

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



DEPTO. DE PRÁCTICAS Y
EXÁMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

143

ALCALOIDES PRESENTES EN

RAIZ DE SOLANDRA NITIDA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

Rosales Carlos

CARLOS ROSALES LEDEZMA

ASESOR DEL TEMA: M. EN C. MA. TERESA REGUERO REZA

México, D. F.

1981



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado originalmente según el tema:

PRESIDENTE	Profesor: Dr. Rafael Castillo Bocanegra
VOCAL	Profesor: M. en C. Ma. Teresa Reguero Reza
SECRETARIO	Profesor: Q.F.B. Nilda Navarro Padilla
1er. SUPLENTE	Profesor: Q.F.B. Cristina Díaz Padilla
2do. SUPLENTE	Profesor: Q.F.B. Lourdes García Peña

Sitio donde se desarrolló el tema:

**Departamento de Química Farmacéutica y Productos Naturales
División de Estudios de Posgrado
Facultad de Química
U.N.A.M.**

Sustentante:

CARLOS ROSALES LEDEZMA



Aesor del tema:

M. en C. Ma. Teresa Reguero Reza.



**A mi maestra Ma. Teresa Reguero R.
con profundo agradecimiento.**

C O N T E N I D O :

OBJETIVO

ANTECEDENTES TEÓRICOS

PARTE EXPERIMENTAL

RESULTADOS

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA

OBJETIVO

Las especies del género Solandra constituyen un grupo fitoquímico uniforme. Se han aislado de ellas diversos alcaloides, todos del grupo del tropano, los cuales son de un gran interés por sus propiedades tanto químicas como farmacológicas, (7).

De los estudios preliminares que se realizaron en la especie Solandra nitida se observó que la única parte de la planta que contenía alcaloides era la raíz. Sin embargo la manera de propagar esta planta es a través de sembrar un pedazo de tallo, el cual se encuentra exento de alcaloides. En el momento que aparecen las raicillas primarias se puede observar que éstas ya contienen alcaloides.

El objetivo del presente trabajo es aislar e identificar los alcaloides presentes en la raíz de Solandra nitida.

Obviamente es importante determinar, por un lado la concentración de estas sustancias y por otro la estructura química de las mismas con el objetivo final de obtener un conocimiento más preciso acerca de los constituyentes de la raíz, en lo particular, y de aumentar el conocimiento de la bioquímica vegetal, en lo general.

ANTECEDENTES TEÓRICOS.
=====

El hombre ha vivido desde la antigüedad rodeado de vegetales. Empezó colectando frutos y raíces para su alimentación, pero pronto les encontró otros muchos usos, principalmente en el tratamiento de sus enfermedades. Actualmente se reconoce que las propiedades venenosas o curativas - de las plantas dependen básicamente del tipo de sustancias que contienen, de ahí la importancia del conocimiento químico de éstas.

A. Género Solandra.

Entre las plantas dicotiledoneas tenemos a la familia de las Solanaceas, ampliamente relacionada con la vida diaria del hombre pues contiene vegetales tan comunes como: - jitomate, papa, chiles, petunias, tabaco, etc. (29).

Solandra es un género pequeño dentro de la subfamilia Daturea perteneciente a la familia Solanaceas.

Las Solandras son plantas trepadoras, leñosas, que - crecen en lugares de clima templado y húmedo. Tienen flores grandes y vistosas de 17 a 23 cm, tubulosas, solitarias, - comúnmente aromáticas, blanquecinas, amarillentas o amarillas. Se cultivan en muchos lugares con fines ornamentales sobre todo en las paredes de los jardines y cubriendo las terrazas de los patios.

En México se conocen cuatro especies:

Solandra guttata

Solandra brevicalyx

Solandra guerrerense

Solandra nitida

El nombre Solandra se le dió a estas plantas por los discípulos de Linneo en honor de Daniel C. Solander, naturalista sueco y viajero del siglo XVIII, (13).

La Solandra nitida es una planta ramificada, trepadora, colgante, con grandes flores amarillas. Se le conoce con los nombres vulgares de: Copa de oro (en el Distrito Federal, en el Estado de México, en Morelos), Tecomaxochitl (en lengua nahuatl), Tetona (en Veracruz), Bule (en Guerrero).

Las hojas lustrosas crecen alternadas sobre largos peciolos; son oblongas hasta llegar a ser ampliamente elípticas, lisas, obtusas o abruptamente corto-acuminadas. Las flores terminales son solitarias, con un cáliz de cinco ángulos que tienen tres o cuatro lóbulos desiguales. La corola tiene forma de embudo, el conducto es cilíndrico, el cuello oblicuo campanulado con amplios lóbulos frágiles volteados hacia fuera. Las nervaduras del conducto son verdes por fuera y púrpura tirando a café por dentro.

El androceo está formado por cinco estambres cada uno con un filamento largo y una antera muy grande. El ovario es súpero, tiene un estilo con el estigma entero y bífido, es más largo que los estambres, los cuales sobresalen de la corola.

Se le ha clasificado también como: Solandra longiflora

y Solandra grandiflora, debido a que la flor completa que mide unos 23 cm de largo y de 15 a 20 cm en el diámetro de la boca, a veces toma una forma globosa.

Se dice que el agua que contiene el cáliz, antes de abrirse las flores, se aplica a los ojos para aliviar la conjuntivitis, (19).

B. Alcaloides.

Los alcaloides son un grupo muy heterogeneo de bases vegetales nitrogenadas con acción fisiológica más o menos intensa sobre los animales, (4).

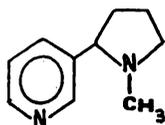
Con muy pocas excepciones tienen cuando menos un átomo de nitrógeno en un heterociclo. Las bases púricas y pirimidínicas no se incluyen dentro del grupo por carecer de acción fisiológica notable y por su relación bioquímica con los ácidos nucleicos.

Entre las gimnospermas se han aislado unos 115 alcaloides; dentro de las angiospermas, las monocotiledoneas han dado unos 488 alcaloides y de las dicotiledoneas se han obtenido unos 3600 diferentes.

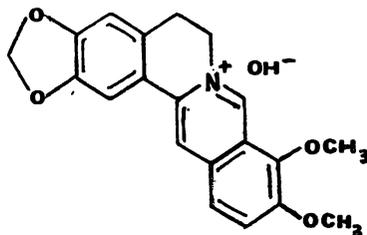
La mayoría de los alcaloides son sólidos incoloros, aunque algunos como la nicotina son líquidos, o presentan coloración como la berberina que es amarilla.

La función de los alcaloides en las plantas no se conoce con claridad. Se ha pensado que pueden ser productos terminales del metabolismo del nitrógeno; también se les -

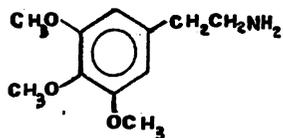
ESTRUCTURA DE ALGUNOS ALCALOIDES REPRESENTATIVOS



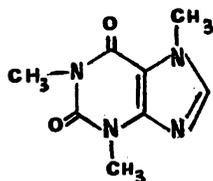
nicotina



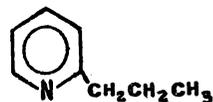
berberina



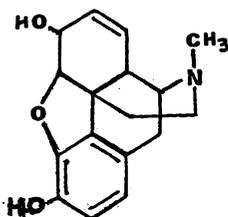
mezcalina



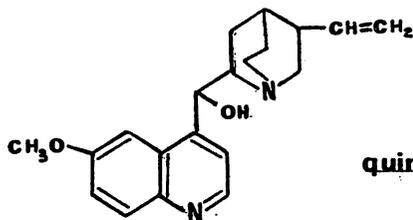
cafeína



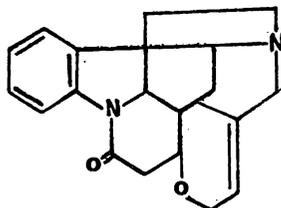
coniina



morfina



quinina



estricnina

ha asociado con la protección del vegetal frente a los ataques predatorios de insectos y animales herbívoros. Existen datos de que algunos pueden intervenir en el crecimiento vegetal por su capacidad de formar quelatos o mediar en fenómenos de óxido - reducción.

Casi todos los alcaloides se encuentran en los vegetales como sales de ácidos orgánicos, otros aparecen en forma de glicósidos de la rhamnosa, galactosa y glucosa. Algunos se hallan en forma de ésteres de ácidos orgánicos de complejidad variable (v. gr. los del grupo del tropano).

C. Alcaloides del Tropano.

Los alcaloides del grupo del tropano presentan varias características químicas en común, particularmente la de ser ésteres de ácidos orgánicos combinados con hidraminas bicíclicas, (18). Se incluyen l-hiosciamina y su isómero - atropina, cocaína, escopolamina o hioscina y una serie de alcaloides secundarios.

Estos alcaloides existen en las Solanaceas. Extrayéndose principalmente de las hojas de Atropa belladonna. Datura stramonium y Hyoscyamus niger (beleño), (25).

Los alcaloides de este grupo se extraen generalmente de las plantas con agua, con ácidos diluidos, o -en condiciones básicas- con disolventes orgánicos como alcohol o cloroformo.

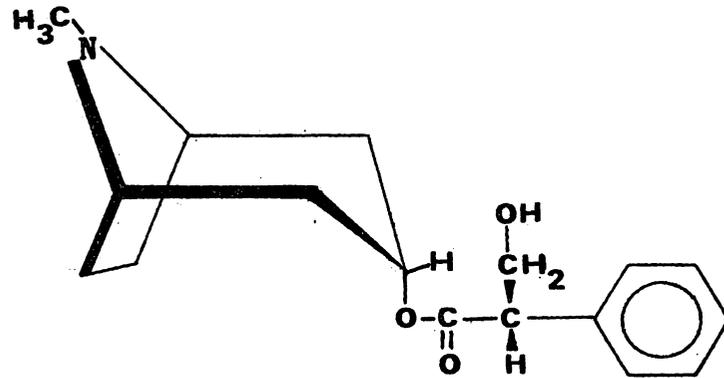
Todos los alcaloides de este grupo tienen como esqueleto básico al nortropano que es el azabicyclo [3.2.1.] octano. De la misma forma que otros grupos de alcaloides, - los miembros del grupo del tropano son ésteres de aminoalcoholes y forman por hidrólisis aminoalcoholes. A excepción de la oscina todos pueden ser reesterificados para dar el alcaloide original, (23).

La mayoría de los alcaloides del tropano dan como producto de hidrólisis, utilizando barita o ácidos minerales acuosos, aminoalcoholes monohidroxilados como son la tropina, pseudotropina y nortropina ; pueden dar aminoalcoholes dihidroxilados como la valerina, o también compuestos trihidroxilados como la teloidina .

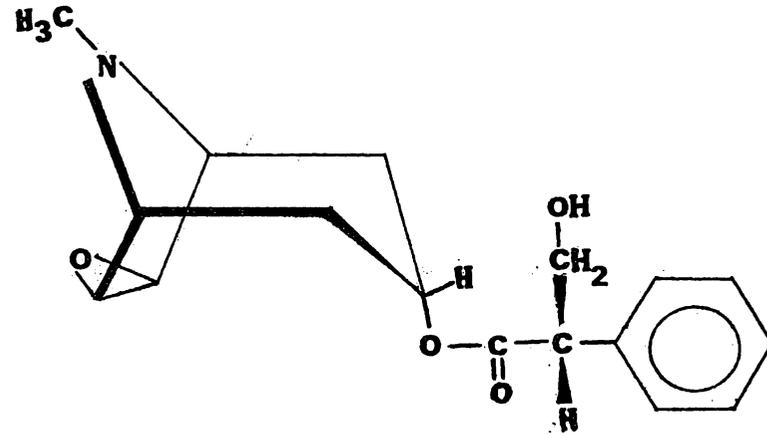
La escopolamina dependiendo de las condiciones de la hidrólisis puede dar escopina o bien oscina.

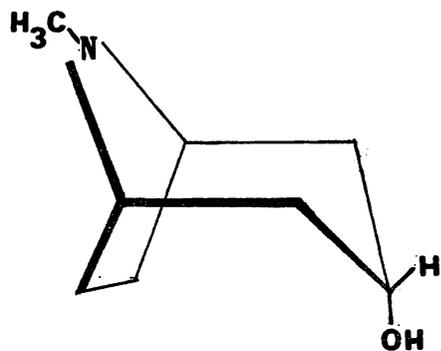
Los ácidos que se encuentran como producto de la hidrólisis varían desde ácidos alifáticos de cinco átomos de -- carbono como son el 2 y 3 metilbutírico y el ácido tíglico, hasta ácidos aromáticos como el ácido benzóico, verátrico, vanílicico y desde luego ácidos trópico y cinámico.

Cuando se hidroliza la atropina se tienen como productos de la hidrólisis tropina y ácido (+)-trópico; mientras que la hiosciamina da en cambio como productos de la hidrólisis tropina y sólo ácido (-)-trópico. El calentamiento o tratamiento con alcalis convierte a la hiosciamina en atropina. Ambos alcaloides atropina e hiosciamina son ésteres del ácido trópico y la tropina.

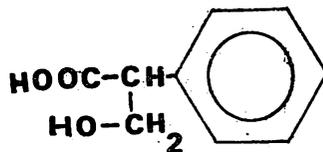


ATROPINA

**ESCOPOLAMINA**



TROPINA



ÁCIDO TRÓPICO

El nombre genérico que se les dá a los ésteres de la tropina es el de tropeínas.

La atropina se puede obtener ya sea por extracción de plantas, o bien, por síntesis, aunque esta última tiene poco interés comercial. La síntesis total sirvió para confirmar la estructura de la molécula; siendo la más práctica - la síntesis de Robinson con dialdehído succínico, metilamina y ácido acetondicarboxílico, que da en un solo paso tropinona. La reducción de la tropinona da tropina, que por reesterificación con cloruro de acetiltropoilo da acetilatropina, la cual con una hidrólisis selectiva subsiguiente del grupo acetilo da atropina. (Figura 1).

La escopolamina y la hioscina, como ya se mencionó -- antes, generan por medio de una hidrólisis ácida o alcalina oscina (conocida también como escopolina) y ácido trópico racémico o ácido (-)- trópico respectivamente. Si la hidrólisis se realiza con métodos enzimáticos, especialmente usando lipasa pancreática, ambos alcaloides dan un isómero de la oscina que es la escopina. La actividad óptica de la escopolamina es causada por el grupo tropoilo, por lo que la oscina y la escopina son ambas ópticamente inactivas, (23).

La escopina es convertida fácilmente, particularmente por bases, en oscina. Por lo tanto se encuentra que la escopina es el producto primario de la hidrólisis del alcaloide, mientras que la oscina es un producto de transformación.

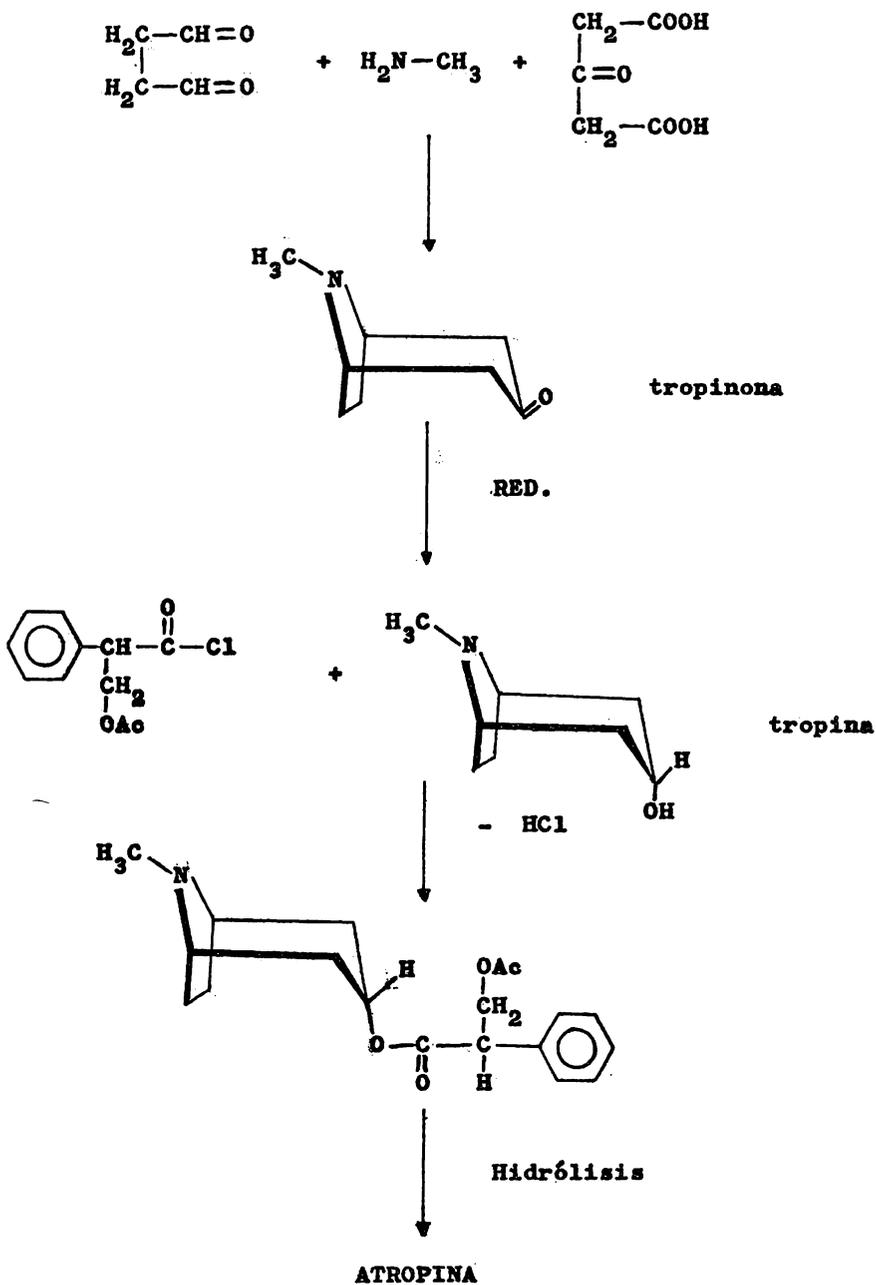
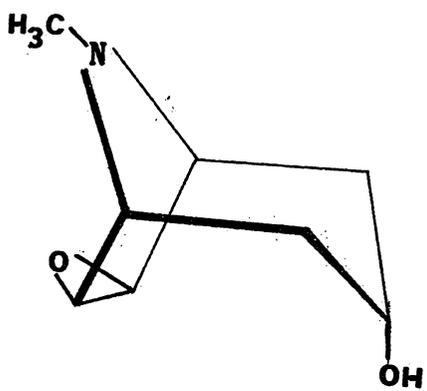
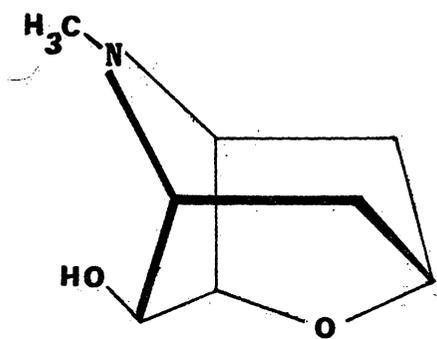


Fig. 1. SÍNTESIS DE ATROPINA.



ESCOPINA



OSCINA

La cocaína que es un analgésico muy potente, se hidroliza en solución ácida a ácido benzóico, metanol y un ácido carboxílico llamado ecgonina, el cual se reconoce como carboxitropina. La planta de donde se extrae principalmente este alcaloide es Erytroxylum coca.

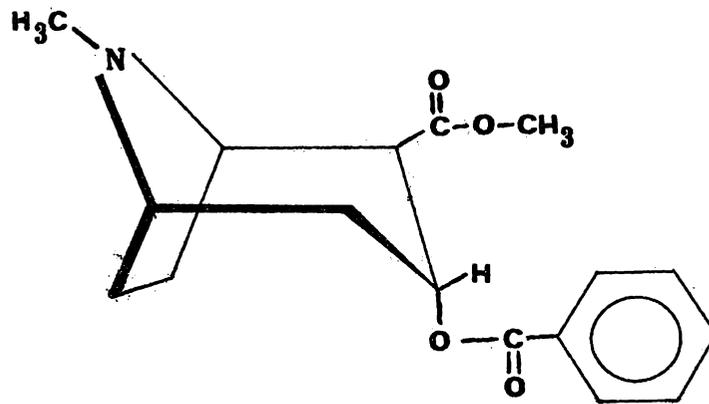
Otros alcaloides del grupo del tropano que se encuentran en menores cantidades en la familia de las Solanaceas son convolvina, convolamina (en Convolvulus pseudocantabrica), cinamil-cocaína, α y β trujillinas.

Uno de los aspectos de mayor interés para llegar al conocimiento completo sobre los productos secundarios del metabolismo de los vegetales, como son los alcaloides, es el de su biogénesis, esto es, los pasos que sigue la planta para sintetizar estos compuestos.

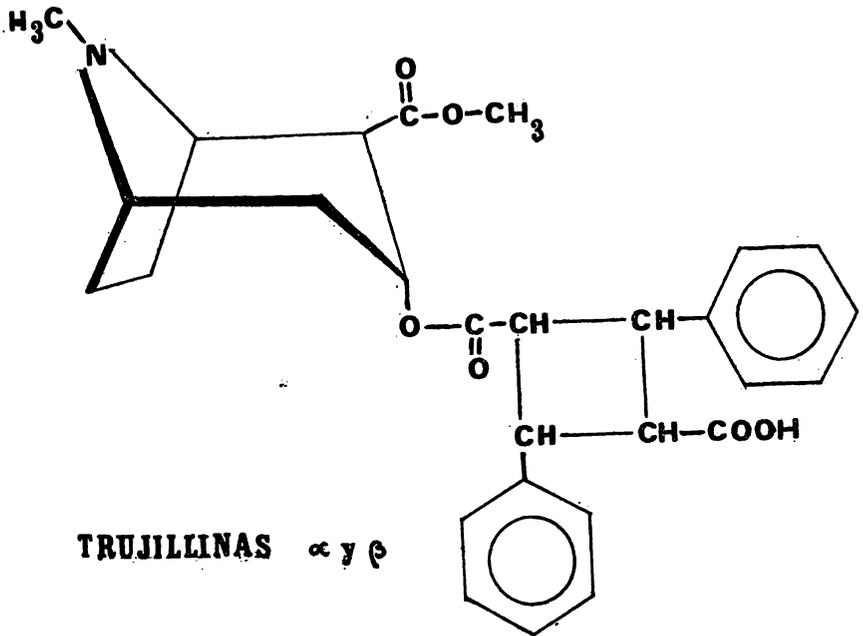
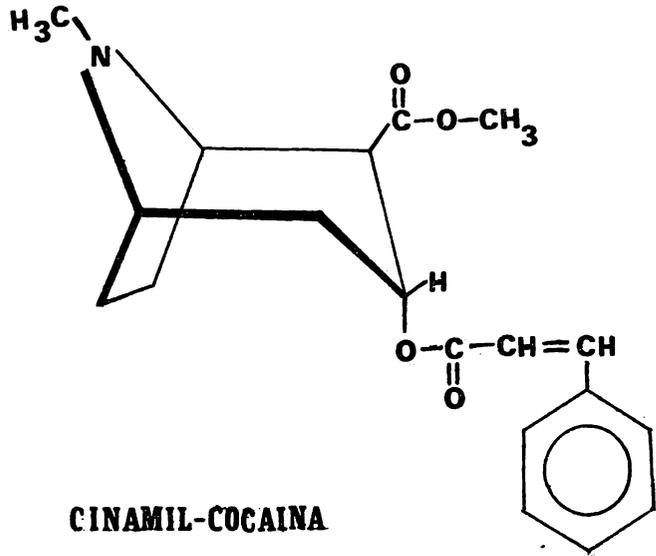
Una ruta biogénica se conoce en forma completa cuando en la planta se han podido identificar todos los compuestos intermediarios que llevan al producto secundario final, a partir de precursores del metabolismo básico (aminoácidos, carbohidratos, lípidos), y todas las enzimas que realizan las diversas transformaciones de éstos.

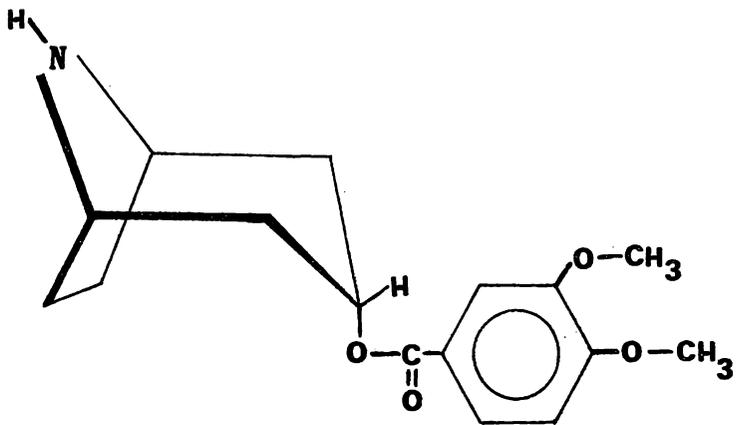
Los estudios sobre biogénesis se realizan por dos métodos principales: a) las síntesis de las sustancias en condiciones fisiológicas y b) el empleo de precursores radiactivos que se dan a la planta total y recuperación a partir de ésta de la sustancia que se estudia con la marca radiactiva incorporada. De los dos métodos el segundo es el más usado y confiable.

17

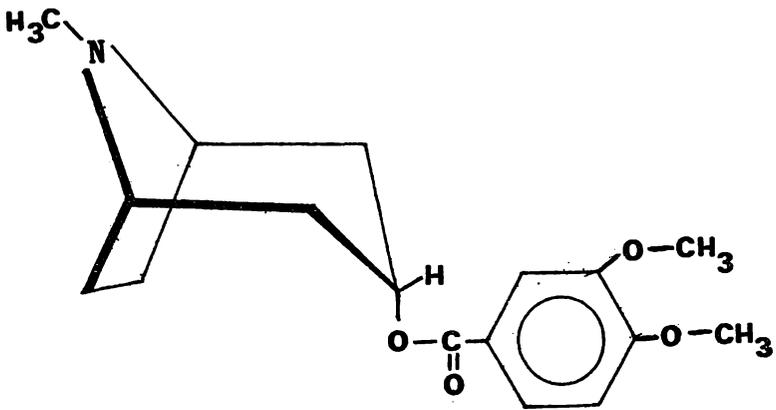


COCAINA





CONVOLVINA



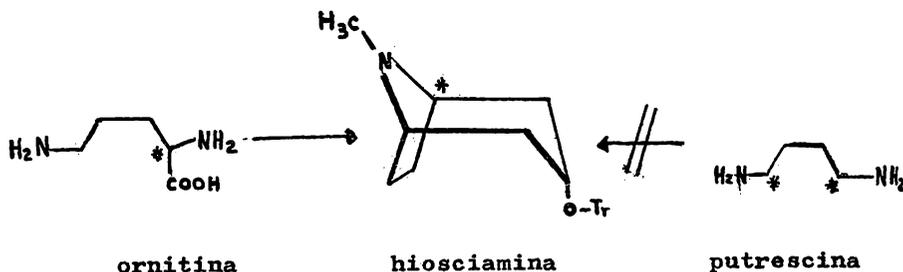
CONVOLAMINA

Los aminoácidos son precursores de muchas biomoléculas importantes, entre ellas hormonas, vitaminas, coenzimas, - alcaloides, antibióticos, etc. Los aminoácidos aromáticos son en particular precursores muy versátiles de muchos alcaloides, (15)(4).

En el caso de los alcaloides del tropano, no se ha podido lograr la síntesis en condiciones fisiológicas de una 3-tropanona a partir de dialdehído succínico, metilamina y ácido aceton=dicarboxílico, lo cual prueba que los tropanos en la planta, no derivan del dialdehído succínico ni de sus derivados.

El verdadero precursor de los tropanos se encontró en experimentos con Datura stramonium, a la que se le añadió α -[^{14}C]-ornitina, pudiendo después recuperar hiosciamina con una gran incorporación de marca en los carbonos 1 ó 5, (26).

La putrescina, derivado de la ornitina, (15), se creía podía ser un precursor, pero al darla marcada a plantas de Datura, no se encontró incorporación de la marca en el alcaloide extraído de éstas.

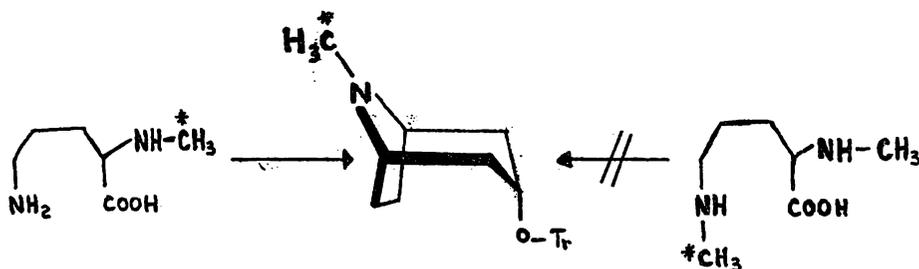


Los átomos de carbono 1 y 5 y por lo tanto los carbonos 6 y 7 de la tropina, son todos derivados de la ornitina, la cual se forma en las plantas a partir del ácido glutámico, en la vía de síntesis de la arginina, (15).

Usando ácido acético marcado tanto en el metilo como en el carboxilo se encuentra incorporación de la marca en el anillo de piperidina, por lo que, la acetoacetilcoenzima A tiene que proporcionar los carbonos 2, 3 y 4 para la porción de piperidina de los tropanos.

Una vía posible de la formación de la tropina en la planta se muestra en la figura 2.

Se ha reportado que la α -N-metil- $[^{14}\text{C}]$ -ornitina puede servir como precursor en experimentos de incorporación, dando hiosciamina N-metil marcada. Por el contrario con δ -N-metil- $[^{14}\text{C}]$ -ornitina, la marca no se incorporó al alcaloide. Por lo tanto la α -N-metilornitina es un posible precursor de los tropanos.



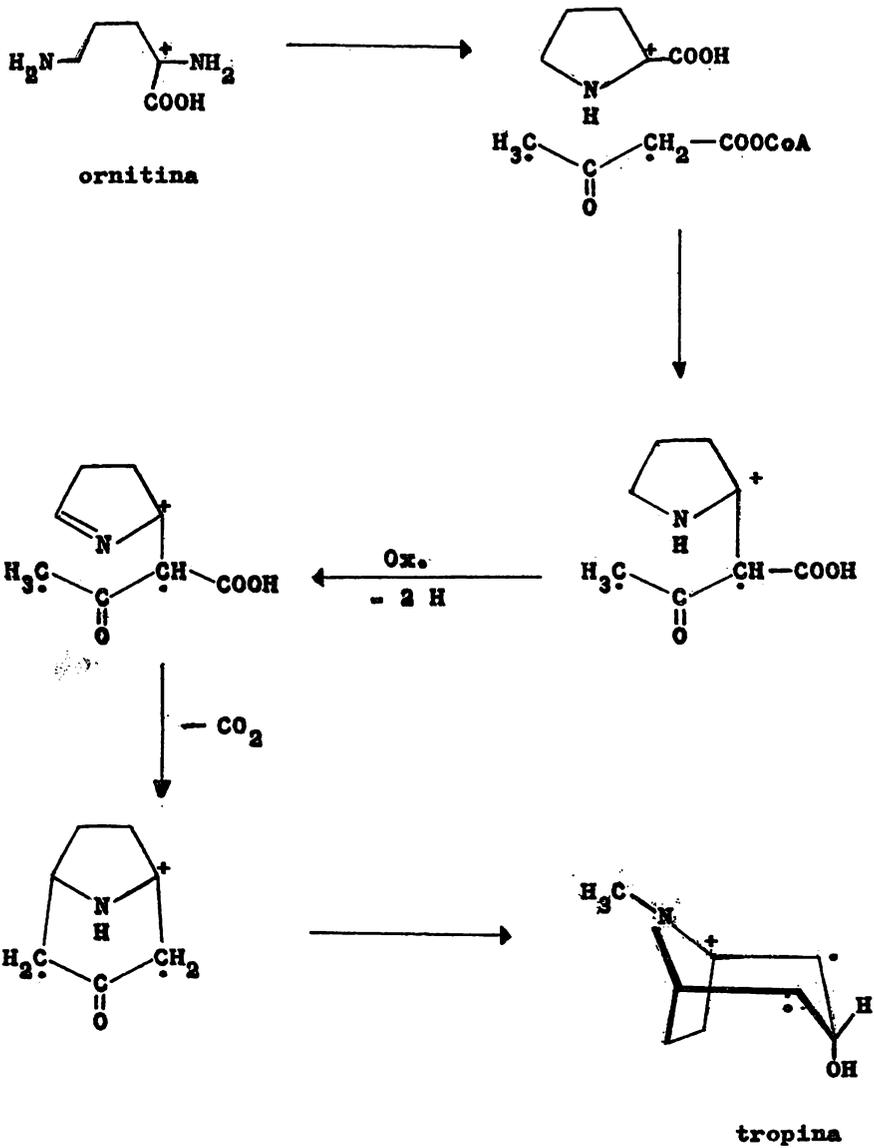


Fig 2. BIOGÉNESIS DE TROPINA.

En la biogénesis del ácido trópico se ha encontrado - que el precursor es el aminoácido fenilalanina. Cuando el aminoácido está marcado en el carbono 3 con ^{14}C , se extrae de la planta hiosciamina la cual contiene ácido- $[2-^{14}\text{C}]$ -trópico. Por otro lado se encuentra que la fenil- $[2-^{14}\text{C}]$ -alanina produce ácido- $[3-^{14}\text{C}]$ -trópico. Esto es, el carbono 3 de la fenilalanina da el carbono 2 para el ácido trópico y el carbono 3 de éste proviene del carbono 2 de la fenilalanina. (Ver figura 3).

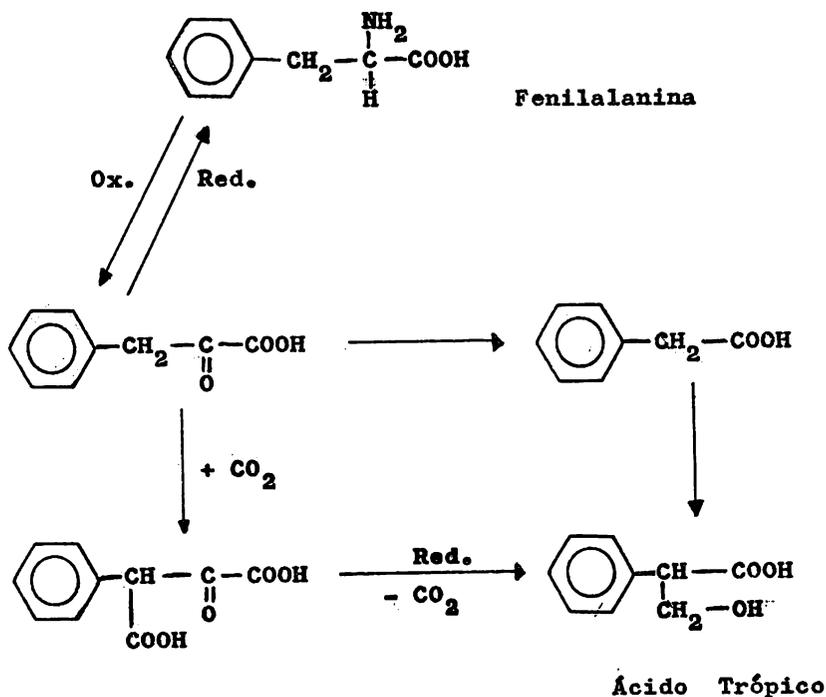


Fig 3. BIOGÉNESIS DEL ÁCIDO TRÓPICO.

Aunque la hiosciamina y la hioscina se encuentran juntas en la mayoría de las plantas que tienen alcaloides del tropano, se forman en diferentes períodos del metabolismo. Se ha encontrado en cultivos de raíz de Datura stramonium que (-)-hiosciamina se oxida a (-)-6-hidroxihiosciamina y ésta a hioscina, (26). Esto demuestra que un alcaloide es el precursor del otro.

D. Actividad biológica.

Los alcaloides de las Solanaceas poseen dos acciones farmacológicas fundamentales: a) anticolinérgica, bloqueando la acción muscarínica de la acetil colina; b) acción sobre el sistema nervioso central, estimulante o depresora según el caso, (16).

Tanto la atropina como la escopolamina son antagonistas competitivos de la acetil colina sobre todo en músculo cardíaco, músculo liso y algunas células glandulares.

La atropina tiene acción muy notable sobre el ojo. Aplicada directamente a la conjuntiva (solución al 0.5 a 1%) produce midriasis (dilatación de la pupila) por parálisis del esfínter del iris; y cicloplejía (parálisis de la acomodación) por relajación del músculo ciliar.

Sobre el sistema cardiovascular disminuyen la frecuencia a pequeñas dosis, pero a dosis mayores (1 a 2 mg) la - pueden aumentar hasta 150 pulsaciones por minuto, debido - al bloqueo de los impulsos vagales.

Se considera a la atropina como estimulante del sistema nervioso central, y a la escopolamina como depresor, - aunque los efectos producidos realmente dependen de la dosis. Con dosis bajas ambos producen sedación. Aumentando - la dosis causan estimulación que puede progresar hasta el delirio. Con dosis muy elevadas las dos pueden producir coma.

Debido a su acción sobre sistema nervioso central, po seen también cierto efecto sobre el aparato respiratorio . La atropina a dosis terapéuticas, (2), puede aumentar algo la frecuencia y amplitud de la respiración; por el contrario la muerte por intoxicación atropínica se produce - por parálisis de la respiración. La escopolamina deprime - la respiración en igual forma a dosis altas.

Estos alcaloides disminuyen el tono y la motilidad de las vías digestivas (peristaltismo), sobre todo a nivel de duodeno, yeyuno y colon; reducen también el volumen de sus secreciones. La morfina produce constipación espasmódica , pero este efecto es reducido considerablemente con el uso simultáneo de atropina.

Sobre las vías biliares la atropina produce un efecto antiespasmódico muy leve.

En el hombre la atropina provoca generalmente estimulación de los centros cerebrales bulbares. A dosis elevadas tóxicas, se produce inquietud, agitación, risas, alucinaciones y delirio, los cuales se han comparado con la ebriedad alcoholica. A dosis mayores causa depresión, coma y muerte.

La escopolamina a dosis terapéuticas, (2), actúa como depresora central, produciendo sedación, somnolencia, - amnesia y sueño. Las dosis altas deprimen los centros bulbares y la muerte se produce por parálisis de éstos.

La atropina y la escopolamina se administran previamente a anestésicos por inhalación, para disminuir la excesiva secreción salival y del tracto respiratorio.

La escopolamina ayuda al tratamiento de la enfermedad de Parkinson, pues suprime la rigidez y el temblor.

PARTE EXPERIMENTAL.
=====

1. Los disolventes empleados en la realización de este trabajo fueron proporcionados por el cuarto de destilación de la División de Estudios de Posgrado, purificados.

Los disolventes grado Reactivo Analítico empleados -- son de la casa Merck.

2. Todos los reactivos usados se prepararon con sustancias comerciales grado Reactivo Analítico de Merck.

3. Para las cromatografías en capa fina, se utilizó Gel de sílice GF₂₅₄ de Merck, o bien, Alúmina básica tipo D5-F de Fluka, como fases estacionarias. Los sistemas eluyentes fueron:

I) cloroformo

II) metanol

III) cloroformo-acetona-dietilamina (50-40-10)

IV) metanol-acetona-dietilamina (50-50-1.5)

En todas las placas se usaron como patrones atropina y escopolamina. La detección de alcaloides se realizó con luz ultravioleta y reactivo de Dragendorff.

4. Los espectros de infrarrojo se determinaron en la División de Estudios de Posgrado, de la Facultad de Química, en un espectrómetro Perkin Elmer 237, en pastilla (KBr). - Las frecuencias están dadas en cm^{-1} .

5. El espectro de RMN se determinó en la División de Estudios de Posgrado, de la Facultad de Química, en un espectrómetro Varian modelo EM-390 .

6. Los puntos de fusión se determinaron en un aparato para puntos de fusión Fisher - Johns. Fisher Scientific Co.

La Solandra nitida utilizada en el presente trabajo - fue recolectada en Cuernavaca Morelos. Una vez separadas - las diferentes partes de la planta: hoja, corola, caliz, - tallo, fruto y raíz; se procedió a realizar la prueba de - alcaloides de la siguiente manera:

1 gramo de cada parte de la planta previamente humede- cida con solución al 25% de NH_4OH , se coloca en un tubo de ensayo y se pone a macerar durante 24 horas con cloroformo. A una porción del extracto clorofórmico se le añade ácido clorhídrico R.A., y una o dos gotas del reactivo de Dragen dorff o de reactivo de Mayer, dando en el primer caso un - precipitado café rojizo, y en el segundo un enturbiamiento blanco de la solución, en el caso de que las reacciones -- sean positivas, (4).

Una vez efectuada la prueba anterior y de acuerdo a - los resultados que se muestran en la tabla I, se decidió - hacer la extracción de la raíz por ser la única parte de - la planta que dió prueba positiva de alcaloides. Para ello se separó la raíz en: raíz pequeña (raicilla) que era aque- lla que media hasta 3 mm de diámetro aproximadamente y en la raíz más gruesa.

Cabe señalar el hecho de que la prueba de alcaloides era positiva en la raicilla y débilmente positiva en la - raíz más gruesa; por ello se decidió proseguir la investi- gación con la raíz pequeña. Para esto se extrajeron 779 g de raicilla con hexano hasta agotamiento total con el obje

tivo de desengrasarla. Todos los disolventes que se emplearon en las extracciones eran comerciales y purificados por destilación antes de usarse.

Una vez desengrasada la raíz, se secó y se humedeció con solución de hidróxido de amonio (al 25 %) y se extrajo con cloroformo, hirviendo a reflujo y cambiando el disolvente cada 24 horas. El extracto clorofórmico así obtenido se concentró utilizando para ello la destilación con vacío a una temperatura menor a 60° C, hasta que todo el disolvente fue eliminado. El peso del extracto clorofórmico fue de 29.437 g, que corresponde al 3.78 % del material inicial en base seca. Diagrama de extracción I.

El extracto clorofórmico se presenta como un sólido - pastoso de color café oscuro con olor característico no degradable.

A este extracto se le hizo cromatografía en capa fina (ccf) para confirmar la presencia de los alcaloides. Se realizaron pruebas con diferentes soportes y diversos sistemas eluyentes (31), encontrando que la mayor resolución se obtenía cuando se empleaban las siguientes combinaciones:

fase estacionaria	fase móvil
I) alúmina Fluka tipo D5-F	cloroformo
II) alúmina (en NaOH 0.1 N)	metanol

DIAGRAMA DE EXTRACCIÓN I.

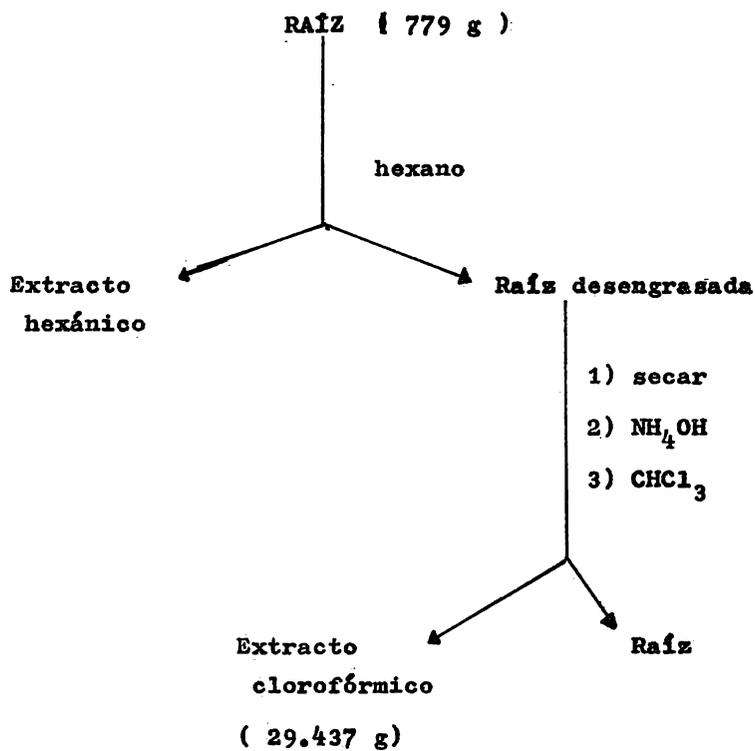


Figura 4 .

fase estacionaria	fase móvil
III) alúmina (en NaOH 0.1 N)	cloroformo-acetona-di- etilamina (50-40-10)
IV) sílica gel GF ₂₅₄ (Merck)	metanol-acetona-dietil amina (50-50-1.5)
V) alúmina	metanol-acetona-dietil amina (50-50-1.5)

Una vez desarrollada la cromatoplaça se revela con: =
1) luz ultravioleta, 2) reactivo de Dragendorff pudiéndose apreciar en este último caso las características manchas de color naranja indicando la presencia de alcaloides.

La mejor combinación para lograr una buena separación de los alcaloides fue la número IV, en donde se apreciaban dos manchas con los siguientes Rfs: $Rf_1 = 0.37$ y $Rf_2 = 0.87$. En todas las cromatoplaças se utilizaron patrones de atropina y escopolamina, pudiéndose observar que dos de los alcaloides presentes en el extracto clorofórmico presentaban el mismo Rf que las soluciones estandar de atropina y escopolamina.

Se decidió, entonces, realizar una extracción ácido-base para obtener los alcaloides crudos. El procedimiento consistió en colocar 10 g del extracto clorofórmico y añadir 250 ml de ácido clorhídrico al 5 % hasta que la solución presentaba un pH entre 1 y 3, se extrajo entonces con tres porciones de cloroformo de 250 ml cada una.

En la fase acuosa permanecen los alcaloides en forma de clorhidratos; a esta fase se le adiciona una solución de hidróxido de amonio al 5 % hasta obtener un pH de 14 y se extrae con tres porciones de cloroformo; esta operación se repite dos veces más y finalmente en el extracto cloroformico permanecen los alcaloides en forma cruda. La fase cloroformica final se evaporó a sequedad obteniéndose 164.8 mg de alcaloides crudos, lo que corresponde a 0.06 % de la raíz en base seca. Diagrama de extracción II.

A los alcaloides crudos se les hizo una cromatografía en placa fina utilizando como soporte Gel de sílice GF₂₅₄ y como sistema eluyente: metanol-acetona-dietilamina (50-50-1.5). Al revelar con reactivo de Dragendorff se observó una mancha con un Rf = 0.29.

Dado que los alcaloides en forma de bases libres son inestables, se prepararon los reineckatos de los mismos. Previa a esta preparación, se efectuó la formación del reineckato de atropina, para lo cual se disolvieron 50 mg de atropina en 5 ml de ácido sulfúrico 5 N y se añadió gota a gota una solución acuosa de sal de Reinecke al 2 % hasta que se observó una precipitación del producto. El precipitado de color rosa así obtenido, se separó por filtración y se lavó con éter frío, (25) (5).

Se procedió entonces a formar los reineckatos de los alcaloides obtenidos de la raíz. 164.8 mg de alcaloides se disolvieron en 10 ml de ácido sulfúrico 5 N y se añadió gota a gota la solución de la sal de Reinecke al 2 %, hasta

DIAGRAMA DE EXTRACCIÓN II.

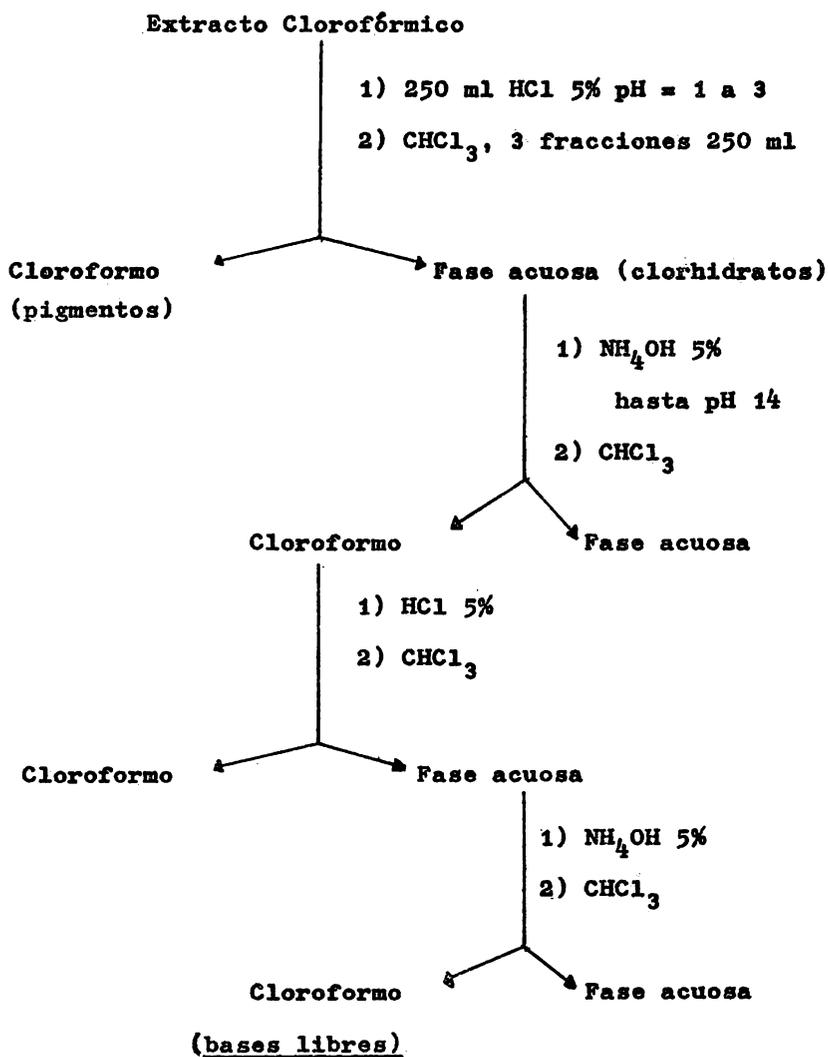


Figura 5.

la aparición de un precipitado de color café, el cual se separó por filtración y se lavó con éter frío. Una vez seco el producto se pesó obteniéndose 141 mg de reineckatos. Por lo que el rendimiento de la reacción fue de 85.5 %, (14).

Se procedió entonces a efectuar la separación de los alcaloides, utilizando la cromatografía en columna, que se preparó de la siguiente manera: 10 g de resina aniónica débilmente básica (No. de catálogo 4766 de Merck) se empacaron en una columna y se colocaron los reineckatos disueltos en la menor cantidad de etanol; se eluyó con soluciones amortiguadoras de citratos 0.1 M a pH de 5.3, 5.6, 5.9, y 6.2. La elución se hizo utilizando las soluciones de citratos de menor a mayor pH. Se recolectaron fracciones de 1 ml las cuales fueron controladas por cromatografía en capa fina utilizando como soporte Gel de sílice y como eluyente metanol-acetona-dietilamina (50-50-1.5) y se revelaron con reactivo de Dragendorff.

Se reunieron las fracciones 1 a 7 por presentar una sola mancha con un $R_f = 0.36$. Se procedió entonces a obtener el alcaloide en forma de base libre, para lo cual una vez reunidas las fracciones se llevó el pH a 12 con una solución de hidróxido de amonio al 5 % y se extrajo con éter.

El disolvente se evaporó a sequedad obteniéndose un residuo de color blanco amarillento, el cual peso 13 mg lo que equivale al 0.0016 % de la raíz seca. A este producto se le hizo un espectro de infrarrojo (I.R.), (Espectro de I.R. No. 1) y cromatografía en capa fina utilizando el sis

tema No. IV. Cabe señalar el hecho de que se utilizaron patrones de atropina y escopolamina.

Una vez desarrollada la cromatografía y revelada la cromatoplaca con reactivo de Dragendorff, se pudo apreciar que el producto así obtenido, presentaba el mismo Rf que el estándar de atropina (Rf = 0.37).

De la misma forma las fracciones 8 a 36 mostraron una sola mancha con un Rf = 0.86, se reunieron y se extrajeron con éter previa alcalinización con NH_4OH al 5 % hasta pH de 12. Se obtuvieron 16 mg de un producto blanquisco soluble en cloroformo, lo que equivale a 0.002 % de la raíz. A este producto se le hizo un espectro de infrarrojo, (Espectro de I.R. No. 2) y cromatografía en capa fina usando el mismo sistema IV, incluyendo patrones de atropina y escopolamina.

Después de desarrollar la cromatografía y revelar la placa con reactivo de Dragendorff, se pudo observar que el producto mostraba una mancha que tenía el mismo Rf que el estándar de escopolamina (Rf = 0.87).

Con el objetivo de comprobar la presencia de estos alcaloides se procedió a realizar la extracción ácido-base de 10 g de extracto clorofórmico de acuerdo a la secuencia utilizada anteriormente, (Fig. 5. Diagrama de extracción - II).

Una vez obtenidos los alcaloides crudos se prepararon los correspondientes yodhidratos utilizando el siguiente -

procedimiento: (1) (24) las bases libres se disolvieron en etanol absoluto y se agregó 0.1 g de yoduro de sodio. - Se aciduló con ácido acético glacial. El disolvente se evaporó utilizando alto vacío, quedando un residuo de color - café rojizo.

Se procedió a realizar la separación de 5 g de yodhidratos de los alcaloides crudos, para lo cual se disolvieron en metanol y se calentaron a 60° C. Se añadió después de enfriar hidróxido de amonio al 5 % hasta tener pH = 14. Los alcaloides libres se extrajeron con cloroformo y se separaron utilizando una cromatografía en columna empacada con 250 g de alúmina básica y como eluyente etanol-cloroformo (80-20). La columna fue controlada por cromatografía en capa fina. Las fracciones 1 a 4 presentaban una sola mancha y al reunir las se obtuvieron 690 mg de un polvo amarillento, el cual se recristalizó de etanol absoluto. A esta sustancia se le hizo un espectro de infrarrojo (Espectro de I.R. No. 3) y un espectro de resonancia magnética nuclear (Espectro de RMN NO. 4).

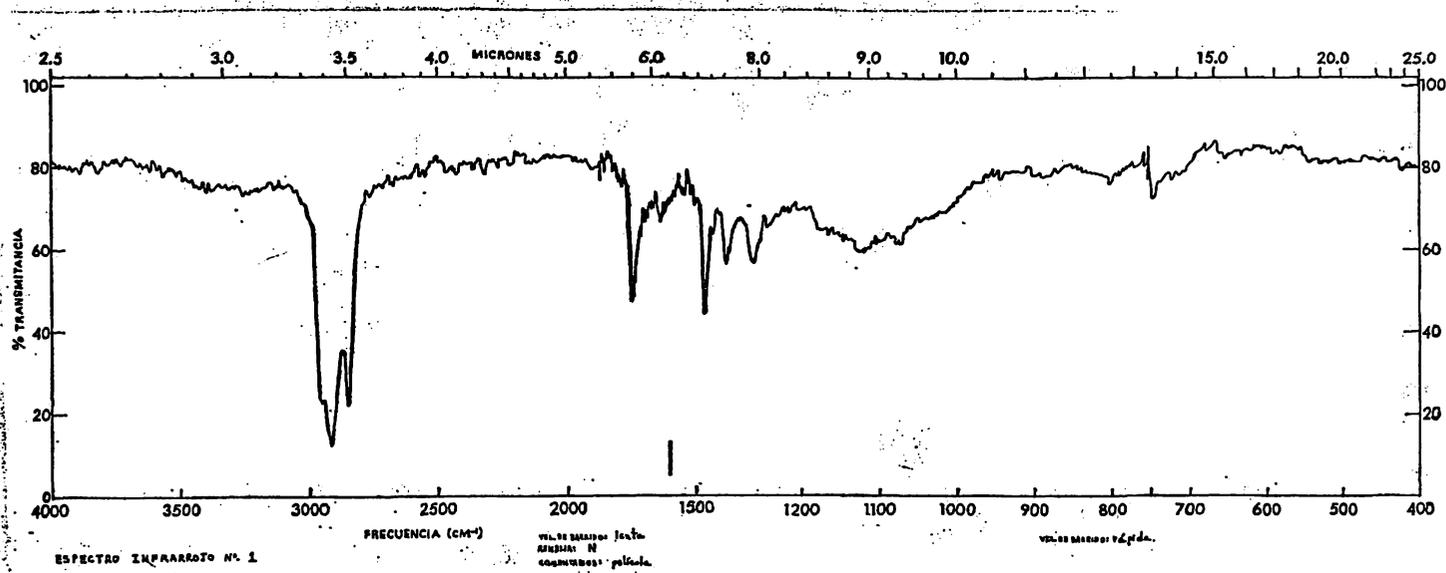
RESULTADOS

*****:

TABLA No. I

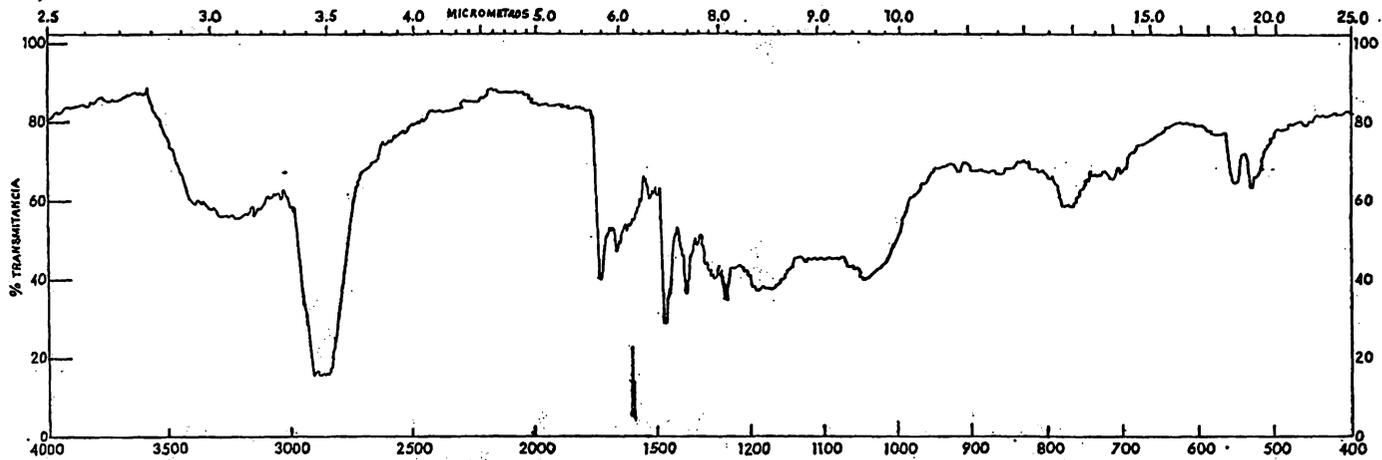
Prueba de alcaloides en Solandra nitida

Parte de la planta	Dragendorff	Mayer
Hoja	-	-
Corola	-	-
Cáliz	-	-
Tallo	-	-
Fruto	-	-
Raíz	Raicilla	+++
	Raíz gruesa	+



Interpretación del espectro de infrarrojo No. 1

ν (cm^{-1})	intensidad	grupo funcional	vibración
2980	fuerte (ancha)	$\begin{array}{c} \\ -\text{C}-\text{H} \\ \end{array}$	alargamiento C-H
2850	fuerte	$-\text{CH}_2-; -\text{CH}_3$	alargamiento C-H
1740	fuerte	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{C}=\text{O} \\ \\ \text{O}-\text{R} \end{array}$	alargamiento C-O
1475	fuerte	$-\text{CH}_2-$	flexión C-H
1430	media	$-\text{CH}_2-; -\text{CH}_3$	flexión C-H
1380	media	$-\text{CH}_3$	flexión
1260	débil (ancha)	$\begin{array}{c} -\text{C}-\text{O}- \\ \\ \text{O} \end{array}$	alargamiento C-O
1130	débil (ancha)	$\begin{array}{c} -\text{C}-\text{O}- \\ \\ \text{O} \end{array}$	alargamiento C-O



ESPECTRO INFRAROJO No. 2.

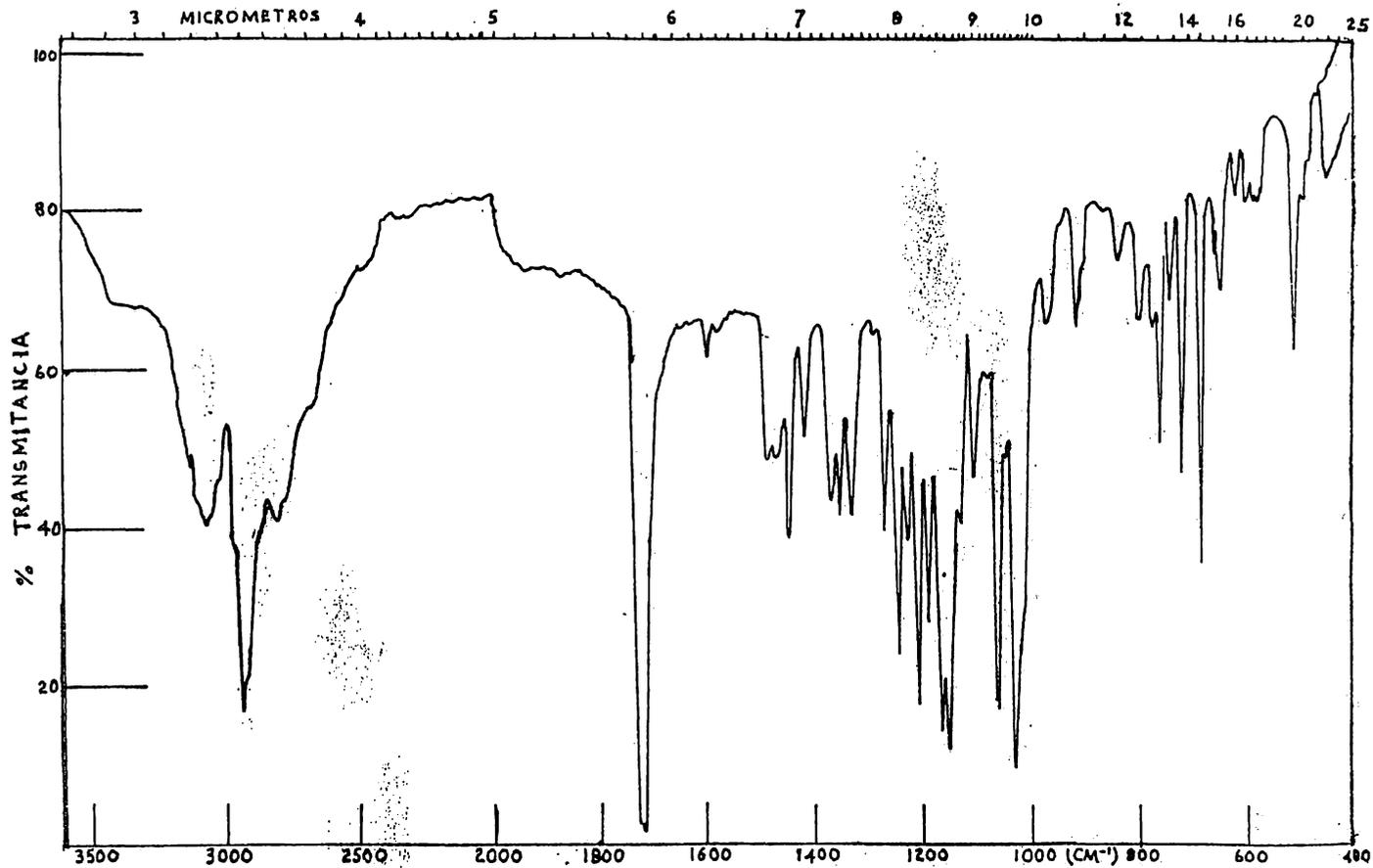
VEL. DE EJECUCION: lenta.
OBJETIVO: II
CONCENTRACION: pólido.

FRECUENCIA (CM⁻¹)

VEL. DE EJECUCION: rápida.

Interpretación del espectro de infrarrojo No. 2

ν (cm^{-1})	intensidad	grupo funcional	vibración
3400 - 3100	fuerte (ancha)	C-OH	alargamiento O-H
3150 - 3050	débil (ancha)	$\equiv\text{C}-\text{H}$	alargamiento C-H aromático.
2950 - 2850	fuerte (ancha)	CH_2 ; CH_3	alargamiento C-H
1740	fuerte	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{O}-\text{C}=\text{O} \\ \\ \text{R} \end{array}$	alargamiento C=O
1480	media	CH_2 ; CH_3	flexión C-H
1440	media	CH_2 ; CH_3	flexión C-H
1260	débil (ancha)	$\begin{array}{c} -\text{C}-\text{O}- \\ \\ \text{O} \end{array}$	alargamiento C-O
1200 - 1150	media (ancha)	$\begin{array}{c} -\text{C}-\text{O}- \\ \\ \text{O} \end{array}$	alargamiento C-O
1050	media (ancha)	$-\text{CH}_2-\text{OH}$	alargamiento C-O
780 - 770	débil (ancha)	Ar-	flexión fuera - del plano C-H



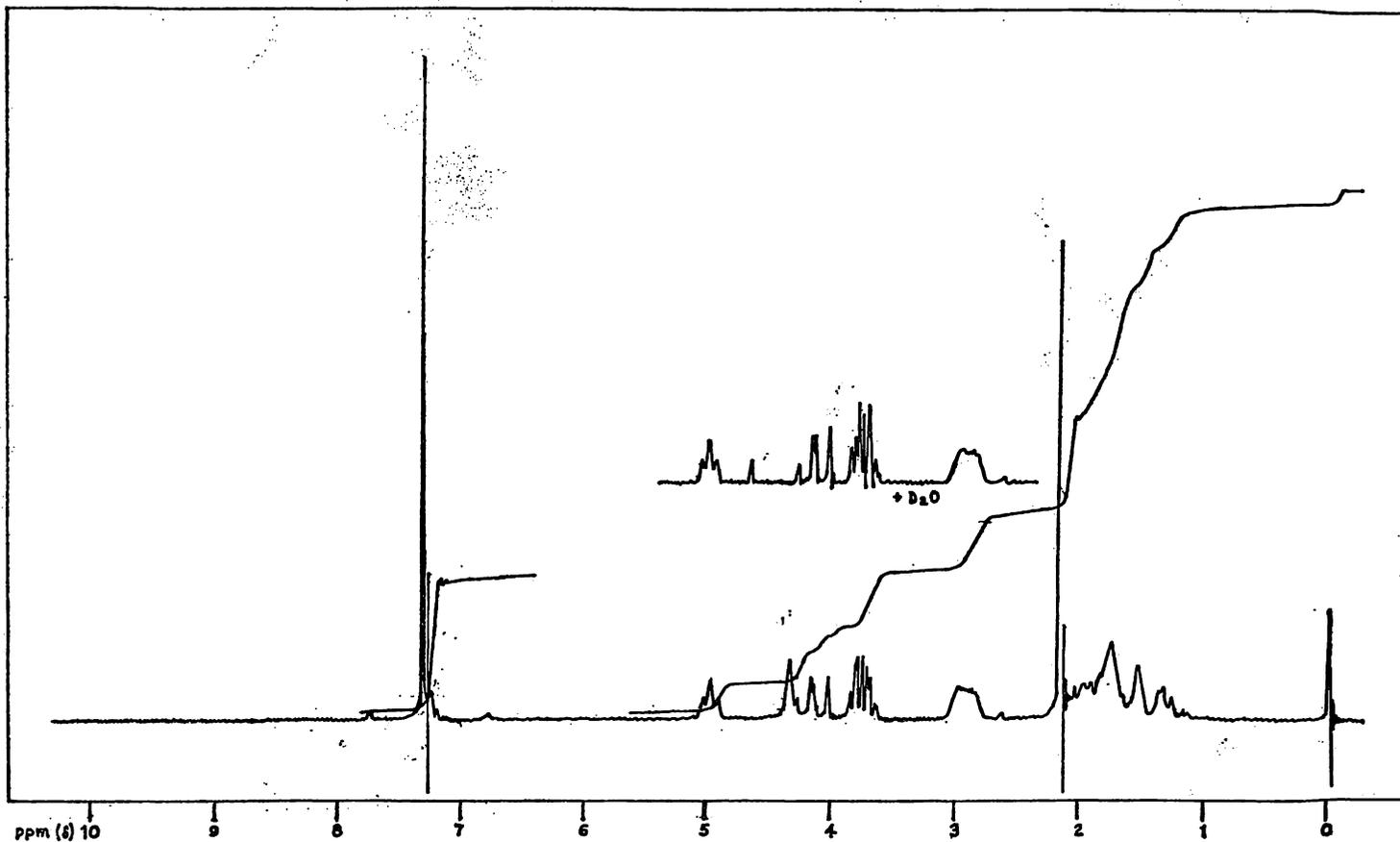
Tiempo barrido: 12
Rendija: N
Comentarios: Pastilla (KBr)

ESPECTRO INFRARROJO N: 3

Interpretación del espectro de infrarrojo No. 3

ν (cm^{-1})	intensidad	grupo funcional	vibración
3500 - 3100	media (ancha)	C-OH	alargamiento O-H
3080	fuerte (ancha)	=C-H	alargamiento C-H aromático
2940	fuerte	$\text{-}\overset{ }{\underset{ }{\text{C}}}\text{-H}$	alargamiento C-H
2820	débil	CH_2 ; CH_3	alargamiento C-H
1720	fuerte	R-O-C=O R	alargamiento C-O
1600	débil	C=C	alargamiento C-C aromático
1490 - 1475	débil	CH_2 ; CH_3	flexión C-H
1450	media	CH_2 ; CH_3	flexión C-H
1420	media	$\text{CH}_2\text{-C=O}$	flexión C-H
1370	media	-CH_3	flexión C-H
1250	fuerte	R-C-O-R O	alargamiento C-O
1210	fuerte	R-C-O-R O	alargamiento C-O
1160	fuerte	C-OH	alargamiento C-O
1150	fuerte	C-OH	alargamiento C-O
1070	fuerte	=C-H	flexión en el plano C-H
1035	fuerte	=C-H	flexión en el plano C-H

ν (cm^{-1})	intensidad	grupo funcional	vibración
760	fuerte	Ar-	flexión fuera del plano C-H
730	fuerte	Ar-	flexión fuera del plano C-H
690	fuerte	Ar-	flexión fuera del plano C-H



Tiempo barrido: 5 min.
Amplitud barrido: 10 ppm
Temperatura: Ambiente

Núcleo: ^1H
Referencia (δ): TMS
Disolvente: CDCl_3

ESPECTRO RMN No. 4.

Interpretación del espectro de RMN No. 4

(ppm)	integración (protones)	tipo de señal	tipo de hidrógeno
7.3	5	singulete	Ar-H
4.95	1	triplete	-CH-O-C=O
4.0	4	multiplete	O=C-C-H -CH ₂ -O- -O-H
2.9	2	singulete	>N-C-H
2.15	3	singulete	>N-CH ₃
1.7	8	multiplete	-CH ₂ -

Cuando se hace el intercambio con agua deuterada se observa que la señal localizada en 4 ppm cambia de forma.

CONCLUSIONES
=====

1. Se realizó el estudio de los alcaloides presentes en la raíz de Solandra nitida que es la única parte de la planta que dió prueba positiva para alcaloides.
2. Se encontró que el contenido de alcaloides crudos presentes en la raíz es de 0.06 % en base seca, tomando en cuenta que solamente se hizo la extracción de la raíz que tenía como máximo 3 mm de diámetro.
3. Se identificaron, usando la cromatografía en capa fina y el espectro de infrarrojo, atropina y escopolamina.
4. Se aisló atropina, la cual se encontró en una cantidad del 0.0016 % en base seca. La identificación se hizo en base a sus espectros de infrarrojo, resonancia magnética nuclear, cromatografía en capa fina y punto de fusión de mezcla.
5. Por último, se encontró que la raíz de Solandra nitida contiene 0.002 % de escopolamina.

BIBLIOGRAFIA
=====

1. Tesis. Aguilar Laurents María Isabel.: Aislamiento e -
identificación de los alcaloides de la flor de Erythri-
na americana Mill. Fac. de Química. U.N.A.M. (1978).
2. Clarke E.G.C.: Isolation and identification of drugs, -
in pharmaceuticals, body fluids and post mortem material.
The Pharmaceutical Press. London. (1974).
3. Cross A.D.: Introduction to practical infra-red spectroscopy. Butter Scientific Publications. London. (1964).
4. Domínguez Xorge A.: Métodos de investigación fitoquímica. Editorial Limusa. México. (1973).
5. Duquenois, P., and Faller M., Bull. Soc. Chim. France.
6, 998 (1939).
6. Dyer, J.R.: Aplicaciones de espectroscopía de absorción
en compuestos orgánicos. Editorial Prentice Hall International. Madrid. (1973).
7. Evans W.C., Ghani A. and Woolley V.A.: Alkaloids of Sc-
landra species. Phytochemistry, Vol. 11, pp 470 - 472 .
(1972).
8. Fahn A.: Plant anatomy. Second edition. Pergamon Press.
Great Britain. (1975).
9. Fieser L.F. y M. Fieser.: Química Orgánica Superior. -
Ediciones Grijalbo. México. (1966).
10. Glasby John S.: Encyclopedia of the alkaloids. Vol. 1,
2. Plenum Press. New York and London. (1975).

11. Goodman Louis y Alfred Gilman.: The pharmacological basis of therapeutics. Fourth Edition. The Macmillan Company. London-Toronto. (1971).
12. Greulach Victor A., y Adams J. Edison.: Las Plantas. Introducción a la botánica moderna. Editorial Limusa - Wiley, S.A. México. (1970).
13. Helen O'Gormann.: Plantas y flores de México. Dirección general de publicaciones. U.N.A.M. México. (1963).
14. Higuchi Takeru and Brochmann Hanssen.: Pharmaceutical analysis. Interscience Publishers. U.S.A. (1961).
15. Lehninger A.L.: Biochemistry. Second Edition. Worth Publishers, Inc. New York. (1975).
16. Litter Manuel.: Compendio de farmacología. Editorial El Ateneo. Argentina. (1976).
17. Tesis. Luna Vazquez Alfonso M.: Ácidos grasos y esteroides en raíz Solandra nitida. Fac. de Químiva. U.N.A.M. (1979).
18. Manske R.H.F.: The alkaloids, chemistry and physiology. Vol. V. Pharmacology. Academic Press Inc., Publishers. New York. (1955).
19. Martínez M.: Las Solandras en México con una especie nueva. Anales del Instituto de Biología, U.N.A.M. Tomo XXXVII (98). México. (1966).
20. The Merck Index. Published by Merck and Co., Inc. Rahway. N.J., U.S.A. Ninth Edition. (1976).

21. Morrison T.R. y Boyd N.R.: Química orgánica. Fondo Educativo Interamericano, S.A. E.U.A. (1976).
22. Paquette Leo A.: Principles of modern heterocyclic chemistry. W.A. Benjamin, Inc. U.S.A. (1968).
23. Pelletier S.W.: Chemistry of the alkaloids. Van Nostrand Reinhold Company. New York. (1970).
24. Perrin D.D., Armarego W.L.F., Perrin Dawn R.: Purification of laboratory chemicals. Pergamon Press. New York. (1966).
25. Tesis. Reguero Reza Ma. Teresa.: Estudio químico de Datura sanguinea y Datura discolor. Fac. de Química. -- U.N.A.M. (1977).
26. Reinhold L., Y. Liwshitz.: Progress in Phytochemistry. Vol. I. Interscience Publishers. London - New York. - (1968).
27. Robinson R., J. Chem. Soc. 111, 762 - 876, (1917).
28. The Sadtler Standard Spectra. Published by Sadtler Research Laboratories. 3316 Spring Garden Street. Philadelphia, Pa. ~~19104~~. (1967).
29. Sánchez Sánchez Oscar.: La flora del Valle de México . Quinta Edición. Ed. Herrero. México. (1979).
30. Silverstein R.M., G.B. Clayton., T.C. Morrill.: Spectro metric identification of organic compounds. John Wiley & Sons Inc. New York. (1953).

31. Stahl Egon.: Thin - Layer chromatography. A laboratory handbook. Academic Press Inc., Publishers. Germany -- (1965).
32. Tesis. Zendejas Medrano Octavio.: Estudio químico de - anteras de Solandra nitida sin polen. Fac. de Química. U.N.A.M. (1979).