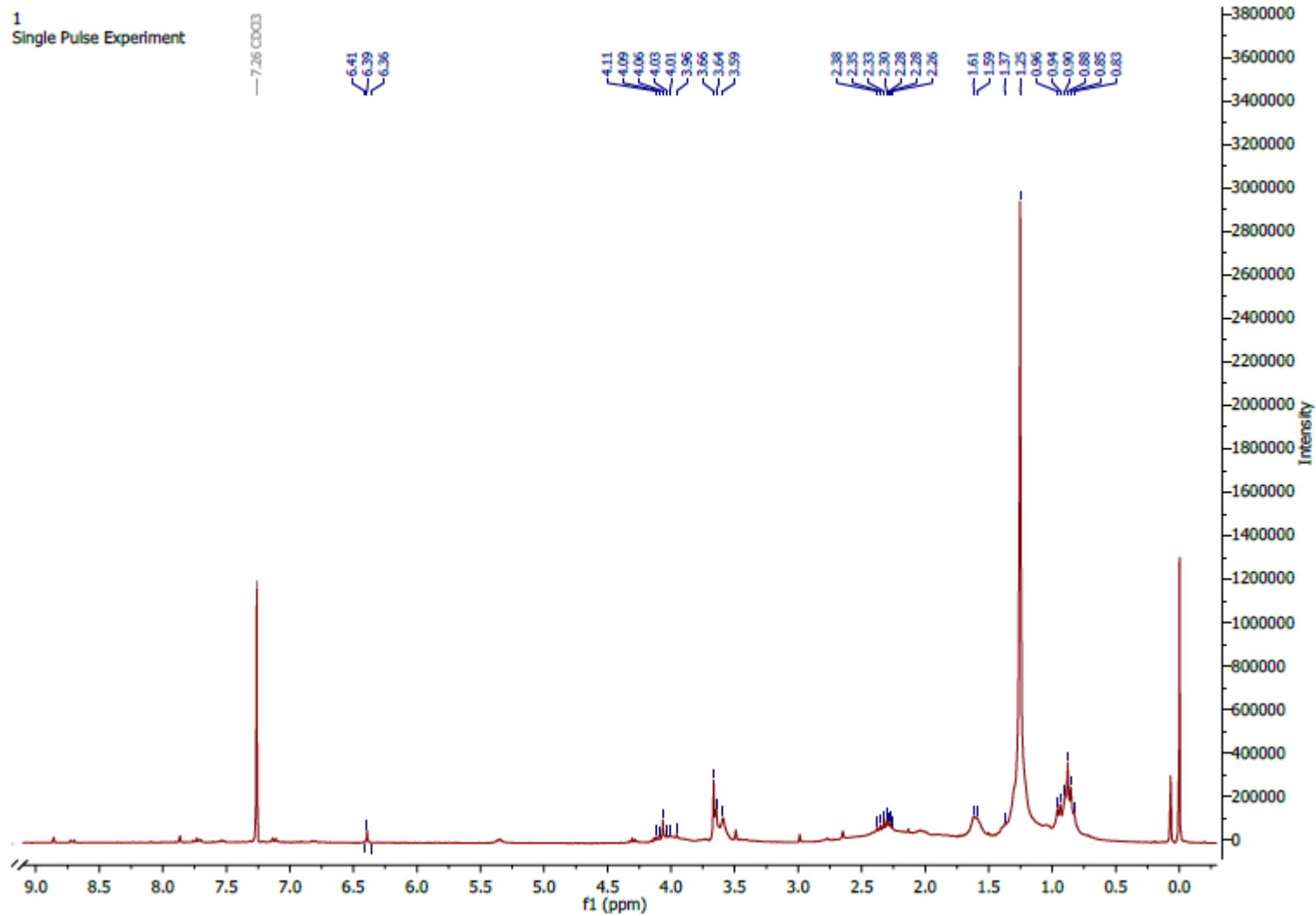
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  3.70 – 3.53 (m, 1H), 2.33 (dd,  $J = 17.7, 10.0$  Hz, 1H), 1.60 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 1.26 (s, 3H), 0.91 (dd,  $J = 24.4, 7.2$  Hz, 3H).

RG.2.fid  
Instituto de Química UNAM RG  
Dr. R. Reyes  
Clave : F3P  
No Registro 928  
Disolvente: CDCl<sub>3</sub>  
Experimento: 1H  
Bruker Avance Digital 300 MHz  
19-08-16



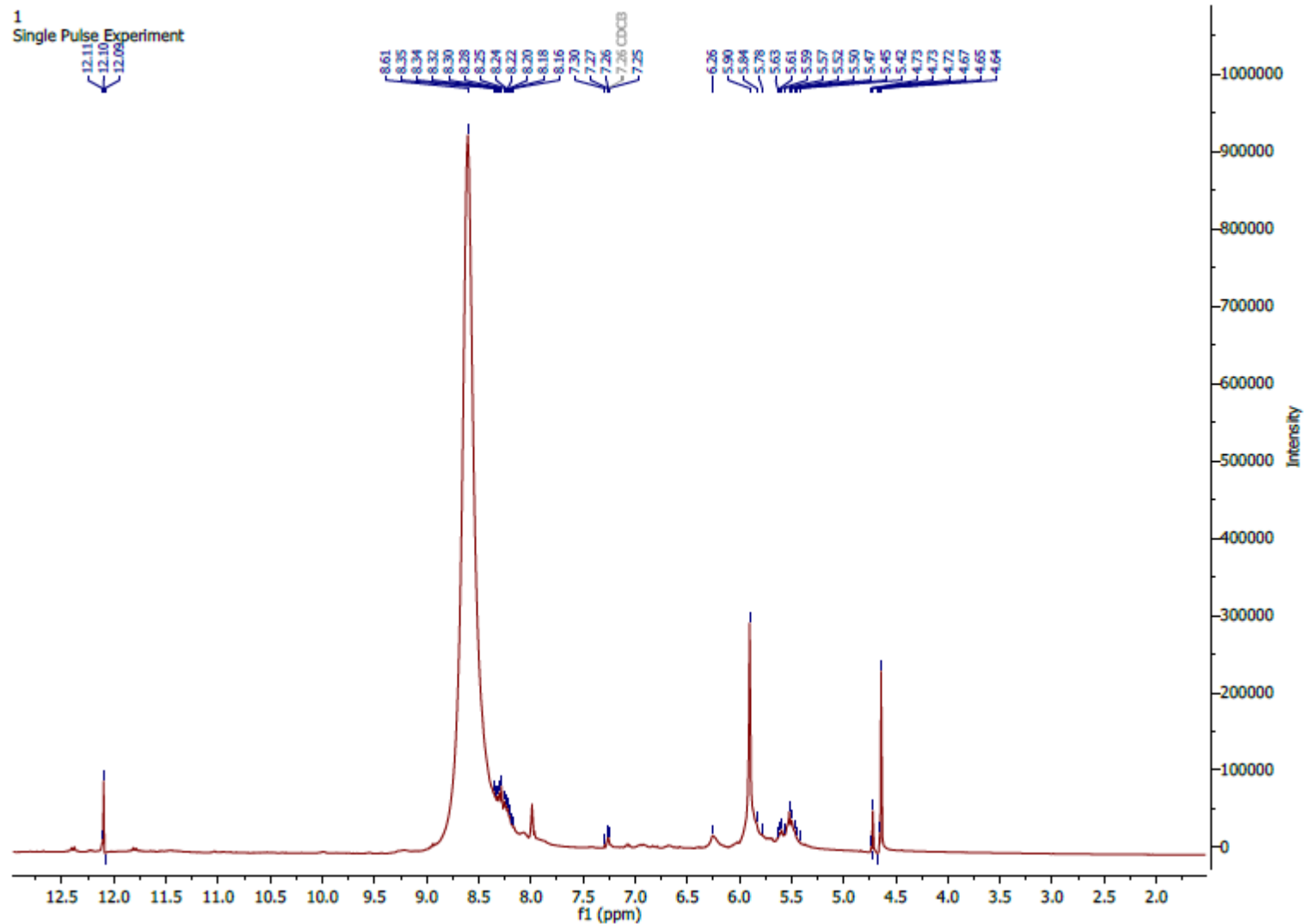
## FRACCIÓN 4

$^1\text{H}$  NMR (301 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  6.39 (s, 0H), 4.13 – 3.88 (m, 0H), 3.68 – 3.53 (m, 0H), 2.44 – 2.21 (m, 0H), 1.69 – 1.52 (m, 0H), 1.25 (s, 1H), 0.89 (dq,  $J = 15.4, 8.3, 7.7$  Hz, 1H).



## FRACCIÓN 5

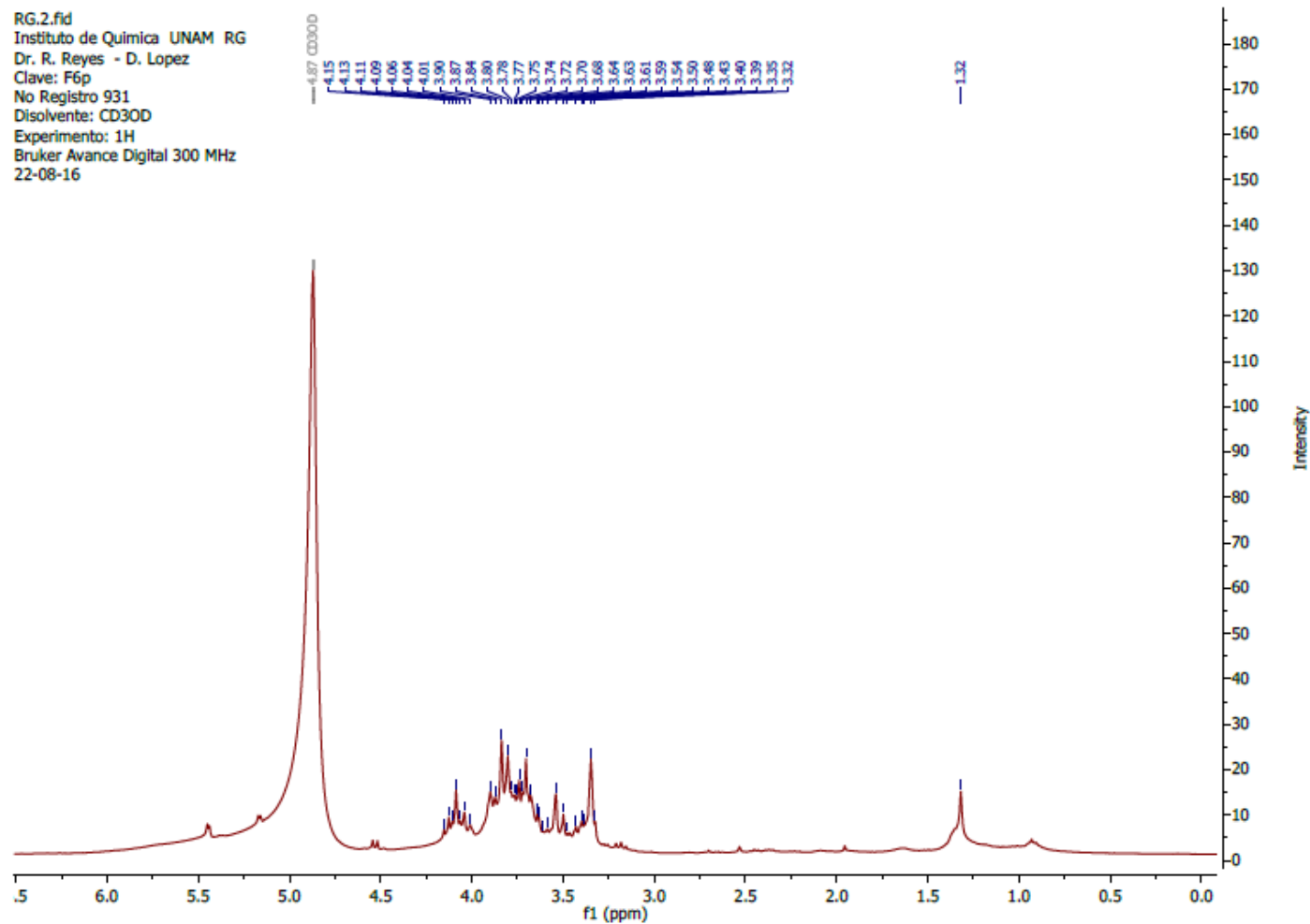
$^1\text{H}$  NMR (301 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  12.10 (s, 1H), 8.82 – 8.08 (m, 425H), 7.31 – 7.23 (m, 2H), 6.26 (s, 4H), 5.90 (s, 21H), 5.64 – 5.40 (m, 15H), 4.72 (s, 1H), 4.67 (s, -1H).



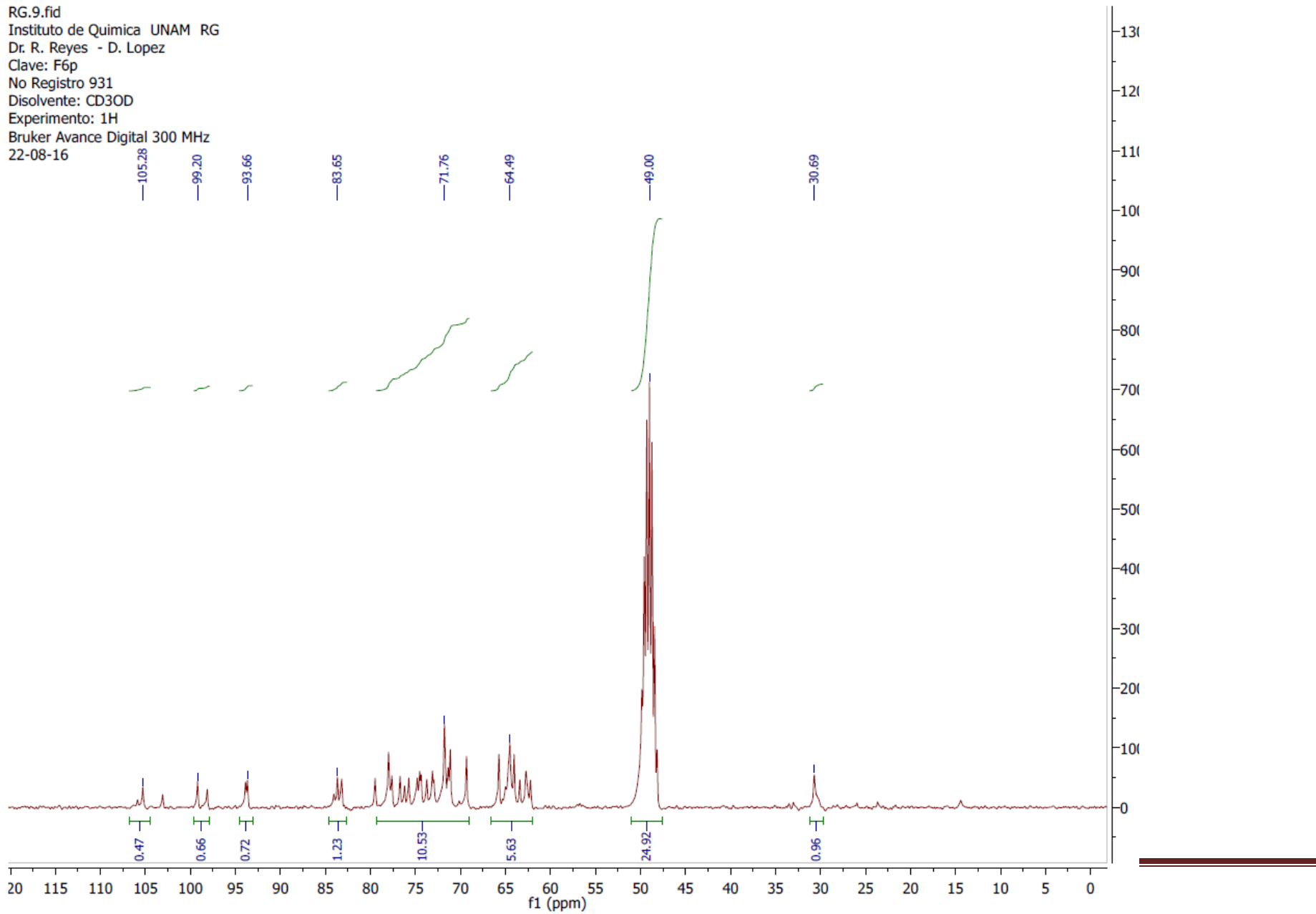
## FRACCIÓN 6

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  4.08 (ddd,  $J = 23.3, 15.2, 8.9$  Hz, 1H), 3.97 – 3.60 (m, 3H), 3.60 – 3.47 (m, 1H), 3.47 – 3.32 (m, 1H), 1.32 (s, 0H).

RG.2.fid  
Instituto de Química UNAM RG  
Dr. R. Reyes - D. Lopez  
Clave: F6p  
No Registro 931  
Disolvente: CD3OD  
Experimento: 1H  
Bruker Avance Digital 300 MHz  
22-08-16



RG.9.fid  
Instituto de Quimica UNAM RG  
Dr. R. Reyes - D. Lopez  
Clave: F6p  
No Registro 931  
Disolvente: CD3OD  
Experimento: 1H  
Bruker Avance Digital 300 MHz  
22-08-16



## 12.6 ABREVIATURAS

<b>2N</b>	2 normal
<b>AA</b>	Ácido aristoloquico
<b>AA2</b>	Ácido aristolóquico 2
<b>AA3</b>	Ácido aristolóquico 3
<b>AA3a</b>	Ácido aristolóquico 3a
<b>ác.</b>	Ácido
<b>AcOEt</b>	Acetato de etilo
<b>AINE's</b>	Medicamentos antiinflamatorios no esteroideos
<b>ANOVA</b>	Analisis de varianza
<b>APG IV</b>	Grupo filogenético de Angiospermas
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Calcio
<b>CCF</b>	Cromatografia en capa Fina
<b>CD1</b>	Líneas de ratones genéticamente modificados
<b>CD3OD</b>	Metanol deuterado
<b>CDCI<sub>3</sub></b>	Cloroformo deuterado
<b>CG</b>	Cromatografia de gases
<b>CG/MS</b>	Cromatografia de gases acoplado gases masas
<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b>	Diclorometano
<b>CHCl<sub>3</sub></b>	Cloroformo
<b>COX</b>	Ciclo oxigenasa
<b>COX 1</b>	Ciclo oxigenasa 1
<b>COX 2</b>	Ciclo oxigenasa 2
<b>d</b>	Doble
<b>dd</b>	Doble de doble
<b>DHGLA</b>	Ácido araquidonico
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dosis letal 50
<b>DMF</b>	Dimetillformamida
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>EET</b>	ácido epoxieicosatrienoico
<b>ENCB</b>	Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
<b>EPA</b>	Ácido
<b>et al.</b>	et aliae (y otros)
<b>Ext</b>	Extracto
<b>FA</b>	Fase acuosa
<b>FCME</b>	Herbario de la Facultad de Ciencias
<b>FO1</b>	Fase organica 1
<b>FO2</b>	Fase organica 2
<b>FO3</b>	Fase organica 3
<b>Fracc</b>	Fracción
<b>GPCR</b>	Proteinas G transmembranales
<b>H.</b>	Hemolisis
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxido de hidrogeno

<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	ácido sulfúrico
<b>HCl</b>	Ácido clorhídrico
<b>Hex</b>	Hexano
<b>HPLC</b>	Cromatografía líquida de alto rendimiento
<b>HSF-PLA<sub>2</sub></b>	Fosfolipasa A2 de fluido sinovial humano de pacientes con artritis
<b>HTBA</b>	Bromuro de hexadecitrimetil amonio
<b>Hz</b>	Hertz
<b>i.m.</b>	Intramuscular
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentracion Inhibitoria 50
<b>IL6</b>	Inter leucina 6
<b>Inh.</b>	Inhibicion
<b>IR</b>	Infrarojo
<b>J</b>	Constante de acoplamiento
<b>L.</b>	Lymnaea
<b>LOX 12</b>	Lipoxigenasa 12
<b>LOX 5</b>	Lipoxigenasa 5
<b>LOX15</b>	Lipoxigenasa 15
<b>LPS</b>	Lipopolisacárido
<b>LTB4</b>	Leucotrieno B4
<b>LTM</b>	Per oxidación
<b>m.s.n.m.</b>	Metros sobre el nivel del mar
<b>m/z</b>	m= masa, z= carga
<b>M<sup>+</sup></b>	Ion molecular
<b>MeOH</b>	Metanol
<b>MEXU</b>	Herbario Nacional de México
<b>MHz</b>	Mega Hertz
<b>mins</b>	Minutos
<b>mM</b>	Milimolar
<b>Mov.</b>	Movilización
<b>MPO</b>	Enzima mieloperoxidasa
<b>N</b>	Normal
<b>N.</b>	<i>Naja</i>
<b>n=</b>	Número igual
<b>NE</b>	No especificado
<b>NH<sub>4</sub>OH</b>	hidroxido de amonio
<b>NIIST</b>	Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología Interdisciplinaria
<b>Nm</b>	Nanómetro
<b>NO</b>	Oxido nítrico
<b>P</b>	pi value
<b>P.</b>	Propionibacterium
<b>P450</b>	Citocromo P450
<b>PBS</b>	buffer de fosfatos
<b>PG1</b>	Prostaglandina 1
<b>PG2</b>	Prostaglandina 2

<b>PG3</b>	Prostaglandina 3
<b>PGE2</b>	Dinoprostona
<b>PGI2</b>	Prostaciclina I2
<b>pH</b>	Potencial hidrogeno
<b>PLA<sub>2</sub></b>	Fosfolipasa A2
<b>post hoc</b>	“Despues de esto”, hace referencia al análisis estadístico de datos
<b>PtdCho</b>	Fosfotidilcolina
<b>RF</b>	Distancia que recorre la muestra desde el punto de aplicación / distancia que recorre el disolvente hasta el frente del eluyente
<b>RMN</b>	Resonancia Marnetica Nuclear
<b>RMNH<sup>+</sup></b>	Resonancia Marnetica Nuclear de Hidrogeno
<b>Rpm</b>	revoluciones por minuto
<b>s</b>	Simple
<b>SA</b>	18:4 cis 6,9,12,15-octadecatetraonico
<b>Superv</b>	Supervivencia
<b>T.</b>	Trimeresurus
<b>TLC</b>	Cromatografia en capa Fina
<b>TMB</b>	3,3', 5,5'-tetrametilbenzidina
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	factor de necrosis tumoral $\alpha$
<b>TPA</b>	13-acetato de 12-tetradecanoilforbol
<b>TxA2</b>	Tromboxano A2
<b>TxB2</b>	Tromboxano B2
<b>UV</b>	Ultra Violeta
<b>VRV PL-VI</b>	Fosfolipasa A2 de Vipera russelli
<b>W</b>	Watts
$\Lambda$	Lamda
<b>Mg</b>	Microgramo
$\mu$ L	Micro litro
$\mu$ M	Micro molar