

88

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE QUIMICA

---



ESTUDIO QUIMICO DE ANTERAS DE  
SOLANDRA NITIDA SIN POLEN

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
OCTAVIO ZENDEJAS MEDRANO

México, D. F.

1979



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis 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.

U.T. - ~~376~~ 373

CLAS. \_\_\_\_\_  
ADQ. \_\_\_\_\_  
FECHA \_\_\_\_\_  
PROC. \_\_\_\_\_



Jurado Asignado originalmente según el tema:

Presidente	Profesor:	Ma. Luisa García Padilla
Vocal	Profesor:	Ofelia Espejo de Ochoa
Secretario	Profesor:	Ma. Teresa Reguero Reza
1er. Suplente	Profesor:	Nilda Navarro Padilla
2do. Suplente	Profesor:	Ignacio Huerta Berdeja

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio de Química Farmacéutica,  
División de Estudios Superiores,  
Facultad de Química,  
UNAM.

Sustentante:

Octavio Zendejas Medrano

Asesor del Tema:

M. en C. María Teresa Reguero Reza

A mis pilares esp.rituales:

Ivonne

e

Iván

A mis padres

De quienes solo recibimos lo mejor,  
y a quienes debemos lo que logremos.

A mis hermanos:

Héctor

Ernesto

Edmundo

Armando

Salvador

Jaime

A Becky

Por todo el amor, comprensión  
y apoyo fraterno brindado por  
tí para nosotros tus hermanos.

Los bienhechores de la humanidad merecen  
ser honrados y recordados perpetuamente.

A. Huxley

Al Q.F.B. Juan Senosiain G.

Sin cuyo oportuno y desinteresado apoyo  
no hubiera sido posible realizar este -  
trabajo, ni terminar con bien mis estu-  
dios profesionales.

A la Maestra Teresa Reguero

Por toda su ayuda, orientación y apoyo  
brindado durante las fases escolar y -  
profesional.

A todos aquellos que han colaborado  
en una u otra forma en mi formación  
profesional e individual:

Hermanos, profesores, parientes,  
amigos y compañeros de trabajo.

Todo aquel que haya logrado hacerse independiente y pueda decir con entera libertad lo que considere bueno y correcto, tiene el deber ineludible de hacerlo.

TH-H Van de Velde.

# I N D I C E

INTRODUCCION

PARTE TEORICA

PARTE EXPERIMENTAL

RESULTADOS

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA

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

## OBJETIVO DEL ESTUDIO

El objetivo principal de este estudio es contribuir al conocimiento de la bioquímica vegetal, a través del estudio fitoquímico exhaustivo de un órgano sexual de una planta.

A la fecha, son contados los estudios realizados sobre la química de los órganos sexuales de las plantas como son los estigmas, anteras, polen, ovarios, etc., y esto se debe en parte a la dificultad que existe en conseguir cantidad suficiente de estos materiales para ser estudiados.

Algunas especies de fanerógamas presenta flores de gran tamaño y con ello un gran desarrollo de sus órganos sexuales, tal es el caso de la Solandra nítida, cuyo tamaño de flor facilita la recolección de material sexual, siendo necesario aclarar que de una flor completa se obtienen unos pocos mg. de material seco.

En este trabajo se separó el polen de las anteras con el fin de estudiar la composición química de las anteras sin otros contaminantes sexuales.

P A R T E    E X P E R I M E N T A L  
= = = = =

A.- GÉNERO SOLANDRA.

Las Solandras forman un reducido grupo dentro de la subfamilia Datúreas, familia de las Solanáceas.

Son plantas trepadoras, leñosas, que se encuentran silvestres en lugares de clima templado y húmedo, en alturas de 1600 a 2500 m. Sus flores son grandes de 17 a 23 cm., monopétalas, tubulosas, solitarias, comúnmente aromáticas, blanquecinas, verdoso-amarillentas o amarillas.

Algunas se cultivan como ornamentales en lugares templados y aún en los semicálidos.

Se han observado en México 4 especies:

Solandra guttata

Solandra brevicalyx

Solandra nítida

Solandra guerrerense

Solandra nítida.- (*Datura maxima*, *Solandra selerae*, *Solandra hartweggi*).

Es una planta trepadora de ramas extendidas, con hojas elípticas u oval elípticas, a veces ovales; ápice brevemente acuminado, rara vez agudo o redondeado; flores blancas, amarillentas ó amarillas, aromáticas, de 15 a 25 cm de largo por 12 a 15 cm de diámetro, estambres encorvados, salientes; anteras oblongas de 10 mm, la base escotada; fruto comestible. Las flores varían en forma y tamaño: a veces el tubo es muy largo, otras veces con tubo corto y limbo muy grande, y ocasionalmente se ensancha tomando una forma globosa, por ello algunos ejemplares se han identificado como Solandra longiflora y Solandra grandiflora.

Se le puede localizar en Chiapas, Guerrero, Jalisco, México, Michoacán, Oaxaca, Puebla, Veracruz; se le conoce con los nombres vulgares: copa de oro (D.F., Puebla, México, Morelos, etc.), lipaca-tuhue (Oaxaca), tecomaxóchitl, tetona (Veracruz), bule (Chilpancingo, Gro.).

Es la especie que más se cultiva como ornamental. Se le puede ver en muchos jardines de Cuernavaca, donde las flores suelen ser muy grandes, pero no da fruto. Se le cultiva también en varios lugares del Distrito Federal, donde comúnmente da fruto.

Se usa el líquido que se acumula en la flor cuando está en botón para aliviar la conjuntivitis. (1).

#### B.- LIPIDOS

Los lípidos se han definido como aquellas sustancias orgánicas, insolubles en agua, que se pueden extraer de las células por medio de disolventes orgánicos de baja polaridad, tales como éter, cloroformo ó benceno (2).

De la definición anterior resulta que los lípidos incluyen diferentes tipos de compuestos, tales como: grasas, ceras, esteroides, terpenos, etc. Los lípidos se pueden clasificar de acuerdo a su comportamiento químico en:

- a) Saponificables.
- b) Insaponificables

a) Saponificables .-

Son aquellos lípidos que pueden hidrolizarse al ser calentados con un álcali, para obtener jabones de los ácidos grasos liberados. En este grupo incluímos:

1 - Grasas neutras.-

También son llamados acilgliceroles ó glicéridos, son ésteres de ácidos grasos del alcohol glicerol.

2 - Fosfoglicéridos.-

Son aquellos en los que uno de los oxhidrilos primarios del glicerol, está esterificado con ácido fosfórico en lugar de un ácido graso, y la mayoría de ellos contiene un grupo alcoholico cuyo oxhidrilo está esterificando al ácido fosfórico para formar así un fosfodiéster.

3 - Esfingolípidos.-

Son aquellos que por hidrólisis dan una molécula de ácido graso, una molécula de esfingosina ó dihidroesfingosina (amino-alcohol de larga cadena insaturada o saturada respectivamente) y un grupo polar unido al oxhidrilo de la posición 1 de la esfingosina.

4 - Glicolípidos.-

Son aquellos que por hidrólisis dan grupos de carbohidratos polares hidrofílicos, a menudo D-galactosa ó D-glucosa, ácidos grasos y algunos contienen esfingosina y otros glicerol.

5 - Ceras.-

Son ésteres de ácidos grasos superiores con alcoholes monooxidrilicos de cadena larga ó con esteroides.

## 6 - Sulfolípidos.-

Son aquellos que por hidrólisis dan ácido sulfúrico, sulfatos ó sulfuros además de otros componentes.

## b) Insaponificables .-

Se encuentran en menor cantidad y son aquellos que por hidrólisis no dan ácidos grasos, es decir, son sustancias no hidrolizables con álcali. Entre ellos se incluyen:

### 1. Esteroides.-

Son derivados del núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno. Los esteroides naturales más importantes son: ácidos biliares, hormonas sexuales, hormonas adrenocorticales y venenos cardíacos. Los más abundantes en la naturaleza son los esteroides.

### 2. Terpenos.-

Son componentes lipídicos menores que se encuentran formados por dos o más unidades de isopreno, o sea, son aquellos que se apegan a la regla del isopreno, salvo algunas excepciones. (3).

### 3. Prostaglandinas.-

Son hormonas, que se forman a partir de ácidos grasos poliinsaturados por ciclación oxidativa, para formar un ciclopentano ó ciclopenteno en el centro de la cadena del ácido graso.

## C.- ACIDOS GRASOS

Todos los ácidos grasos poseen una larga cadena hidrocarbonada y un grupo carboxilo terminal. La cadena puede ser saturada ó insaturada, las diferencias entre unos y otros son: la longitud de la cadena, el número y posiciones de las insaturaciones que en su mayoría tienen configuración geométrica -cis-, lo cual disminuye el punto de fusión del ácido graso (4). La mayoría tiene un número par de átomos de carbono y los dobles enlaces no son conjugados.

Los ácidos grasos insaturados más frecuentes en los organismos superiores son: oléico, linolénico, linoléico y araquidónico.

En la tabla I se dan las estructuras de los ácidos grasos más abundantes en la naturaleza.

Sus aplicaciones principales son:

- 1 - Fabricación de jabones y detergentes.
- 2 - Como materias primas para la obtención de ácidos y alcoholes de cadena larga en forma pura.
- 3 - Como agentes secantes en barnices y pinturas (aceite de linaza).

## D.- ESTEROLES

Los esteroides ó esterinas son alcoholes cristalinos (del griego, stereos, duro) que se encuentran en la fracción insaponificable de los aceites vegetales y animales; todos son alcoholes secundarios tetracíclicos. (5).

TABLA I

## ACIDOS GRASOS DE MAYOR ABUNDANCIA EN LA NATURALEZA

No. de átomos de carbono	Estructura	Nombre Sistemático	Nombre Común	Punto de Fusión (°C)
<b>Acidos grasos saturados</b>				
12	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	n-dodecanoico	Acido Láurico	44.2
14	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	n-tetradecanoico	Mirístico	53.9
16	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	n-hexadecanoico	Palmitico	63.1
18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	n-octadecanoico	Esteárico	69.6
20	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	n-eicosanoico	Araquídico	76.5
24	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	n-tetracosanoico	Lignocérico	86.0
<b>Acidos grasos no saturados</b>				
16	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$		Palmitoléico	-0.5
18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$		Oléico	13.4
18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$		Linoléico	-5.0
18	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$		Linolénico	-11.0
20	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$		Araquidónico	-49.5

Los esteroides se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. El grupo oxhidrilo está invariablemente en posición  $3\beta$  en los esteroides naturales, y la insaturación generalmente se presenta en C-5 y a menudo en C-7 y C-22 (6). Las uniones entre los anillos es trans, resultando así, una molécula casi plana.

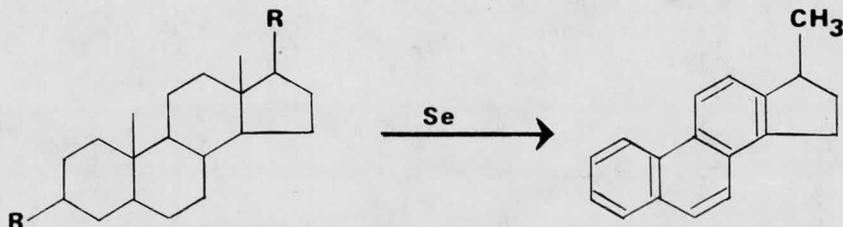
Generalmente, el colesterol no se encuentra en las plantas, las cuales contienen otro tipo de esteroides conocidos en general como fitoesteroides. En las bacterias, no se ha detectado la presencia de esteroides.

Windaus encontró en 1909 que la digitonina se combina con los  $3\beta$  esteroides formando un complejo molecular en la proporción 1:1, esto es, un digitónido prácticamente insoluble en alcohol de 90 - 95 % lo que permite la separación de epímeros.

No fué, sino hasta 1932 cuando se dedujo la estructura correcta del Colesterol, en forma independiente y simultánea por Rosenheim y King y por Wieland y Dane.

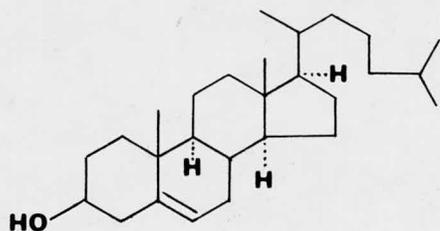
Más tarde, los productos naturales de tipos muy diversos, se han identificado como esteroides si es posible encontrar el hidrocarburo de Diels entre los productos de deshidrogenación.

Hidrocarburo de Diels.

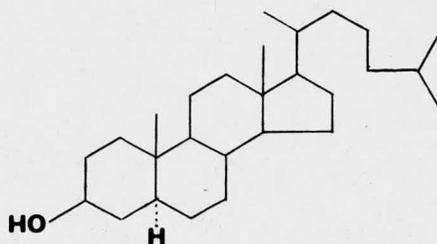


(11)

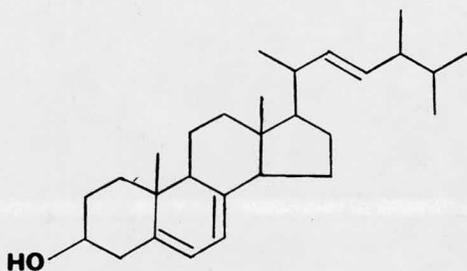
La fórmula de algunos tipos representativos de esteroides se muestran a continuación: (7).



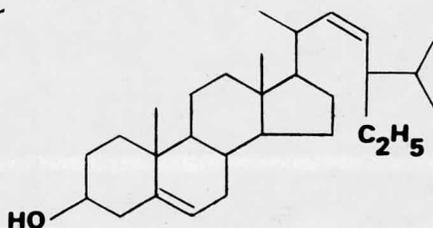
Colesterol



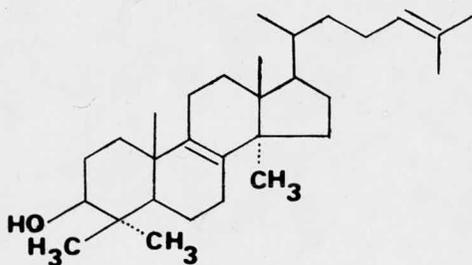
Colestanol



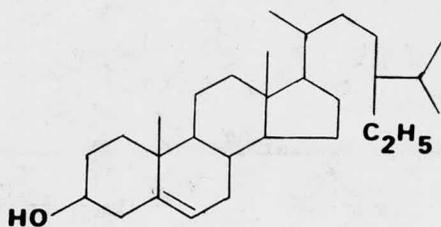
Ergosterol



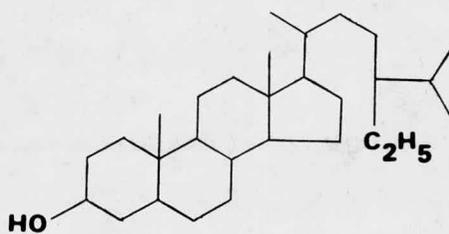
Stigmasterol



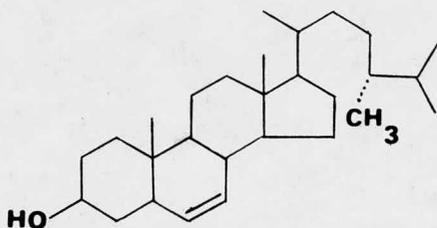
Lanosterol



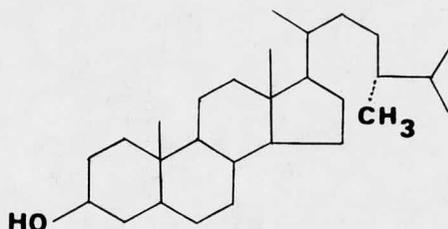
$\beta$ -sitosterol



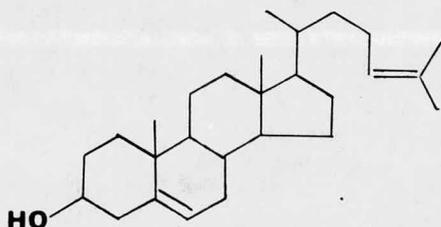
Estigmastanol  
Dihidro  $\beta$ -sitosterol



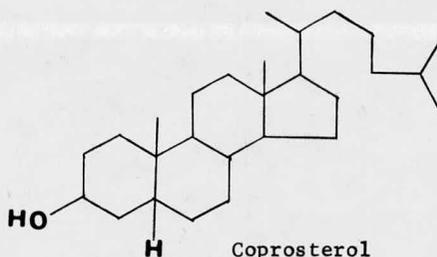
Campesterol



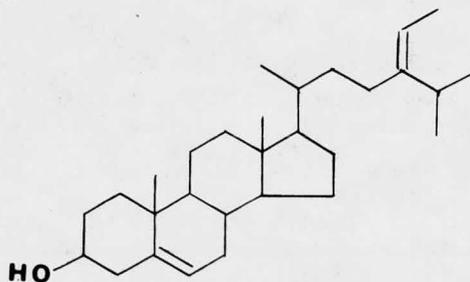
Campestanol



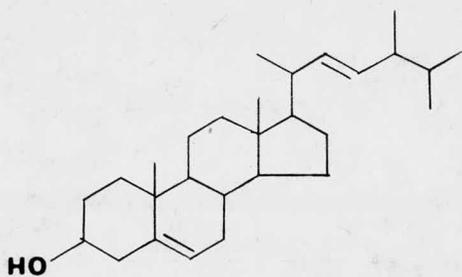
Desmosterol



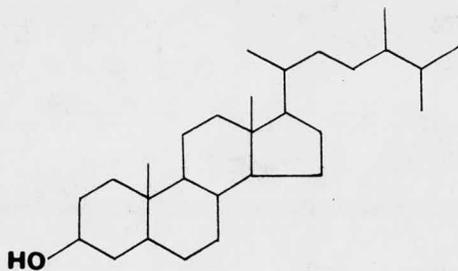
Coprosterol



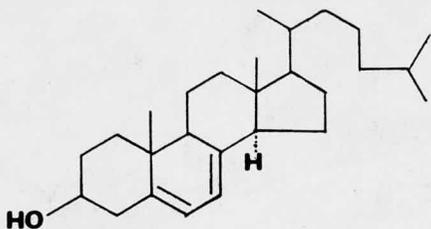
Fucosterol



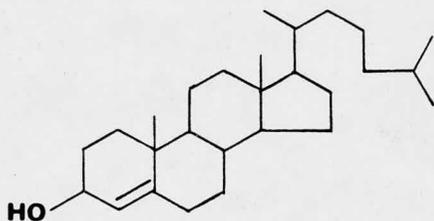
Brasicasterol



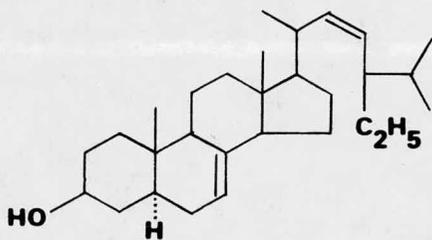
Ergosterol



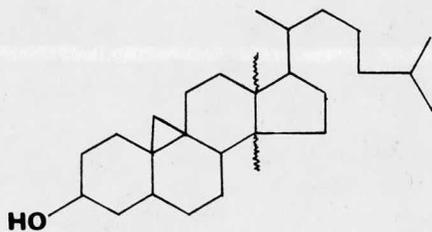
$\Delta^7$ Dehydrocholesterol



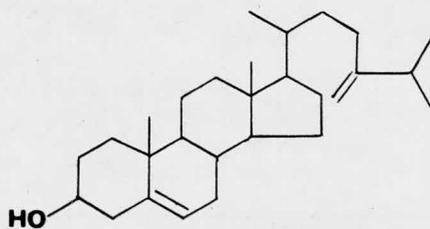
Coprostanol



$\alpha$ -ergosterol



Polinastanol



24-methylcholesterol

La biosíntesis del colesterol se realiza vía ácido mevalónico hasta llegar a obtener el escualeno, el cual es convertido al epóxido 2,3. A continuación, mientras la molécula se mantiene en una conformación adecuada sobre la superficie de una enzima, se abre el epóxido en reacción catalizada por ácido y se produce la ciclación en la que el núcleo del esteroide se construye estereoespecíficamente. La sub siguiente trasposición de varios hidrógenos y grupos metilo, produce el primer producto de ciclación aislable, el lanosterol.

La conversión de lanosterol en colesterol precisa la pérdida de tres grupos metilo, el desplazamiento de un doble enlace y la reducción de otro por medios enzimáticos.

Del colesterol se obtienen la mayor parte de esteroides y esteroloides.

a) Colesterol.-

Es un alcohol cristalino de fórmula  $C_{27}H_{46}O$ , de peso molecular 386.64, punto de fusión  $148.5^{\circ}C$  en forma anhidra, con  $[\alpha]_D^{20} = -31.5$  ( $c=2$  en éter), prácticamente insoluble en agua, soluble en éter, piridina, cloroformo, aceite, éter de petróleo. Se precipita con digitona. Se aisló por vez primera en cálculos biliares humanos donde es el principal constituyente.

Se encuentra presente en todos los tejidos del organismo animal, en estado libre ó esterificado con ácidos grasos. Una concentración elevada de colesterol libre en la sangre, puede provocar su precipitación en los vasos sanguíneos, con el consecuente aumento de la presión sanguínea y la aparición de aterosclerosis.

Se obtiene comercialmente de la columna vertebral del ganado por extracción con éter de petróleo del material insaponificable. El colesterol extraído de los órganos animales siempre contiene como impureza colestanol y otros esteroides saturados.

Se purifica por medio de la bromación del acetato de colesterol formando el dibromuro y luego se regenera la insaturación por medio de amalgama de sodio en etanol. (9).

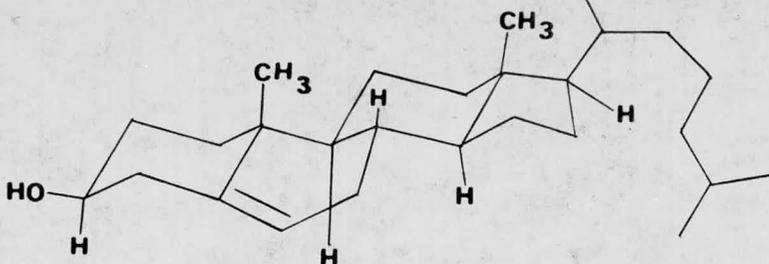
El colesterol se elimina principalmente como ácidos biliares en las heces, aunque se le encuentra también libre y transformado en 7-dehidrocolesterol y coprostanol. (8).

Todas las hormonas esteroidales de los mamíferos y ácidos biliares se obtienen enzimáticamente a partir del colesterol.

Se usa comercialmente para la preparación de vitamina D<sub>3</sub>. El colesterol fué la materia prima original para las hormonas esteroidales y -- esto se ha reforzado con el descubrimiento de bioconversiones microbiológicas de sus derivados 19-oxigenados a estrona y 19-noresteroides.

Tiene propiedades emulsificantes y por ello se usa como tal (emulsiones agua en aceite) en bases de ungüentos, en cosméticos y medicamentos.

Su fórmula en detalle estereoquímico es:



### Estereoquímica del Colesterol

#### b) $\beta$ -Sitosterol.-

Es un alcohol cristalino de fórmula  $C_{29}H_{50}O$  con peso molecular de 414.69, precipitable con digitonina. Recristalizado en alcohol presenta un punto de fusión de  $140^{\circ}C$ .  $[\alpha]_D^{25} = -37^{\circ}$  ( $c=2$  en cloroformo), fácilmente soluble en benceno, cloroformo, disulfuro de carbono y éter.

Probablemente el  $\beta$ -Sitosterol es el esteroil más común en las plantas y se puede aislar del aceite de gérmen de trigo, aceite de maíz, de los frijoles de soya y otras más. Se le puede aislar puro o casi puro de los esteroides crudos de la planta de hule y de los frijoles comunes Phaseolus vulgaris. (10).

El  $\beta$ -Sitosterol puro se obtiene mejor de una fuente que no contenga estigmasterol ni  $\gamma$ -sitosterol como el aceite de semilla de algodón, por cristalización fraccionada.

El  $\beta$ -sitosterol por oxidación da oxisitosterol y por hidrogenación se obtiene el sitostanol.

La síntesis de sitosterol ocurre principalmente durante la germinación y en las partes de rápido crecimiento de las plantas jóvenes (raíz, yemas y hojas), siendo mayor a la oscuridad que a la luz.

Parece existir una estrecha relación entre el metabolismo del sitosterol y la utilización de la grasa de los cotiledones; por ello el sitosterol parece ser un constituyente vital de las plantas jóvenes y no un producto de desecho.

Los animales alimentados con sitosterol (conejos, ratas, ratones) normalmente lo excretan cuantitativamente y sin alteraciones en las heces. Si se alimenta a ratas con  $\beta$ -sitosterol en una dieta libre de otros esteroides, ésta lo convierte en coprositostanol y se excreta en las heces.

El sitosterol es un factor de crecimiento para levaduras, larvas de moscas *Lucila sericata* y *Drosophila melanogaster*, y *Trichomonas columbae*.

Mientras, que el sitosterol crudo adquiere débiles propiedades antitirraquíticas por irradiación con luz ultravioleta, el sitosterol puro, ya no se activa por éste método; pero aún el  $\beta$ -sitosterol puro adquiere propiedades antitirraquíticas en las ratas si se calienta en ácido acético glacial a 85-90° con algo de ácido sulfúrico conc. y anhídrido acético, aunque su actividad es 20 veces menor que el colesterol tratado en la misma forma.

El sitosterol inyectado ejerce un fuerte efecto tónico-muscular, especialmente en el corazón de la rana y el útero del puerco.

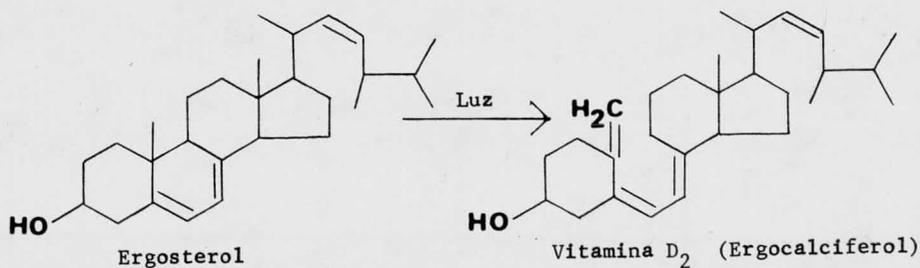
Sus propiedades emulsificantes son aproximadamente las mismas que las del colesterol, y puede reemplazarlo en sus usos como emulsificante (emulsiones agua en aceite) en bases de ungüentos para propósitos médicos y cosméticos.

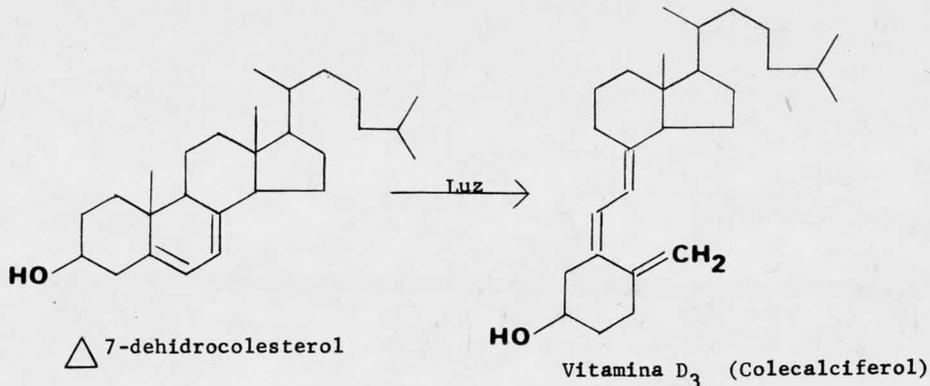
Terapéuticamente se usa como anticolesterémico.

c) Vitamina D.-

El 7-dehidrocolesterol que se encuentra en proporciones relativamente altas en la piel, origina una serie compleja de reacciones fotoquímicas bajo la acción de la luz del sol, uno de los productos es el colecalciferol o vitamina D<sub>3</sub>, un esteroide con el sistema cíclico -abierto que regula el metabolismo del calcio e impide el raquitismo.

En los Estados Unidos se fabrica anualmente Calciferol por valor de un millón de dólares, utilizándose como materia prima del 7-dehidrocolesterol el colesterol.





Existe una gran cantidad de estudios sobre lípidos en polen pero son muy contados los estudios químicos en anteras.

Los primeros estudios de lípidos en polen fueron realizados en el maíz (11), betabel (12), la planta Typha angustata (13) y a ellos han seguido una serie de investigaciones con diferentes fines, tales como, relación de los compuestos del polen con las abejas (14,15,16,17), composición química del polen de diferentes pinos y coníferas (18,19,20), del polen de palmas (21), estudio comparativo de lípidos en polenes (22), estudios químicos de lípidos en polen (23,24), estudios químicos de polen de diferentes familias botánicas (25,26), y con fines diferentes a los ya mencionados.

Sólo existe un estudio de lípidos en polen de Solanáceas, que es el realizado por Hoerberichts y Linskens (27) sobre polen de Petunia, en el cual se obtuvieron los siguientes resultados en mg/g polen:

Acidos grasos totales . . . . .	42.3
Acidos grasos libres . . . . .	10.26
Acidos grasos unidos . . . . .	32.04
Acidos grasos en triglicéridos. . . . .	4.8
Fosfolípidos . . . . .	42.16

Haciendo el estudio en c.c.f., se obtuvieron los siguientes resultados en por ciento del total de ácidos grasos libres:

Palmítico . . . . .	42.2
Oléico y esteárico . . . . .	15.5
Mirístico . . . . .	10.6
Láurico . . . . .	12.4

Y por ciento de ácidos grasos unidos:

Palmítico . . . . .	35.9
Mirístico . . . . .	43.3
Oléico . . . . .	4.7
Esteárico . . . . .	8.5

La cantidad total de ácidos grasos en polen de Petunia fué 4 veces mayor a la del polen de coníferas.

A. Kwaitkowski (24), realizó un estudio sobre la constitución química del polen de diferentes especies y familias de plantas, encontrando ácidos mirístico, araquídico, behénico, lignocérico y cerótico, alcoholes saturados y no saturados, hidrocarburos y dioles. Encontró diferencias en composición, aún dentro de la misma familia de plantas.

M. Battaglini, (15) encontró que todos los polenes son ricos en ácidos grasos no saturados; en Papaver rhoeas constituyen el 91% del total.

Los primeros estudios donde se encontraron esteroides en polenes son los realizados en 1922-23 por Suguru Miyake (11) y R.J. Anderson (28) donde aún se les denomina fitosteroides.

Los trabajos sobre esteroides en polenes han tenido diferentes objetivos, tales como: presencia de esteroides en polen de pino (29), polen de palmas (30), estudios de polen de varias especies (31), con revisión biogénica (32).

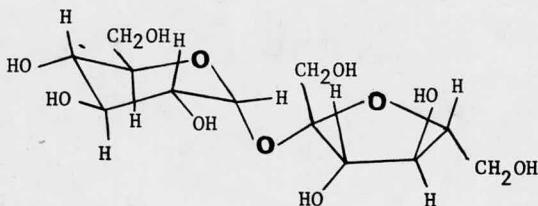
El trabajo de Devys y Barbier es una confirmación de que existe colesterol en el reino vegetal (33), ya que ellos encontraron que el 90% de la fracción de esteroides en el polen de Hypochoeris radicata es colesterol.

Uno de los trabajos más completos es el realizado por Marie France Hugel (23), en el cual se aislaron fracciones de diferentes polenes que contienen series biosintéticas de esteroides C<sub>27</sub>, C<sub>28</sub>, y C<sub>29</sub>, se reporta la presencia de un nuevo esteroide, el polinastanol, y se formula una hipótesis biogénica.

Se han aislado de anteras de Lilium candidum y Lilium tigrinum (34, 35), sustancias carotenoides (anteraxantina).

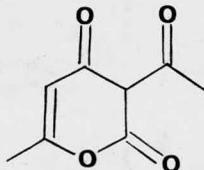
A la fecha, no existe estudio alguno de esteroides contenidos en anteras sin polen de la familia Solanáceas.

En estudios anteriores sobre anteras de Solandra nítida, se han reportado diversos compuestos aislados, así en 1970 (36), se obtuvo en un estudio de disolventes sucesivos, el disacárido SACAROSA del extracto metanólico.



(+) -Sacarosa

En 1975, se aisló por métodos cromatográficos el ácido dehidroacético (37), del extracto clorofórmico, lo cual sugiere un mecanismo de eliminación de ácido acético diferente al del ácido mevalónico.



Acido Dehidroacético

En el mismo año, se realizó un estudio de la grasa de éstas anteras (38), obteniendo los resultados de la Tabla II.

T A B L A I I

Acidos grasos contenidos en las anteras de Solandra nítida.

PICO NO.	ESTER METILICO DEL ACIDO GRASO	NO. DE C.	( % )
1	Mirfístico	14	0.8796
2	No id.	No det.	1.2091
3	Palmítico	16	39.9440
4	Palmitoleico	16:1	2.0727
5	Margárico	17	1.3562
6	Estearico	18	22.4541
7	Oleico	18:1	4.9258
8	Linoléico	18:2	5.6879
9	Araquídico	20	7.4223
10	Linolénico	18:3	1.0028
11	Behénico *	22 *	7.5263
12	Lignocérico *	24 *	1.1875
13	No id.	No det.	0.6397
14	Cerótico *	26 *	3.6920

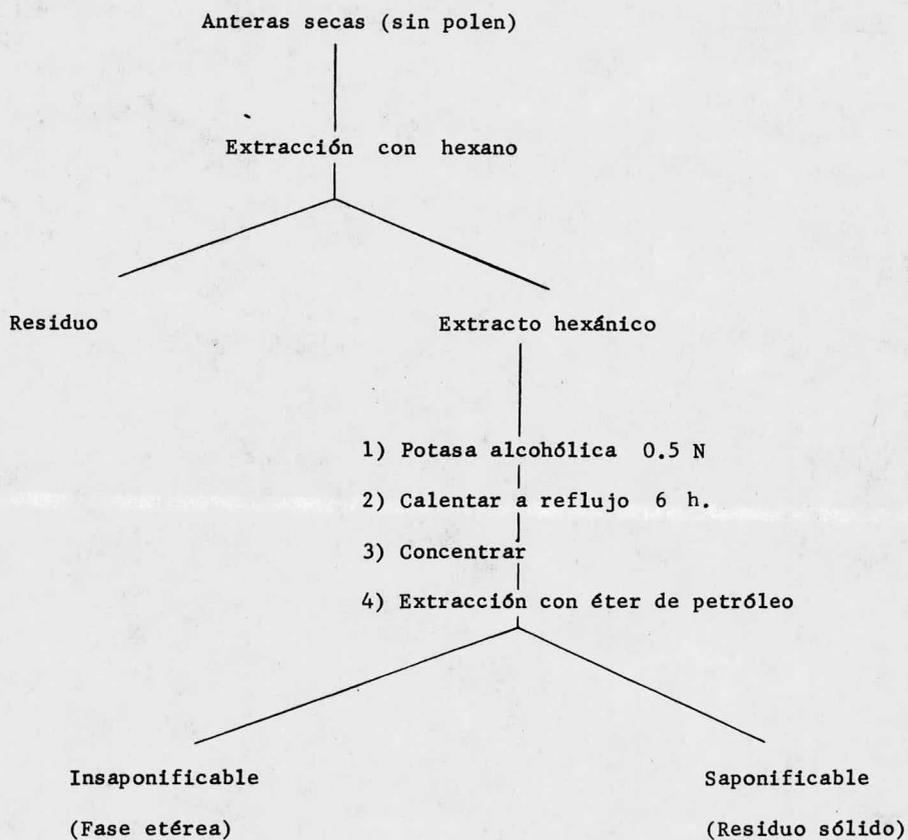
\* Proposición no confirmada por falta de ácidos grasos tipo.

P A R T E    E X P E R I M E N T A L

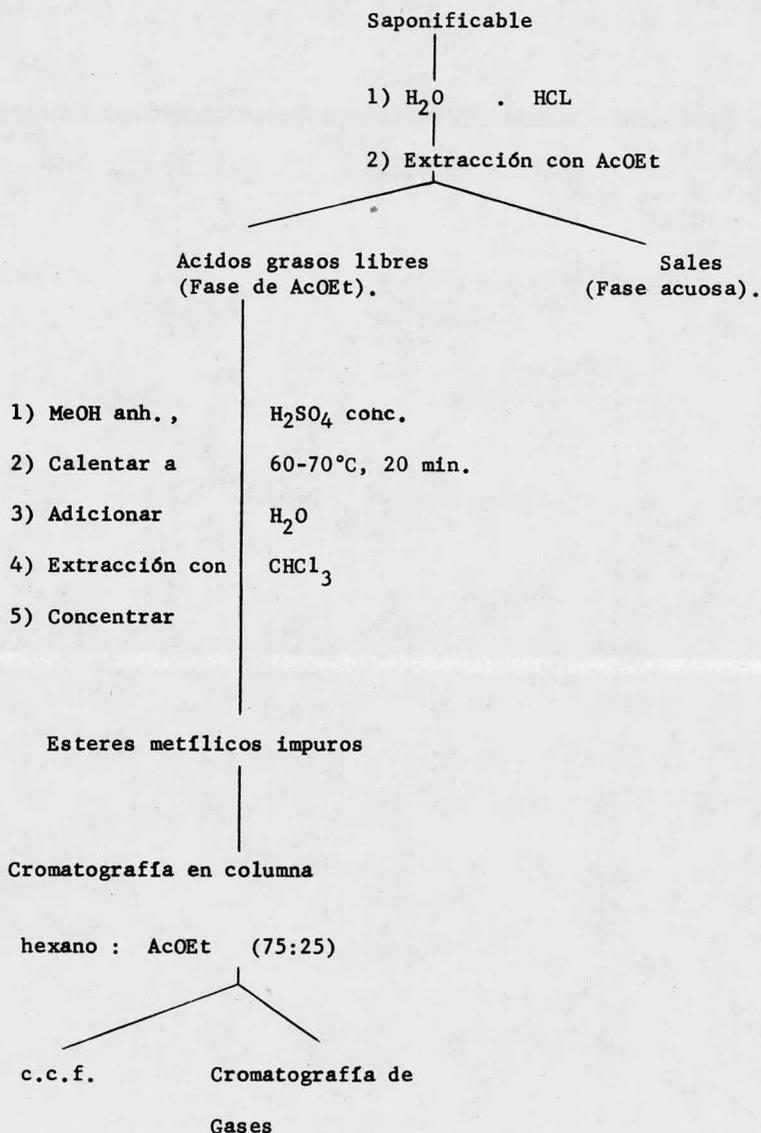
=====

- 1) Los espectros de Infrarrojo se determinaron en la Div. de Est. Sup. de la Facultad de Química en un Espectrofotómetro Perkin Elmer 237 en película. Las frecuencias están especificadas en  $\text{cm}^{-1}$ .
  
- 2) Los Cromatogramas se obtuvieron en la Div. de Est. Sup. de la Facultad de Química en un Cromatógrafo de Gases marca Varian Aerograph modelo 2100, en las condiciones que cada cromatograma indica.
  
- 3) Las anteras de este estudio fueron recolectadas de flores abiertas en Cuernavaca, Mor., por el Dr. Francisco Giral.

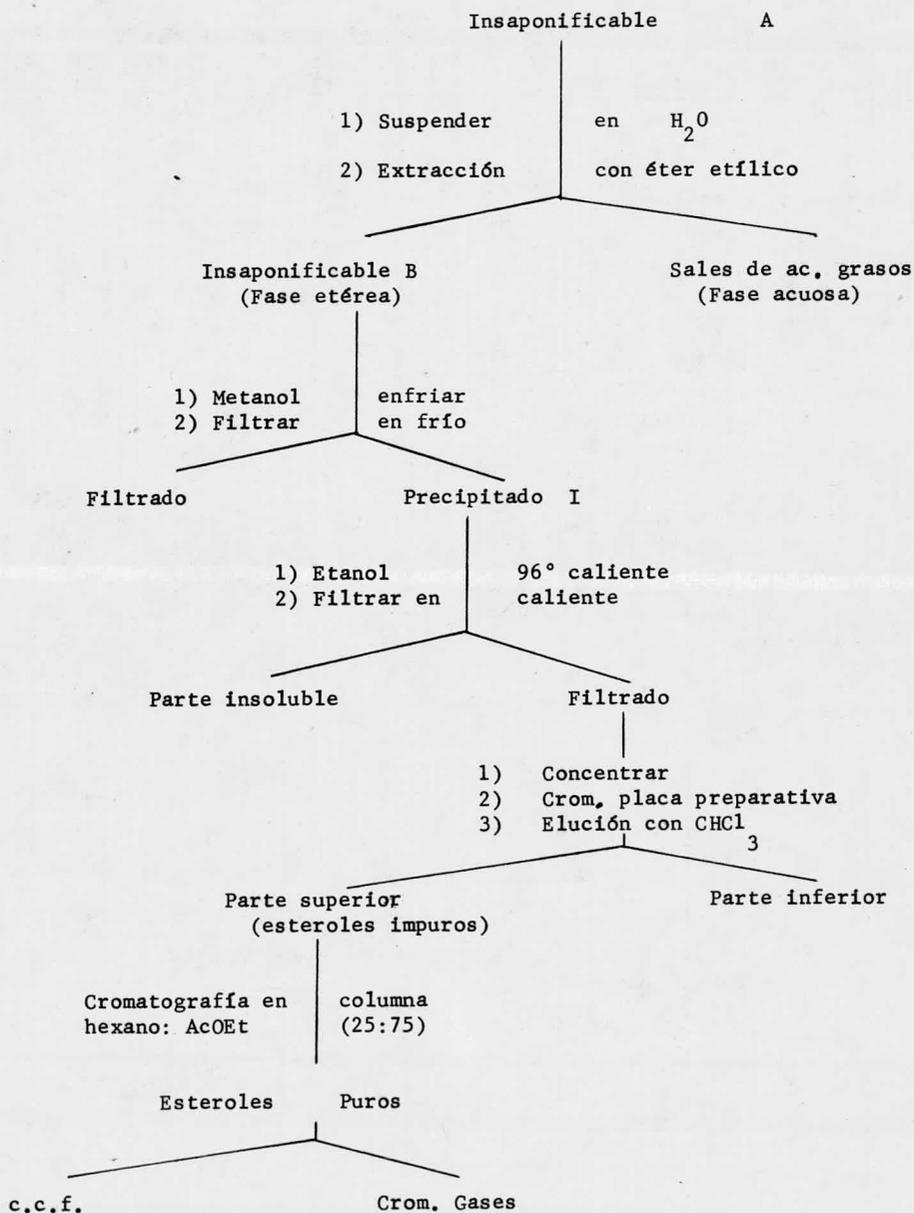
ESQUEMA GENERAL DE TRABAJO



ESQUEMA DE TRABAJO DEL SAPONIFICABLE



ESQUEMA DE TRABAJO DEL INSAPONIFICABLE



### III) PARTE EXPERIMENTAL

#### 1 - Extracción.

Se pesaron 215 g de anteras secas molidas exentas de polen y se colocaron a macerar con hexano a ebullición cambiando el disolvente cada 24 h , - hasta agotamiento total.

Después de eliminar el disolvente por destilación a vacío se obtuvieron - 4.46 g (2.1 %) de grasa cruda.

#### 2 - Saponificación.

Se colocaron a saponificar 3,2 g del extracto hexánico con solución alcohólica de potasa 0,5 N y se hirvió a reflujo durante 6 h , (39). Una vez terminada la reacción se evaporó la mezcla a sequedad por destilación a vacío del disolvente.

#### 3 - Separación de las fracciones Saponificable e Insaponificable.

La mezcla de reacción de la saponificación, una vez exenta de disolventes, se extrajo repetidas veces con porciones de éter de petróleo R.A. hasta agotamiento total, se reunieron las porciones etéreas y se filtraron (porción insaponificable).

En el residuo sólido remanente de la extracción, quedó la fracción saponificable.

#### 4 - Purificación de la fracción Saponificable.

##### a) Extracción de ácidos grasos libres.

El residuo sólido restante después de las extracciones con éter de petróleo, fué secado a vacío y se disolvió en agua destilada caliente, la solución obtenida se aciduló a pH 3 con ácido clorhídrico 1N, y se extrajo a temperatura ambiente con porciones sucesivas de acetato de etilo que se reunieron y lavaron repetidas veces con agua destilada.

Las porciones de acetato de etilo una vez lavadas con agua destilada, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron por destilación a vacío obteniéndose 0.970 g (27.7%) de ácidos grasos libres, que fueron controlados por c.c.f. e I.R. (espectro No. 1).

##### b) Metilación.

Se usaron para la esterificación 0.800 g de ácidos grasos libres, que se disolvieron en 2 ml de cloroformo libre de agua y se adicionaron 50 ml de metanol anhidro R.A. con 0.3 ml de ácido sulfúrico concentrado R.A.

La mezcla de reacción se llevó a 60-70°C con agitación continua durante 20 minutos a baño maría, al producto de la reacción se le adicionaron 50 ml de agua destilada y fué extraído con porciones sucesivas de cloroformo (40).

Las porciones clorofórmicas se reunieron y secaron sobre sulfato de sodio anhidro, para ser concentrados por destilación a vacío obteniéndose 0.800 g de producto de reacción (ésteres metílicos).

c) Purificación de Esteres Metilicos.

La purificación de 0.700 g de ésteres metilicos fué hecha por cromatografía en columna con gel de sílice 60 (mallas 70-230 ASTM) de Merck (1:100), usando como eluyente hexano:acetato de etilo (75:25), la columna se controló por c.c.f.

El peso de ésteres metilicos puros fué de 0.630 g (90%), los cuales fueron identificados y cuantificados por cromatografía de gases (Cromatograma No. 1) y espectro infrarrojo (Espectro No. 2).

5 - Purificación de la fracción Insaponificable.

a) Obtención de las porciones Insaponificables A y B.

A las porciones etéreas filtradas obtenidas en la separación de las fracciones Saponificable e Insaponificable, se les lavó con porciones sucesivas de solución salina saturada y luego repetidas veces con agua destilada. La fase etérea así obtenida se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró por destilación a vacío obteniendo 1.773 g (50.6%) de la porción insaponificable A.

Los 1.773 g obtenidos de la porción insaponificable A, se suspendieron en agua destilada caliente y fueron extraídos a temperatura ambiente con porciones sucesivas de éter etílico R.A., se reunieron las porciones etéreas y fueron lavadas con porciones sucesivas de solución salina saturada y luego con agua destilada, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se les concentró por destilación a vacío obteniendo 1.035 g (58.4%) de insaponificable B.

b) Precipitación de ceras. (Precipitado 1)

1.0 g de la fracción insaponificable B se suspendió en 5 ml de cloroformo caliente, luego se procedió a enfriar gradualmente la suspensión adicionando metanol R.A. frío gota a gota hasta formar un precipitado amorfo, finalmente se adicionó un exceso de metanol y se enfrió con acetona-hielo seco. El precipitado formado se filtró a vacío en frío hasta claridad del filtrado (41).

Este mismo procedimiento se repitió una vez más para lograr una mayor pureza.

Al precipitado así obtenido se le llamó "Precipitado 1".

c) Purificación del precipitado 1 (precipitado 2).

El precipitado 1 se suspendió en etanol 96° a ebullición y se filtró en caliente, ya que existe una porción insoluble en este disolvente.

El filtrado se concentró por destilación a vacío del disolvente y se obtuvieron 0,446 g (44.6 %) de residuo que se le llamó "Precipitado 2" . (7).

Este precipitado 2 se colocó sobre placa preparativa de gel de sílice G 60 Merck para eliminar impurezas de Rf=0, usando como eluyente hexano; acetato de etilo (25:75), revelando con luz UV., las manchas obtenidas se recuperaron por extracción con cloroformo y las fracciones obtenidas se clasificaron en superior e inferior.

d) Columna Cromatográfica de esteroides.

Los 0,368 g (82%) obtenidos en la fracción superior de la placa preparativa se aplicaron sobre una columna de gel de sílice 60 (mallas 70-230 - ASTM) de Merck (1:100), usando como eluyente hexano: acetato de etilo - (25:75). La columna se controló por c.c.f. y así se obtuvieron 0,050 g. (14%) de esteroides puros (algunos de ellos cristalizaron en la salida de la columna).

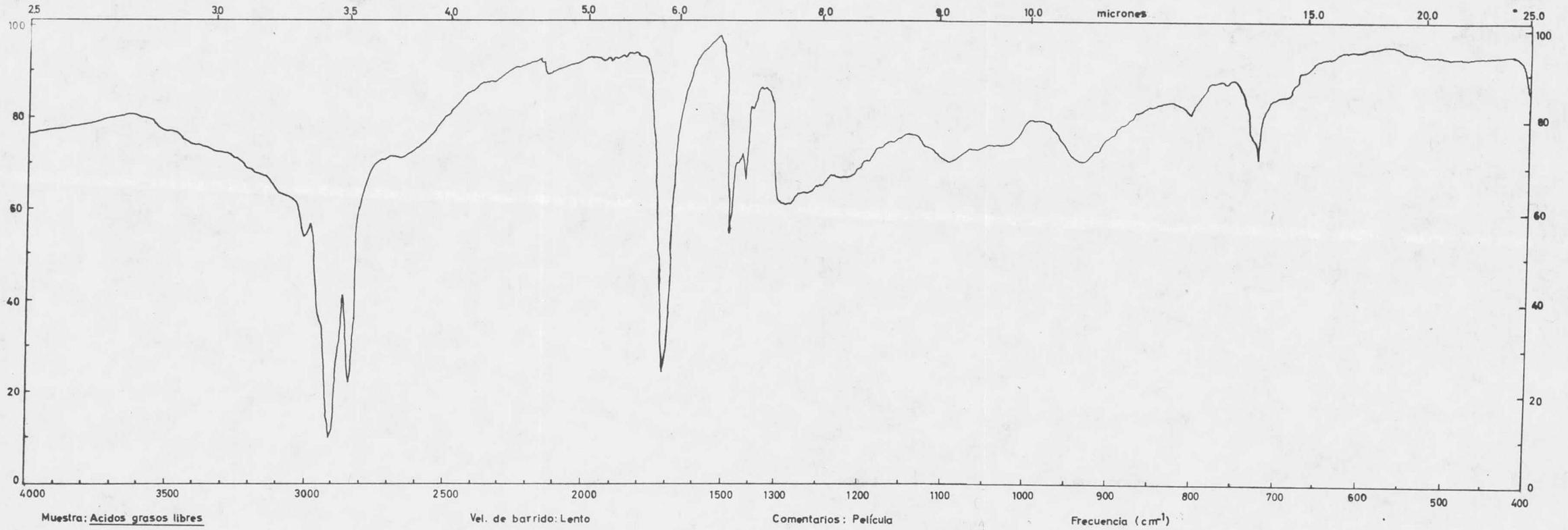
Esta muestra de esteroides obtenida se procesó por cromatografía de gases para identificar y cuantificar los esteroides presentes (Cromatograma No. II y III).

El proceso de purificación del insaponificable, fue seguido por c.c.f. (gel de sílice GF<sub>254</sub> tipo 60 de Merck) con patrones de colesterol y - $\beta$ -sitosterol y se identificaron esteroides por color de revelado y Rf . (42).

R E S U L T A D O S

=====

ESPECTRO INFRARROJO No.1



Muestra: Acidos grasos libres

Vel. de barrido: Lento

Comentarios: Película

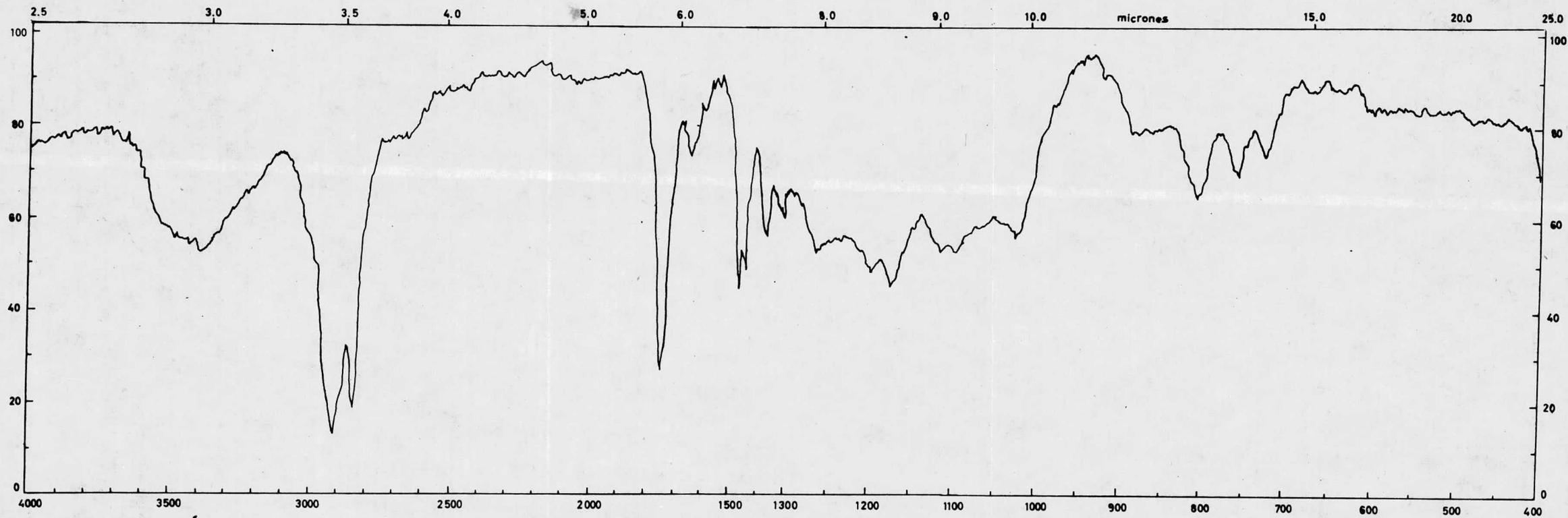
Frecuencia (cm⁻¹)

rendija: N

Interpretación del Espectro No. 1

<u><math>\nu</math> (cm<sup>-1</sup>)</u>	<u>Intensidad</u>	<u>Grupo Funcional</u>	<u>Vibración</u>
3500-2500	fuerte	-COOH	Alargamiento
3010	débil	=C-H	Alargamiento
2950 y 2840	fuerte	-CH <sub>3</sub>	Alargamiento
2920 y 2840	fuerte	-CH <sub>2</sub> -	Alargamiento
1710	fuerte	-C=O (ácido)	Alargamiento
1470	fuerte	-CH <sub>2</sub> -, -CH <sub>3</sub>	Deformación en el plano
1410	media	-CH <sub>2</sub> -CO-	Deformación en el plano
920	débil	-OH	Deformación fuera plano
720-725	débil	-CH <sub>2</sub> -	Deformación en el plano

ESPECTRO INFRARROJO No. 2



Muestra: Esteres Metilicos

Vel. de barrido: Lento  
rendija : N

Comentarios: Película

Frecuencia (cm<sup>-1</sup>)

Interpretación del Espectro No. 2

<u><math>\nu</math> (cm<sup>-1</sup>)</u>	<u>Intensidad</u>	<u>Grupo Funcional</u>	<u>Vibración</u>
3600-3100	fuerte	-OH y OH··O *	Alargamiento
2960	fuerte	-CH <sub>3</sub>	Alargamiento
2920 y 2840	fuerte	-CH <sub>2</sub> -	Alargamiento
1740	fuerte	-C=O (éster)	Alargamiento
1470	fuerte	-CH <sub>2</sub> -, -CH <sub>3</sub>	Deformación en el plano
1435	fuerte	-CH <sub>2</sub> -CO-, -COO-CH <sub>3</sub>	Deformación en el plano
1360	media	-COO-CH <sub>3</sub>	Deformación en el plano
1170	fuerte	-C-O-C (R-COO-CH <sub>3</sub> )	Alargamiento
760	media	-COO-CH <sub>3</sub>	Deformación en el plano
720	media	- CH <sub>2</sub> -	Deformación en el plano

\* -OH y OH··O polimérico, debido a agua residual en la muestra.

# CROMATOGRAMA I

Esteres metílicos de ácidos grasos de  
anteras sin polen de *Salandra nítida*.

Columna 20% DEGS Chromwaw OMCS 80/100 7.5 ft 1/8"  
Temperatura  
Columna 180° C  
Detector 200° C  
Inyector 225° C

Flujo N<sub>2</sub> = 30 ml/min.  
Vel. Carta = 0.1 in/min.

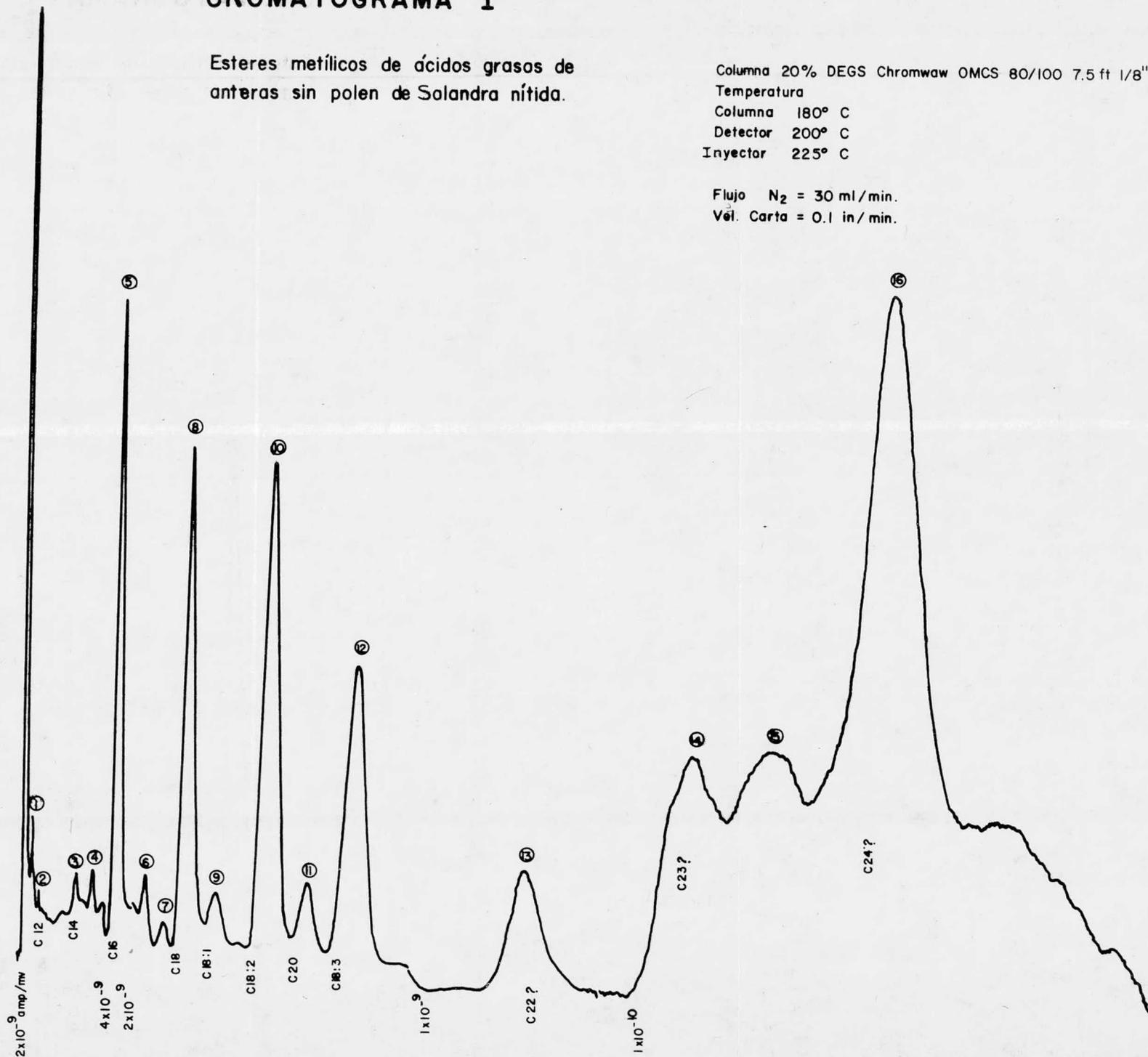


TABLA III: Acidos grasos de anteras sin polen de Solandra nítida.

PICO NO.	ESTER METILICO DEL ACIDO GRASO	NO. DE CARBONOS	(+) %	
			%	% TESIS 1975
1	No id.	- - - -	0.37	- - - -
2	Láurico	12	0.10	- - - -
3	Mirfístico	14	0.50	0.8796
4	No id.	- - - -	0.55	1.2091
5	Palmítico	16	22.64	39.9440
6	No id.	- - - -	0.82	2.0727
7	No id.	- - - -	0.55	1.3562
8	Estearico	18	14.89	22.4541
9	Oleico	18:1	2.58	4.9258
10	Linoléico	18:2	23.23	5.6879
11	Araquídico	20	3.57	7.4223
12	Linolénico	18:3	19.38	1.0028
13	Behénico (*)	22	5.74	7.5263
14	N-Tricosanoico (*), (&)	23	0.32	1.1875
15	No id.	- - - -	0.60	- - - -
16	Lignocérico (*), (&)	24	4.16	3.6920

(\*) Propositiones hechas en base a la tabla y gráfica de la SERIE HOMOLOGA, no confirmadas por falta de ácidos grasos tipo.

(&) Correcciones propuestas a la tesis 1975 (38), en base a la tabla y gráfica de la SERIE HOMOLOGA.

(+) Datos obtenidos del Cromatograma I

GRAFICA DE LA SERIE HOMOLOGA  
DE ESTERES METILICOS

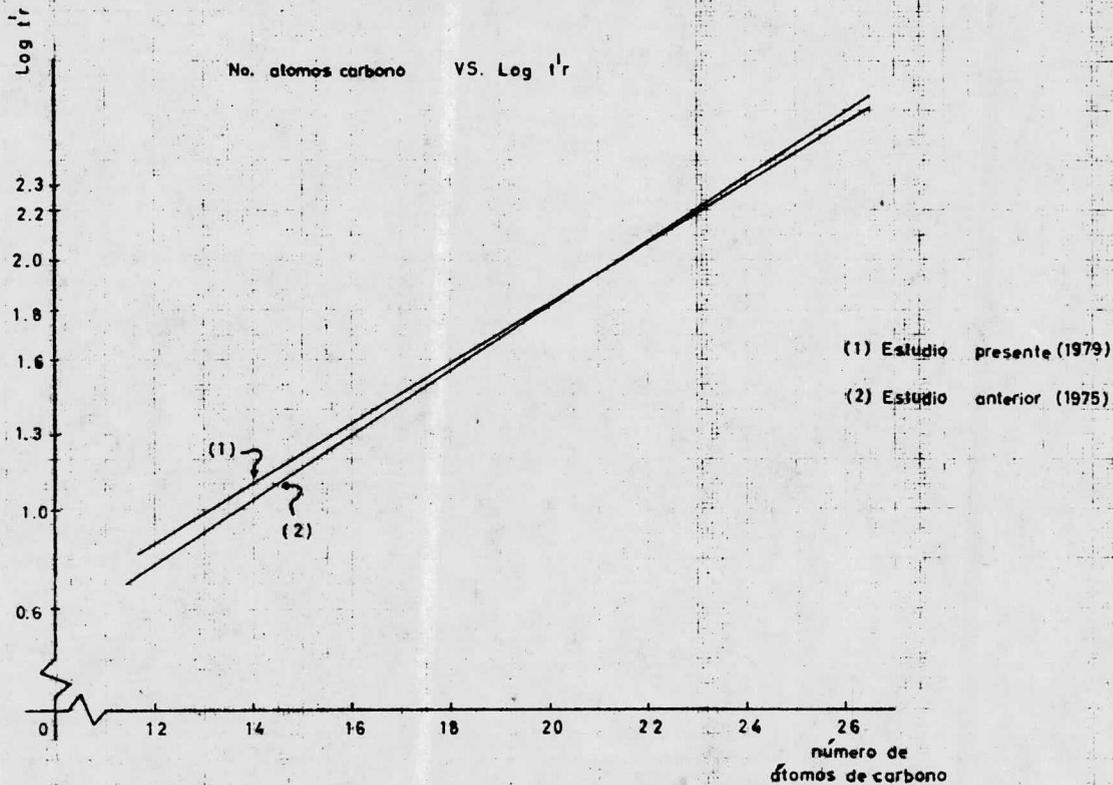


TABLA IV: Datos de la SERIE HOMOLOGA de ácidos grasos saturados línea  
les de anteras con y sin polen de Solandra nítida.

No. Pico Cromatograma I	No. carbonos ac. graso	log t'r <sup>(°)</sup>		No. carbonos Graf.		No. Carbo. Ant. 1 9 7 5
		1979	1975	1979	1975	
3(&)	14	1.097	1.041	14	14	14
5(&)	16	1.342	1.290	16	16	16
8(&)	18	1.585	1.550	18	18	18
11(&)	20	1.826	1.806	20	20	20
13	--	2.074	2.066	22.03	22.04 <sup>(*)</sup>	22
14	--	2.199	2.196	23.06	23.06 <sup>(*)</sup>	24 <sup>(+)</sup>
16	--	2.310	2.325	23.97	24.07 <sup>(*)</sup>	26 <sup>(+)</sup>

(\*) Datos obtenidos por ajuste de la curva mediante técnica de mínimos

(&) Datos usados como puntos de referencia para la curva.

(+) Modificaciones propuestas a la tesis 1975 (38)

(°) t'r = tiempo de retención corregido.

TABLA V: Tiempos de retención relativos de esteroides

<u>Esteroides</u>	<u>XE-61 (PhSi) Rel. a Colestano</u>	<u>XE-61 (PhSi) Rel. a Colesterol</u>
1.- Coprostanol	2.69	0.86
2.- $\Delta^{14}$ -Colestero-3 $\beta$ -ol	3.10	0.99
3.- $\Delta^{5,22}$ -Colestadieno-3 $\beta$ -ol	3.03	0.97
4.- Brasicasterol (24 $\beta$ )	3.66	1.17
5.- Desmosterol	3.72	1.19
6.- $\Delta^{7,22}$ -Colestadieno-3 $\beta$ -ol	3.40	1.09
7.- Colestanol	3.28	1.05
8.- $\Delta^{8(14)}$ -Colestero-3 $\beta$ -ol	3.25	1.04
9.- Campestanol	4.22	1.35
10.- Campesterol (24 $\alpha$ )	4.22	1.35
11.- L <sup>8(14)</sup> -Ergostero-3 $\beta$ -ol	4.22	1.35
12.- 24-Metilcolesterol	4.25	1.36
13.- $\Delta^{7,22}$ -Ergostadieno-3 $\beta$ -ol	4.22	1.35
14.- Ergosterol (24 $\beta$ )	4.34	1.39
15.- Fucosterol	5.50	1.76
16.- $\Delta^{7,22,25}$ -Estigmastatrieno-3 $\beta$ -ol	5.60	1.79
17.- Colestano	1.00	0.32
18.- Colesterol	3.13	1.00
19.- $\beta$ -sitosterol (24 $\alpha$ )	5.21	1.66

a) Estos datos fueron tomados de la referencia No. 43.

b) 1.0% XE-61 (fenilsilicón). Temp. 218°C, flujo N<sub>2</sub> 60 ml/min.

# CROMATOGRAMA II

(Cualitativo)

Esteroles de anteras sin polen  
de *Solandra nitida*.

Columna: 3% OV-17 Chromwax 5 ft 1/8" vidrio

Temperaturas: (°C)

Columna 250° C

Detector 260° C

Inyector 250° C

Flujo N<sub>2</sub>: 40 ml/min.

Vel. Carta: 0.1 in/min.

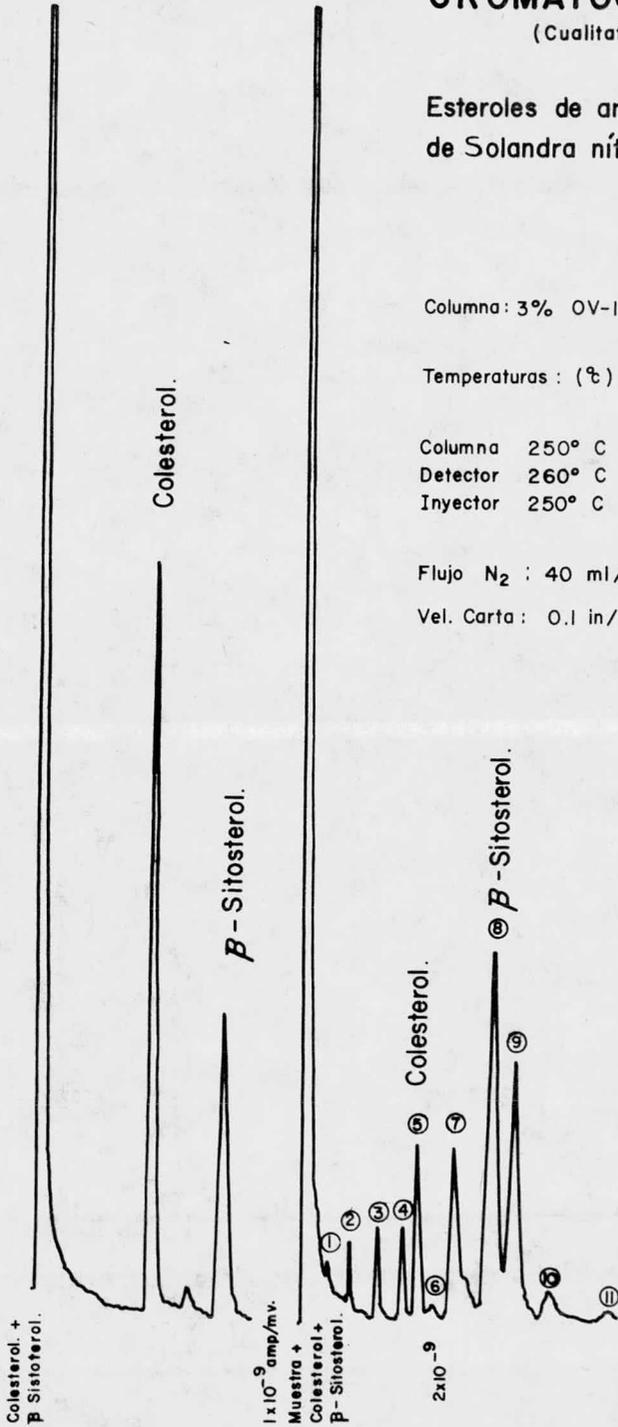


TABLA VI: Esteroles encontrados en anteras sin polen  
de Solandra nítida (análisis cualitativo).

<u>Pico No.</u>	<u>t.r. rel. (*)</u> <u>Colesterol(&amp;)</u>	<u>Compuesto</u>	<u>Compuesto</u> <u>Propuesto (+)</u>
Colesterol	1.00	Colesterol	---
$\beta$ -sitosterol	1.61	$\beta$ -sitosterol	---
1	0.24	---	---
2	0.41	---	17
3	0.66	---	---
4	0.90	---	1,2,3
5	1.00	Colesterol	---
6	1.12	---	4,5,6,7,8
7	1.32	---	9,10,11,12,13,14
8	1.63	$\beta$ -sitosterol	---
9	1.83	---	15,16
10	2.12	---	---
11	2.68	---	---

a) 3% OV-17 (fenil-silicón)

(\*) Datos obtenidos del Cromatograma II.

(&) tr. rel. = tiempo de retención relativo

(+) Compuestos propuestos en base a la TABLA V

# CROMATOGRAMA III

(Cuantitativo)

Esteroles de anteras sin polen  
de *Solandra nítida*.

Columna: 3% OV-17 Chromwax 5 ft 1/8" vidrio

Temperaturas: (°C)

Columna 250° C

Detector 260° C

Inyector 250° C

Flujo N<sub>2</sub>: 40 ml/min.

Vel. Carta: 0.1 in/min.

⑤ = Colesterol.

⑧ =  $\beta$ -Sitosterol.

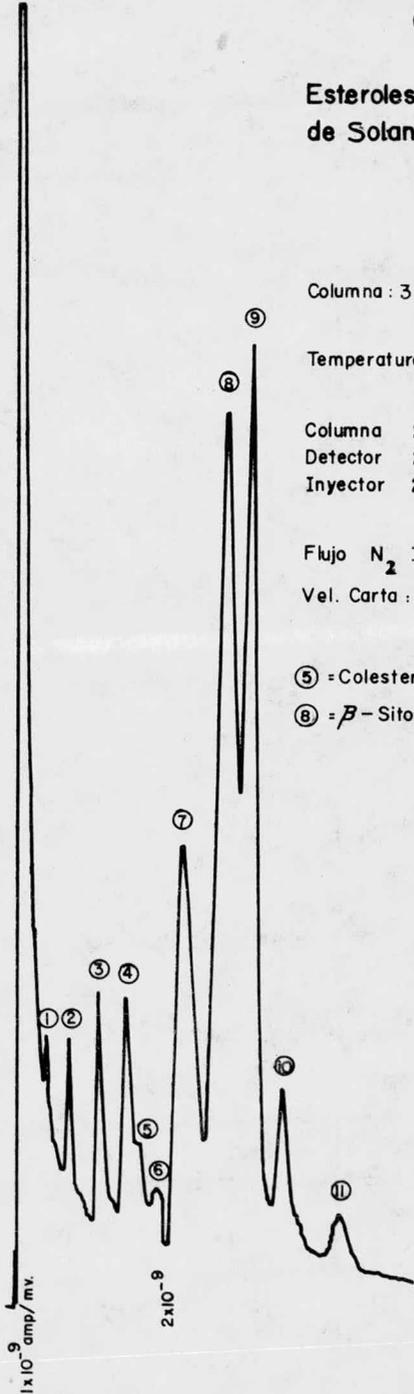


TABLA VII: Esteroles contenidos en anteras sin polen  
de *Solandra nitida* (análisis cuantitativo).

<u>Pico No.</u>	<u>Compuesto (&amp;)</u>	<u>% (*)</u>
1	---	1.28
2	17	1.04
3	---	2.10
4	1,2,3	2.50
5	Colesterol	0.14
6	4,5,6,7,8	0.51
7	9,10,11,12,13,14	14.58
8	$\beta$ -sitosterol	38.25
9	15,16	33.27
10	---	4.47
11	---	<u>1.85</u>
		99.99

(\*) Datos tomados del Cromatograma III.

(&) Compuestos propuestos, tomados de la TABLA V.

C O N C L U S I O N E S  
= = = = =

1.- Se reporta la presencia en anteras, de al menos dos esteroides con -  
firmados por c.g.l. y c.c.f.

a) Colesterol

b)  $\beta$ -sitosterol

El  $\beta$ -sitosterol en mayor proporción, como generalmente sucede en -  
el reino vegetal.

2.- Se detectaron otros esteroides, cuya identificación queda abierta a  
estudios posteriores.

3.- No se confirmó la presencia de un ácido graso C<sub>26</sub>, y se confirmó -  
la presencia de algunos ya reportados.

4.- Se encontraron variaciones en los porcentajes de los diferentes -  
ácidos grasos, debidos quizá, a la ausencia del polen en las ante  
ras motivo de este estudio.

B I B L I O G R A F I A  
= = = = =

- 1.- Martínez, M., Anales del Instituto de Biología, XXXVII, 98, México (1966).
- 2.- Lehninger, A. L., Biochemistry, Worth Publishers, Inc., Sixth Printing, New York (1972).
- 3.- Allinger, N.L., M.P., Cava, y D.C., De Jongh, Química Orgánica, Vol. 2, Ed. Reverté, S.A., México (1973).
- 4.- Morrison, R.T. y R.N. Boyd, Organic Chemistry, Edited By Allyn and Bacon, Inc., Third Edition, Boston (1973).
- 5.- Fieser, L.F. y M. Fieser, Química Orgánica Superior, Vol. 2, Ediciones Grijalbo, S.A., Primera Edición en Español, México (1966).
- 6.- Kirk-Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology, Vol. 18, 835-38, - Interscience Publishers, Second Edition, New York (1969).
- 7.- The Merck Index, Published by Merck & Co., Inc., Ninth Edition, Rahway, N.J., U.S.A. (1976).
- 8.- Kritchesvky, D., Cholesterol, John Wiley & Sons, Inc., New York (1958).
- 9.- Fieser, L.F. y M. Fieser, Steroids, Reinhold Publishing Corporation, New York (1959).
- 10.- Elsevier's Encyclopedia of Organic Chemistry, 14S, 1808s, (1954).
- 11.- Miyake, S. J. Biochem., 2, 27, Japan (1922).
- 12.- Kiesel, A. y B. Rubin, Z. Physiol. Chem., 182, 241 (1929).
- 13.- Fukuda, M. Bull Chem. Soc. Japan, 3, 53 (1928).
- 14.- Standifer, L. N. Ann. Entomol. Soc. Am., 59 (5), 1005, Eng (1966).
- 15.- Battaglini, M. y G. Bosi, Apicolt. Ital., 35 (2), 37, Ital (1968).
- 16.- Robinson, F.A. y J. L. Nation, J. Apicult. Res., 9 (3), 121, Eng. (1970).
- 17.- Matsuyama, J., M. Ishikawa, G. Tomoda, Tamagawa Daigaku Nogakubu Kenkyu Hokoku, 13, 46, Japan (1973).

- 18.- Spada, A., D. Coppini, D. y A. Monzani, Ann. Chim., 48, 181, Rome (1958).
- 19.- Ching, T.M. y K. Ching, Science, 138, 890 (1962).
- 20.- McIlwain, D.L. y E.B. Clinton, Biochemistry, 5 (12) 4054, Eng. (1966)
- 21.- Richert, M.T. Oleagineux, 26 (4), 261, Fr. (1971).
- 22.- Gunasekaran, M. y W.R. Andersen, Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol, 6 (2), 633 (1973).
- 23.- Hugel, M.F. Ann. Abeille, 8 (4), 309 (1965).
- 24.- Kwaikowski, A. Acta Soc. Botan. Polon., 33 (3), 547 (1954)
- 25.- Devys, M. y M. Barbier, Bull. Soc. Chim. Biol., 49 (7), 865, Fr. (1967)
- 26.- Knights, B.A. Phytochemistry, 7 (9), 1707, Eng. (1968).
- 27.- Hoeberichts, J.A. y H.F. Linskens, Acta Bot. Neer., 17 (6), 433, Eng. (1968).
- 28.- Anderson, R.J. J. Biol. Chem., 55, 611 (1923).
- 29.- Hugel, M.F. Ann. Abeille, 5 (2), 97 (1962)
- 30.- Opute, F.I. Phytochemistry, 14 (4), 1023 (1975).
- 31.- Standifer, L.N., Devys, M. y Barbier, M. Phytochemistry, 7 (8), 1361 (1968).
- 32.- Hugel, M.F., W. Vetter, H. Audier, M. Barbier, y E. Lederer, Phytochemistry, 3 (1), 7 (1965)
- 33.- Devys, M. y M. Barbier, Compt. Rend., 261 (22), 4091 (1965).
- 34.- Tappi, V.G. y P. Kerrer, Helvetica Chimica Acta, 32 (42-43), 322 (1949).
- 35.- Karrer, D. y E. Krause, Helvetica Chimica Acta, 31, 802 (1948).
- 36.- Giral, F., T. Reguero, C. Rivera, Ciencia, XXIX, 229, Mex. (1975).
- 37.- Rivera, C., E. Piñeyro, y F. Giral, Experientia, 32, 1940 (1976).
- 38.- TESIS, Suárez, J.B. Estudio de la grasa de las anteras de S. nítida, UNAM, México (1975).

- 39.- Jehkins, G.L., A.G. Du Mez, J.E. Christian, y G.P. Hager, Química Farmacéutica Cuantitativa, Ed. Atlante, S.A., Méx. (1951).
- 40.- Barnard, J.A., R. Chayen, Métodos Modernos de Análisis Químico, - Ediciones URMO, Bilbao España (1970).
- 41.- Warth, H.A., The Chemistry and Technology of Waxes, Reinhold Publishing Co., Second Edition, New York (1956).
- 42.- Bolliger, H.R., M. Brenner, H. Ganshirt, H.K. Mangold, H. Seiler, E.Stahl, y D. Waldi, Thin Layer Chromatography, Academic Press Inc., Publishers, New York (1965).
- 43.- Nobuo, I., R. Watanuki, T. Kyosuke, y S. Kiyoshi Anal. Chem., 40 (7) 1139 (1968).
- 44.- Dyer, J.R. Aplicaciones de Espectroscopía de Absorción en Compuestos Orgánicos, Ed. Prentice Hall Internacional, Madrid (1973).
- 45.- Nakanishi, K., Infrared Absorption Spectroscopy-Practical-, Holden Day Inc., Second Printing, San Francisco (1964).

Tesis por computadora  
único sistema en el país

**TESIS**

**RAPIDAS**

Paseo de las Facultades Núm. 34 Locales C-D

Tels. 550-86-32 y 550-87-43