

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

Identificación por Espectrometría de Masas de Compuestos Aislados de Corola y Pistilos de Solandra Nítida



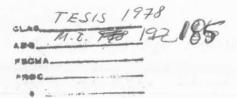


UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

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 SEGUN EL TEMA:

PRESIDENTE PROFESOR: MA. LUISA GARCIA PADILLA

VOCAL " CARMEN RIVERA DE REYES

SECRETARIO " OFELIA ESPEJO DE OCHOA

1er SUPLENTE " MA. TERESA REGUEIRO REZA

2do SUPLENTE " NILDA NAVARRO DE HUERTA

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: Laboratorio de Química Farmacéutica, División de Estudios Superiores, Facultad de Química UNAM.

SUSTENTANTE: YOLANDA GARCIA ROJAS
ASESOR DEL TEMA: DRA. CARMEN RIVERA DE REYES

Con agradecimiente a la Dra. Carmen Rivera de Reyes por su valiosa asesoria en el presente trabajo.

A la memoria de mi abuelito Modesto.

A mis Padres Con todo cariño. A mis tías Concepción y Beatriz. . .

A mis hermanos Pedro y Socorro. . .

Con agradecimiento y cariño por el interés que siempremostraron por mi superación y por la valiosa ayuda racibida.

INDICE

I.-INTRODUCCION

II .- PARTE TEORICA

III.-PARTE EXPERIMENTAL

IV .- DISCUSION Y RESULTADOS

V.-CONCLUSIONES

VI.-BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION

Existen numerosos estudios fitoquímicos de corolas de las flores y todos ellos se han orientado a la búsqueda de los colorantes contenidos en las mismas. El - presente trabajo tiene por objeto la identificación de- los diversos componentes de las distintas partes de la -- flor de Solandra nitida, abundante en las zonas tropicales de México.

ras, órgano sexual masculino, de la misma flor y se identificó el ácido dehidracético (1), CH3 COCH3 cuya presencia sugiere un mecanismo de eliminación de ácido -- acético diferente al del ácido mevalónico que es muy cono cido.

Al encontrarse por primera vez en la naturaleza este compuesto, se pensó que sería interesante estudiar otras partes de la flor y así, se inició el estudio de cada una de las partes por separado. En este traba

ja se reportan algunos compuestos encontrados en la corola y se hizo además la determinación cualitativa de sacarosa en filamentos, caliz, corola y pistilos, ya que este compuesto se había reportado anteriormente en anteras(2).

Debido a la pequeña cantidad de cada una - de las partes de la flor de que se dispuso y a la muy pe queña proporción de los compuestos encontrados, los métodos empleados para la identificación de ellos fueron, cromatografía en capa fina, la combinación de cromatografía- en capa fina con espectrometría de masas y la combinación de cromatografía en capa fina con IR.

PARTE TEORICA

En los últimos dos años se han estudiado flores de diferentes tipos y de ellas se han aislado nume
rosas flavonas, xantinas, carotenos y antocianinas, además de carbohidratos, terpenos, saponinas triterpenoides,
alcaloides, etc.

Los terpenos son muy comunes en la naturaleza, todos los terpenos sencillos y la mayoría de los p $\underline{\sigma}$ literpenos se forman en las plantas a partir de unidades de isopreno. (3)

$$CH_2 = C - CH = CH_2$$

$$CH_3$$

Al producto de la unión de dos moléculas de isopreno se le llama unidad terpénica y sirve de base
para la clasificación de los terpenos como sigue: (4)

	No. de átomos de carbono	No. de unidades terpénicas
Monoterpenos	c ₁₀	1
Sesquiterpenos	c ₁₅	1.5

	No. de átomos de carbono	No. de unidades terpénicas
Diterpenos	c ₂₀	2
Sesterterpenos	c ₂₅	2.5
Triterpenos	c ₃₀	3
Tetraterpenos	C ₄₀	4
Politerpenos	(c ₅) _n	n/2

Los monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos y sesterpenos tienen las unidades isoprénicas unidascabeza con cola.

unión cabeza con cola

Los triterpenos y tetraterpenos están constituídos por dos unidades C_{15} y C_{20} respectivamente (5) unidas por el centro cola con cola, como el θ -caroteno.

Grandi y colaboradores (6), encontraron monoterpenos irregulares (las uniones de las moléculas del

isopreno no son cabeza-cola), en las flores de Achillea - ageratum.

Además se encontraron; agerol (a), agera-triol (b) y i,8-cineol (c).

La planta Fatsia japonica, conocida con - el nombre japones de Yatsude, es utilizada como remedio-popular, contiene sustancias hemolíticas y tóxicas. De-

las flores de esta planta se aislaron tres saponinas triterpenoides (7).

Acido 3-0- β -D-glucopiranosil (1-4)- α -L-arabino-piranosil] oleanólico

3-0 $\left[\propto -L$ -arabinopiranosil- $\left[\right]$ -hederagenina

3-0- $\left[\beta-D-\text{glucopiranosil}\left(1\longrightarrow 4\right)-\swarrow-L-\text{arabino-piranosil}\right]$ hederagenina

Se aislaron esteroles y triterpenos pentacíclicos (tipo amirina), de las flores masculinas y femeninas de Ilex aquifolium (8).

B-Amirina

Colesterol

Campesterol

Estigmasterol

 β -sitosterol

24,etiliden colesterol

Posteriormente se aislaron la \propto y θ -amirina, el colesterol, θ -sitosterol y campesterol de la cerade las rosas decorativas; R. americana, R. imperial y R.-virgo (9). Substancias que están presentes en las ceras-

de otras plantas.

También se analizaron alcoholes primarios insaturados de las tres rosas decorativas, la serie hom<u>ó</u> loga presente en las tres ceras de las rosas fué de C_{18} - C_{30} . Confirmando de hecho que los homólogos de número - par es prevaleciente en las plantas.

Una serie homóloga de C₂₅ - C₃₃ de alcoholes secundarios de cadena larga, en la cual cada miembro es una mezcla de tres isómeros con el grupo oxhidrilo en las posiciones 4, 5 y 6 se identificaron en la cera dela rosa R. virgo. El isómero que tiene un grupo Ch en el C₅ es el que prevalece en todos los casos. Compuestos similares sin embargo, se han obtenido de los ésteres de alcoholes secundarios de las ceras de los insectos, pero con el grupo Ch en la mitad de la cadena.

Se crefa que los alcoholes secundarios se encontraban en las plantas solo en estado libre (10), ---

por esta razón Blomquist et al (11), consideraron que losésteres de alcoholes secundarios encontrados por éllos en los insectos, se habían formado de los alcoholes secundarios libres ingeridos en el alimento con la planta. La saponificación de los ésteres de la cera de la rosa decorativa R. virgo, confirmó la presencia de ésteres de alcoholes se cundarios de las plantas.

En 1976, se reportó el aislamiento de una
S-lactona de las flores de Grewia asiática. El fruto maduro es de agradable sabor, digestible, tónico, afrodisfaco,
alivia las sensaciones de sed y calor, es también útil en
diarrea y fiebre (12).

&-lactona del ácido 3,21,24-trimetil-5,7-dihidroxi entriacontanoico

Phillipson y Handa, encontraron en las -flores de Atropa belladona los alcaloides hiosciamina y
el N-óxido correspondiente (13).

Una investigación en las flores de Centaurea scabiosa, reveló un gran número de compuestos poli-in
saturados, algunos de los compuestos aislados son los siguientes: (14).

$$me(C=C)_5CH-CH_2$$
 $meCH=CH(C=C)_3CH=CHCH-CH_2$ OH OH

PARTE EXPERIMENTAL

El presente trabajo se dividió en dos partes para su estudio.

I .- Parte.

Identificación de sacarosa en distintas -partes de la flor. - Se emplearon como muestras los extractos metanólicos directos de cáliz, corola, filamentos y pistilos. Se pesaron 2 mg, de cada extracto y se disol--vieron en 0.1 ml, de metanol cada uno. De estas soluciones se tomaron muestras de 0.01 ml, y se aplicaron en una pla ca de 20x20 cm, de gel de sílice 60 Merck, impregnada con una solución de ácido bórico 0.02 M, y activada a 100°C durante una hora. En la misma placa se aplicaron 0.01 ml, de una solución metanólica de sacarosa (testigo), esta -solución se preparó con 2 mg, de sacarosa disuelta en --0.1 ml, de metanol. Se empleó como eluyente MeGH-CHCl3 --(60:40), la placa se reveló con una solución de anizaldehído-ácido sulfúrico (15).

II.-Parte.

Continuando con el estudio de la Corola dela Solandra nitida (copa de oro), 500 g, de corola seca y
molida se desengrasaron con hexano, después se extrajeroncon metanol obteniéndose así dos fracciones: una hexánicaque se evaporó en rotavapor dando un peso de 18 g, y una
metanólica que al concentrarse pesó 106.5 g, además se obtuvo el resíduo de la planta (se desechó).

Las fracciones fueron denominadas: Fracción ${\rm A_1}$ y Fracción ${\rm A_2}$ respectivamente. La fracción ${\rm A_1}$ no se trabajó.

FRACCION A2

Se utilizaron 50 g, del extracto metanólico de corola, obtenido de acuerdo con el diagrama No. I. Se - hizo una c.c.f., de este extracto usando diversos eluyentes de diferente polaridad. Se observaron directamente, al U.V. y también se revelaron con $\rm H_2SO_A$ 5 N.

El eluyente que presentó mejor resolución -

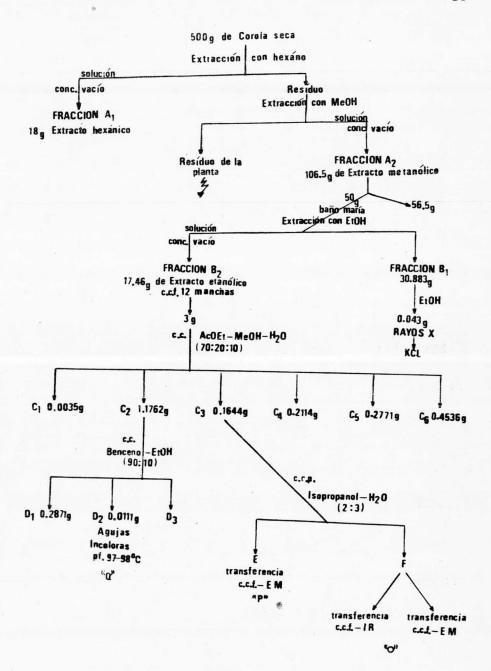
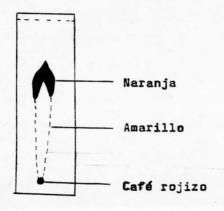


DIAGRAMA No. I

fué etanol, con el cual se obtiene una mancha con una estela, pudiéndose observar tres colores principales: amar<u>i</u>
lla, naranja y café rojizo.



Después, se maceró este extracto 6 veces - con 50 ml, cada vez de etanol, calentándose en baño de va por. Se reunieron las 6 porciones y se concentraron eliminando el disolvente mediante destilación al vacío, obterniéndose así, la fracción B_1 y la fracción B_2 . FRACCION B_3

Esta fracción, cuyo peso fué de 30.883 g,se maceró con 50 ml, de etanol, calentándose en baño de vapor, se dejó reposar dos días y se obtienen unos crista
les completamente transparentes y brillantes. Peso total-

del producto obtenido: 0.043 g, y se identificó por Ra-yos X como KCl (Fig. No. 1)

FRACCION B2

El peso total del extracto etanólico obtenido fué de 17.46 g. Por cromatografía en capa fina con egel de sílice 60 (Merck), se investigaron sus componentes utilizando diversos sistemas eluyentes de acuerdo con la literatura (16).

1.+CHCl3-EtDH-met.Et.Cetona (50:36:14)

2.-CHCl3-meOH-met.Et.Cetona (60:26:14)

3.-AcOEt-MeOH-H20 (70:20:10)

4 .- AcOEt-meOH (90:10)

5.-CHC13-meOH (90:10)

6.-CHC13-MeOH (80:10)

7.-CHC13-MeOH (70:30)

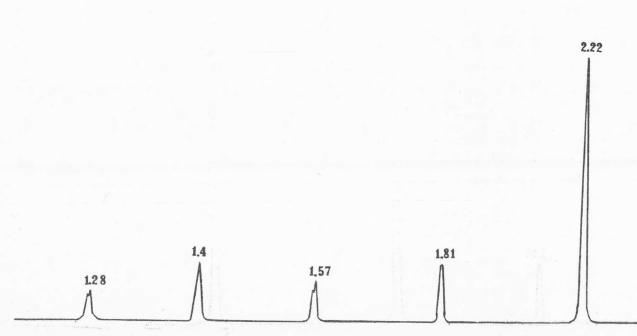
Se encontró que el eluyente apropiado es = el No.3: AcOEt-MeOH-H₂O (70:20:10), se utilizó como re-



1×10³-2-0, 20/min 600 mm/h ; 20mA, 40 KV

FIGURA No 1

KCI



- 7

velador H2SO4 5 N.

Se montó una columna con 303 g, de gel desílice 60 (Merck), y se aplicaron 3.03 g, de la fracción
B2. Se eluyeron fracciones de 1.5 ml, con AcOEt-MeOH-H2O
(70:20:10), aumentando la proporción de Metanol, hasta
llegar a Metanol 100 %. Se empezaron a recoger 189 fraccio

nes de 1.5 ml, cada una y se continuó recogiendo 53 frac
ciones más de 20 ml, cada una. Las fracciones se controla

ron por c.c.f. Las fracciones que mostraban el mismo Rf
se juntaron obteniéndose en total 6 fracciones. El rendi
miento de la columna fué del 74 %.

 $C_1 = 0.0035 g.$

C₂ = 1.1762 g.

 $C_3 = 0.1644 g.$

 $C_A = 0.2114 g.$

 $C_5 = 0.2771 g.$

 $C_6 = 0.4536 g$.

E3 estas fracciones, por c.c.f., en medios diferentes se observó que las que presentaban mejor resolución fueron las fracciones ${\bf C}_2$ y ${\bf C}_3$ FRACCION ${\bf C}_2$

Se le hizo cromatografía en capa fina, -usando diversos sistemas eluyentes de diferente polaridad .

1.-Benceno-MeOH (70:30)

2.-Benceno-Isopropanol (70:30)

3.-Benceno-Acet.Et. (75:25)

4.-Benceno-EtOH (90:10)

Se desarrollaron 3 veces cada uno, encontrándose que en el sistema: Benceno-EtOH (90:10), se obtenía una buena separación. Se observaron 4 manchas mas omenos definidas, como lo muestra la figura siguiente, alrevelarse con $\rm H_2SO_4$ 5 N.



Se hizo una c.c., en gel de sílice, emplean do el mismo eluyente No. 4. Se aplicaron 1.176 g, del extracto de la fracción C2. Se empezó a eluir con Benceno -EtOH (90:10). Se recogieron 410 fracciones de 0.5 ml, -cada uno. Estas fracciones fueron controladas de 10 en 10 por c.c.f.

no-meOH (70:30), Benceno-meOH (60:40), y así sucesivamente disminuyendo paulatinamente la proporción de Benceno v aumentando la de MeOH, hasta llegar a MeOH 100 %. En to-tal de esta columna se recogieron 410 fracciones de ----

o.5 ml, y 19 de 15 ml.

De la 4a. fracción de 15 ml, se obtuvieror con cristales. Se recristalizaron de Metanol en caliente hasta p.f., constante. Se obtuvieron 0.011 g, de agujas incoloras de p.f. 97 - 98°C. Se corrió un espectro de ma_sas de esta sustancia.

FRACCION C3

A esta fracción con un peso total de --0.1644 g, se le hizo c.c.f., en los siguientes eluyen-tes:

1.-Acetona-Isopropano1-H20 (20:20:10)

2.-Acetona-Isopropanol-H20 (20:20:20)

3.-Acetona-Isopropanol-CHC1, (20:20:10)

Se encontró que el sistema apropiado es el No. 2, se logró una separación de 2 manchas principales, una de ellas estaba en mayor proporción como lo muestra-la siguiente figura:



Se traté de separar el compuesto, que al - U.V., presentaba un color anaranjado, por cromatografía - en placa preparativa de 20×20 cm, y 3 mm, de espesorusando como soporte gel de sílice 60 (Merck), y como eluyente: Acetona-Isopropanol- H_2 0 (20:20:10). Este compuesto no revelaba con H_2 SO $_4$ 5 N.

La c.c.f., indicaba que se trataba de un solo compuesto. Al emplear como medio eluyente Isopropa-nol-Agua (2:3), para comprobar su pureza, se obtuvieron dos manchas nuevamente E y F.

Peso total de E+F = 0.0182 g. De E se hi-

zo una transferencia de c.c.f.-E.M., en el medio isopropa nol-H₂O (2:3), y se obtuvo la muestra pura " P " de la -que se reporta su espectro de masas.

De F se hizo también una transferencia —

c.c.f.-E.M., y otra c.c.f.-I.R., obteniéndose del compues

to puro " 0 " un espectro de I.R. y uno de masas.

DISCUSION Y RESULTADOS

I.-De acuerdo con el resultado obtenido en la placa para identificar sacarosa se observó que está presente en los filamentos de los estambre y hay muy pequeña can tidad en la corola y no está presente en el caliz, ni en el pistilo.

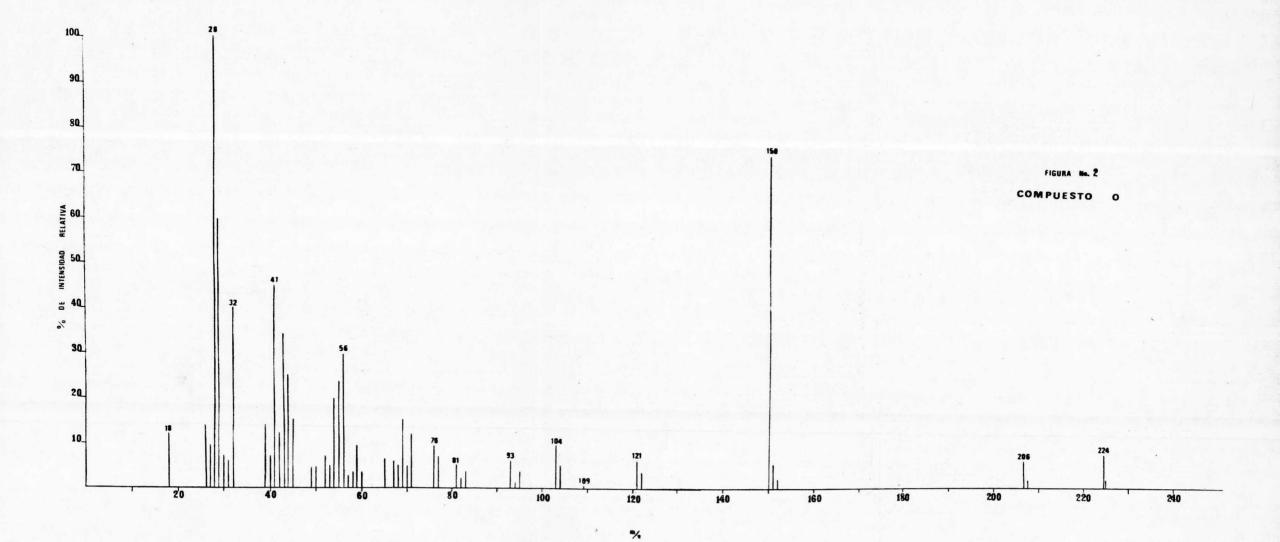
II.-COMPUESTO "O"

De este compuesto se hicieron las transferencias c.c.f.

-I.R. y c.c.f.-E.M. En el espectro I.R., se observa

ron las siguientes bandas:

El E.M. (Fig. No. 2), presenta un ión mo lecular en m/e 224, el pico base es m/e 28, de acuerdo con la interpretación de este espectro (Fig. No.3). se pudieron observar pérdidas de 31 unidades de masaque corresponden al grupo metoxilo, confirmado por la presencia de m/e 32 con una intensidad mayor a la que presenta el oxígeno, correspondiendo al CH₂OH. Se observaron también la pérdida de grupos metilo (15 unidades de masa), y una molécula de agua (18 unidades de masa), así como del grupo CO de la lactona y de 43 unidades de masa que corresponde al grupo CH,CO. Elfragmento m/e 150 corresponde a la pérdida de un grupo metoxilo y un grupo acetilo del ión molecular y a su vez pierde 28 unidades de masa dando 122, 15 unida des de masa originando m/e 135 y 41 unidades de masa-(CH2=CH-CH2), dando m/e 109, el cual a su vez pierde un grupo metilo para dar m/e 94. Toda esta fragmenta-



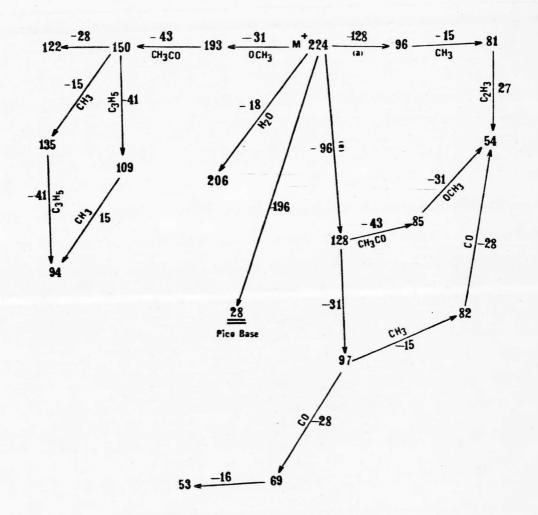
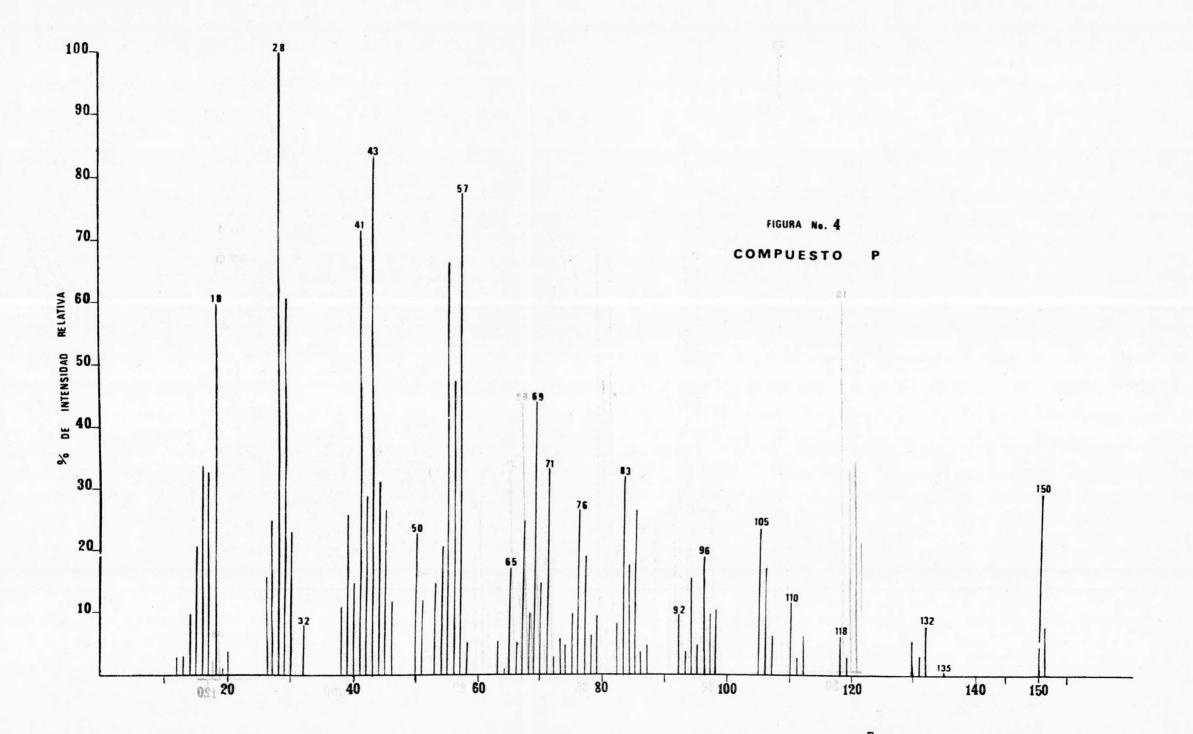


FIGURA No. 3

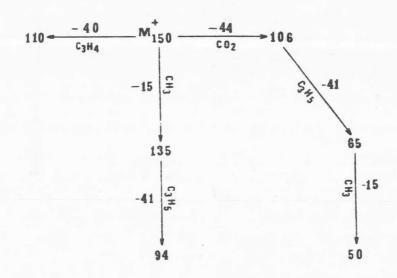
ción y el espectro de I.R., nos indican que la es-tructura del compuesto "O" es la siguiente:

III.-COMPUESTO "P"

El espectro de masas (Fig. No. 4), nos muestra unión molecular \mathbb{M}^+ 150, con un pico base m/e 28. El - ión molecular corresponde a un compuesto $\mathbb{C}_{g}^H{}_{10}^0{}_2$ y pierde 44 unidades de masa (\mathbb{C}_2), originando un fragmento m/e 106. También origina m/e 135 por la pérdida de un grupo metilo y este nuevo fragmento pierde 41 unidades de masa que corresponden a la pérdida - de una cadena $\mathbb{C}_2^H{}_2^H{}_2^H{}_2^H{}_2^H{}_2^H{}_1^H{}_2^H{}_2^H{}_1^H{}_2^H{}_1^H{}_2^H{}_1^H{}_2^H{}_1^H{}_2^H{}_1^H{}$



FRAGMENTACION DE "P" POR IMPACTO ELECTRONICO.

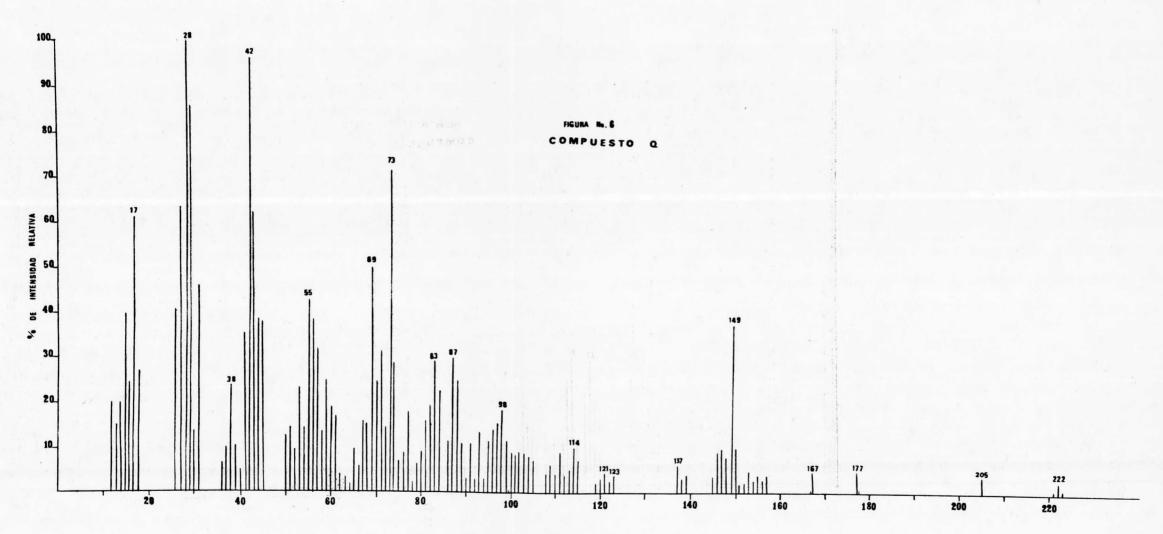


cia de m/e 110, ya que se origina por la pérdida de la misma cadena con transferencia de un átomo de hidrógeno al núcleo (-40). El fragmento m/e 106 pierde a su vez 41 unidades de masa (cadena C_3H_5), formando m/e 65, que por pérdida de un grupo metilo origina - m/e 50.

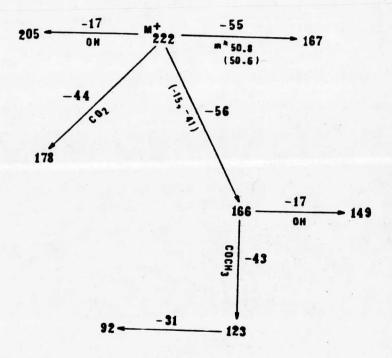
La interpretación de este espectro está - resumida en la figura No. 5 y corresponde a la sigui ente estructura:

IV .- COMPUESTO "Q"

El espectro de masas de este compuesto (Fig. No. 6), presenta un ión molecular m^+ 222 y también aquí el - pico base es 28. Se observa la pérdida de 55 unida--



FRAGMENTACION DE "Q" POR IMPACTO ELECTRONICO.



des de masa originando m/e 167 y la pérdida de 56 uni dades de masa formando el fragmento m/e 166. Estas dos pérdidas corresponden a un grupo metilo y la cade na de 40 y 41 unidades simultánea y respectivamente;esto se confirma por la presencia de un metaestable en 50.8 (metaestable calculado 50.6). m/e 166 origina el fragmento m/e 123 por pérdida del grupo acetilo -CH3CO. 123 pierde un grupo metoxilo (31 unidades), pa ra dar m/e 92. El ión molecular pierde además un grupo oxhidrilo (17 unidades de masa formando m/e 205 y -44 unidades de masa CO2), originando m/e 178. El dia grama de interpretación de este espectro se encuentra en la figura No. 7 y corresponde a un compuesto conla siguiente estructura:

CONCLUSIONES

- I.-Se identificó sacarosa por cromatografía en capa fina en los extractos metanólicos de; cáliz, corola, filamentos y pistilo de la flor Solandra nitida, encon--trándose abundante en los filamentos, trazas en la corola y ausente en cáliz y pistilo.
- II.-Se hizo un extracto de corola desengrasada de la flor tropical Solandra nitida y de ahí se aislaron 3 com-puestos que se denominaron "O", "P" y "Q".
 El compuesto "O" se purificó por las transfererencias;

c.c.f.-E.M. y c.c.f.-I.R. Interpretando los 2 es

C12 H16 04

3-acetil-4-metoxi-5-[3-propen]-6-metil-3,4-dihidropirona-2 El compuesto "P" se estudió sólo por transferencia -c.c.f.-E.M., y efectuando la interpretación del espec
tro se propone la estructura:

5-[3-propen]-6-metil-pirona-2

Del compuesto "Q" de pî 97-98°C, se hizo el espectrode masas y después de interpretarlo se propone para él la siguiente estructura:

3-acetil-4-metoxi-5-[3-propen]-6-metil-pirona-2

III.-Además de los compuestos anteriores, del extracto metanólico de corola de Solandra nitida se aisló e
identificó por espectroscopía de rayos X, el com-puesto inorgánico: Cloruro de potasio.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Rivera, C., Piñeyro, E. and Giral F. Experientia, 32, 1490 (1976).
- 2.- Giral, F., Reguero, T. y Rivera, C. Ciencia, Méx., XXIX, 229 (1975).
- 3.- Geissman, T. A.

 Recent Advances in Phytochemistry

 Vol. 6 Terpenoids: Structure, Bioge
 nesis and Distribution

 Academic Press

 N.Y. (1973).
- 4.- Newman, A. A.

 Chemistry of Terpenos and Terpenoids
 Academic Press
 Londres (1972).
- 5.- Finnar, I.L. Organic Chemistry Vol. 2 Stereochemistry and the Chemistry of Natural Products Longmans-Green Londres (1956).
- 6.- Grandi, R. et al, Phytochemistry, <u>15</u>, 1770-1 (1976).
- 7.- Aoki, T., et al, Phytochemistry, <u>15</u>, 781-84 (1976).
- 8.-Knights, B. A., and Smith, A. R., -Phytochemistry, 16, 139-40 (1977).

- 9.- Mladenova, K, and Ivanova, B. S., -- Phytochemistry, <u>16</u>, 269-72 (1977).
- 10.- Wollrab, V., Phytochemistry, 8, 623- (1969).
- 11.- Blomquist, et al, Lipids, <u>7</u>, 356- -- (1972).
- 12.- Lakshmi, V., et al, Phytochemistry,-15, 1397-99 (1976).
- 13.- Phillipson, J. D., and Handa, S. S., Phytochemistry, <u>15</u>, 605-8 (1976).
- 14.- Andersen, A. B., et al, Phytochemistry, <u>16</u>, 1829-31 (1977).
- 15.- Sthal, E.
 Thin Layer Chromatography
 Academic Press
 N.Y. (1965).
- 16.- Macek, K.
 Pharmaceutical Applications of Thin
 Layer Chromatography
 Elsevier, (1964).
- 17.- Pretsch, Clerc, Seibl, Simon, Tabellen zur Strukturaufklärung Organischer Verbindungen mit Spektroskopischen Methoden. Springer-Verlag Berlin (1976).