

Nº 36
251



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

"CONFIRMACION DE LA PRESENCIA DEL ACIDO
DEHIDROACETICO EN LAS ANTERAS DE LA
FLOR SOLANDRA NITIDA"

T E S I S
Que para obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
p r e s e n t a
OLIVIA CRUZ RONQUILLO



México, D. F.

1992

FALLA DE ORIGEN



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 está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

I N D I C E

	Página
I. INTRODUCCION	1
II. PARTE TEORICA	4
III. PARTE EXPERIMENTAL	23
IV. ESPECTROS	34
V. DISCUSION Y RESULTADOS	47
VI. CONCLUSIONES	56
VII. BIBLIOGRAFIA	60

INTRODUCCION

Hay numerosos estudios reportados en la literatura de flores completas, en las cuales se han estudiado colorantes, ceras, grasas y otros compuestos, pero hay pocos sobre cada una de las partes por separado.

En las plantas al igual que en el humano es de suma importancia el estudio de la anatomía y fisiología de cada órgano que los constituyen.

Desde hace varios años se inició el estudio fitoquímico de la flor tropical Solandra nítida en cada una de sus partes como son:

Corola, en la cual se encontró un derivado de la dihidrocromona (1), varios terpenos (2) y otros compuestos heterocíclicos (3). En los estambres se identificaron ésteres metílicos de los siguientes ácidos grasos: Láurico, mirístico, esteárico y oleíco (4). Así mismo se realizó la determinación en forma sistemática de la presencia de sacarosa en las diferentes partes de la flor, encontrándose que no existe en cáliz, ni en pistilos, hay huellas en corola; en los filamentos de los estambres hay una cantidad apreciable y en las anteras existe en un 0.4% (5).

Recientemente se ha efectuado el estudio de las grasas de la corola y pistilos (6). La Solandra nítida pertenece a la familia de las Solanáceas por lo que se realizó la investigación de alcaloides en la planta, solamente se encontraron en raíz: Atropina y Escopolamina (7).

En las anteras se han realizado numerosos estudios en los cuales se ha logrado aislar varios compuestos y uno de ellos es el ácido dehidroacético; el cuál es de especial interés en la realización de esta tesis.

En los trabajos anteriormente realizados se utilizaron anteras completas y con polen (8), (9). En nuestro caso hemos utilizado la antera dividida en dos partes (externa e interna) y sin polen.

Esto se hizo con el objeto de precisar la localización del ácido dehidroacético en la antera y desechar la posibilidad de que se encontrará en el polen.

La presencia del ácido dehidroacético puede representar una vía de eliminación del ácido acético diferente a las ya conocidas.

P A R T E T E O R I C A

Las Solandras forman un reducido grupo dentro de la subfamilia Datúrea de las Solanáceas.

Algunas se cultivan como ornamentales en lugares templados y aún en los semicálidos se encuentran silvestres en alturas de 1600 a 2500 m. sobre el nivel del mar, es una planta trepadora de ramas extendidas, con hojas elípticas u ovales, de ápice brevemente acuminado, rara vez agudo o redondeado; las flores son blancas, amarillentas o amarillas, aromáticas de 15 a 25 cm de largo por 12 a 15 cm de diámetro, estambres encorvados, salientes; anteras oblongas de 10 a 15 mm fruto comestible. El limbo ocasionalmente se ensancha tomando una forma globosa, por ello algunos ejemplares se han identificado como Solandra longiflora y Solandra grandiflora.

Se han observado en México 4 especies:

Solandra guttata

Solandra brevicalyx

Solandra nítida

Solandra querrerense

Solandra nítida. (Datura máxima, Solandra selerae, Solandra hartweggi):

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 cul-

tiva también en varios lugares del Distrito Federal, donde comunmente da fruto.

Se la puede localizar en Chiapas, Guerrero, Jalisco, México, Michoacán, Oaxaca, Puebla y Veracruz; se le conoce con los nombres vulgares: copa de oro (D.F., Puebla, México, Morelos); Lipaca-tuhue (Oaxaca); Tecomaxóchitl; Tetona (Veracruz); Bule (Chilpancingo, Gro.) (10).

La importancia que tienen las anteras en las flores radica principalmente en que las anteras realizan la función principal del estambre, o sea la producción de polen, y es el órgano masculino de la planta. Consiste generalmente en dos lóbulos longitudinales unidos por una banda de tejido llamado conectivo. La liberación del polen en la antera se realiza de la siguiente manera:

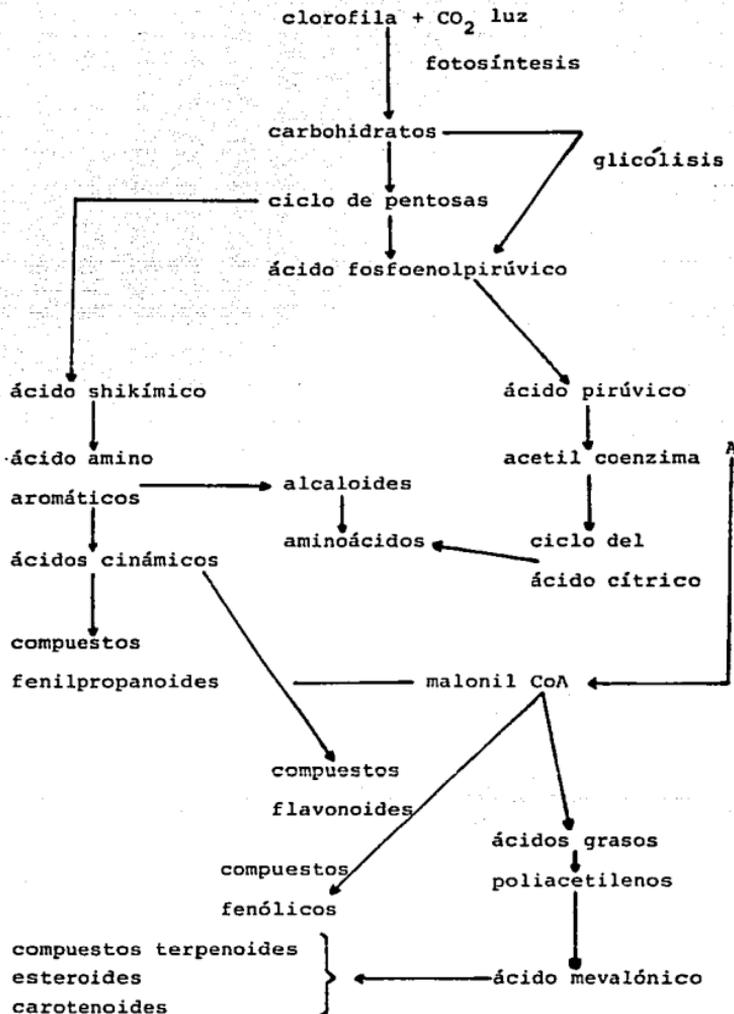
Al cortar transversalmente una antera no madura puede verse que cada lóbulo contiene dos cavidades longitudinales con sacos polínicos dentro de los cuales se producen los granos de polen.

Poco antes del desprendimiento del polen los dos sacos en cada lóbulo de la antera se convierten en una sola cámara debido a la separación del tejido que los separaba. Posteriormente se forma una hendidura longitudinal en la pared de cada lóbulo de la antera por la cual escapa el polen ya maduro (11).

En el mundo de la naturaleza abundan compuestos orgánicos de toda clase de estructuras concebibles, por lo que su estudio constituye una fascinante productividad en el área de la investigación científica.

El primer proceso de síntesis en la naturaleza es la fotosíntesis, por la cual las plantas verdes (fotosintéticas) capturan energía solar en forma de ATP y de NADPH, que emplean como fuentes de energía para elaborar carbohidratos y otros componentes orgánicos de la célula, a partir de dióxido de carbono y de agua; simultáneamente liberan oxígeno a la atmósfera (12). Además la alteración del metabolismo lleva a la formación de compuestos orgánicos de bajo peso molecular y simple estructura. Entre éstos son comunes los azúcares, ácidos carboxílicos de bajo peso molecular y aminoácidos. Estas sustancias que están universalmente distribuidas se forman e intervienen en los procesos metabólicos primarios.

Elas constituyen las materias primas iniciales de las reacciones controladas genéticamente y catalizadas enzimáticamente que conducen a compuestos complejos que caracterizan el metabolismo secundario de las plantas (Esquema No. 1).



Esquema No. 1. Productos del Metabolismo Secundarios en Plantas.

METABOLITOS PRIMARIOS Y SECUNDARIOS

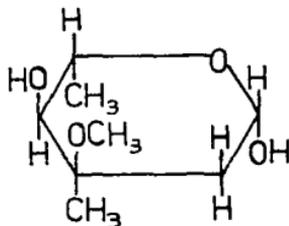
El término "producto natural" es reconocido por el químico como aquellos metabolitos secundarios de estructura relativamente compleja que son de distribución restringida y son más característicos de especies botánicas específicas que los compuestos producidos por procesos metabólicos primarios. Estos compuestos son sustancias relativamente simples universalmente distribuidas, de bajo peso molecular provenientes del ciclo del ácido cítrico, los veinte o más aminoácidos los cuales producen la mayoría de las proteínas, los lípidos y grasas más comunes los azúcares y sus derivados.

No es únicamente su estructura compleja lo que distingue al producto natural orgánico de aquellos compuestos que tradicionalmente han sido del campo bioquímico, si no la gran cantidad de detalles especiales que proporcionan los metabolitos secundarios, muchos de estos únicamente encontrados en plantas específicas y otros cuyas características están restringidas a ciertos grupos de plantas. Los metabolitos primarios además son casi universales en su distribución. Ellos son productos y participantes en las actividades celulares de casi todas las formas vivientes desde los organismos unicelulares hasta el hombre. Sin embargo, aparentemente no hay líneas específicas que delimiten está cierta clase de com-

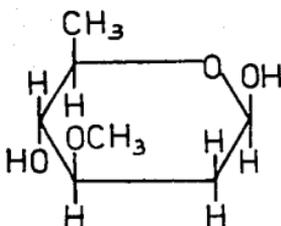
puestos. Mientras muchos aminoácidos comunes como la glicina, alanina, triptofano y demás no podrán ser denominados ordinariamente por el término de producto natural, otros aminoácidos que no son encontrados como constituyentes de las proteínas pero que se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, como el ácido pipercolico, la hipoglicina, el β -uracil-3-alanina, el ácido estizolóbico y otros muchos que se encuentran en la literatura reportados como productos naturales. La química y transformaciones metabólicas de la glucosa, fructuosa, pentosa y demás polisacáridos comunes forman la mayor parte de las investigaciones bioquímicas aunque algunos azúcares raros como la cladinosa, oleandrosa, desosamina y otros se encuentran como componentes de los antibióticos y de los glicósidos esteroidales y han sido estudiados químicamente.

Algunos metabolitos primarios típicos y estructuras análogas de metabolitos secundarios.

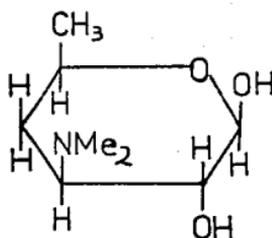
CLADINOSA



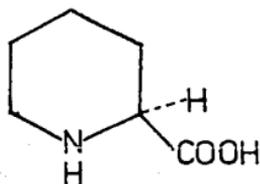
OLEANDROSA



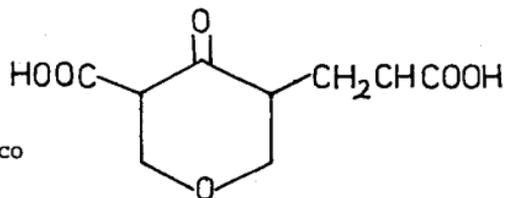
DESOSAMINA



ACIDO PIPECOLICO



ACIDO ESTIZOLOBICO



Una característica general de un producto natural es que a muy pocos de ellos se les ha reconocido claramente su función y actividad metabólica en el organismo donde fueron encontrados, como los alcaloides, la mayoría de los compuestos fenólicos en plantas, terpenos, azúcares con especial estructura y los aminoácidos raros. Esto no implica que no intervengan en una actividad metabólica ya que en muchos casos son degradados, reducidos, acetilados, alquilados y oxidados. Pero no es posible decir en este momento que son indispensables para la planta, dado que hay una gran cantidad de plantas que no contienen alcaloides, flavonas o alguna otra clase de terpenos; y en otros casos dos plantas relativamente cercanas o inclusive de la misma especie pueden contener diferentes cantidades de compuestos representativos o bien presentar una o dos de estas clases de compuestos.

Sin embargo, es imposible aceptar la conclusión que muchas veces se ha utilizado diciendo que el metabolito secundario de las plantas son anomalías sin función o son simplemente productos de terminación. Nuestra inhabilidad para adscribir una función metabólica a estos compuestos, puede significar que aún no ha sido descubierta (13).

Es importante recalcar por ejemplo el ácido shikímico que fué descubierto en 1950 y fué reportado en algunos

libros de texto como un compuesto oscuro sin utilidad en una planta asiática denominada *Illicium religiosum*, además de otros ejemplos como el escualeno, un triterpeno encontrado en el aceite de hígado de tiburón.

Ambos, el ácido shikímico y el escualeno ahora son conocidos como los participantes principales de las actividades metabólicas en las plantas (el ácido shikímico).

Es importante hacer notar que ahora muchos de estos productos naturales pronto serán reconocidos por poseer actividades biológicas.

PRINCIPALES VIAS DE BIOSINTESIS

Microorganismos, plantas y animales son estructuras extraordinariamente complejas. Los productos de sus actividades metabólicas no pueden ser categorizadas en simples términos aunque algunas de las vías principales de sus capacidades sintéticas pueden ser descritas. La vía principal, ilustrada en el cuadro No. 1, ejemplifica un número determinado de productos naturales y sus diferentes canales de síntesis.

Hay tres compuestos primarios de síntesis: El ácido acético (como éster de CoA), el ácido shikímico y el alcohol γ -dimetil-alílico (como éster de pirofosfato) (13).

Aparentemente las transformaciones químicas que se llevan a cabo en organismos vivos ocurren por rutas predecibles desde el punto de vista de mecánica racional y consideraciones estructurales. Aunque es probable que la mayoría de estas reacciones son mediadas por la acción catalítica de las enzimas, es una premisa fundamental en el proceso de los estudios biosintéticos que ocurren por mecanismos normales. El rol de las enzimas pueden ser:

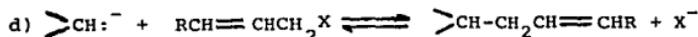
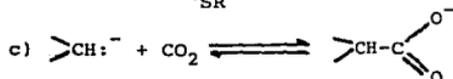
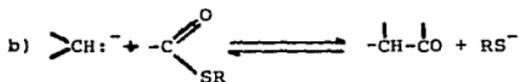
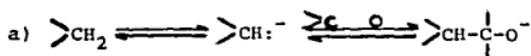
- a) catalizar una reacción para incrementar su velocidad comparada con las reacciones competitivas o
- b) dirigir estereoquímicamente el curso de una reacción para dar un producto y no otro que puede ser posible.

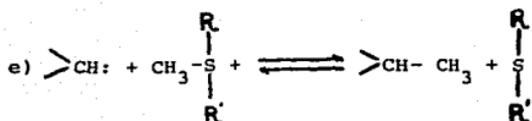
Hay muchos casos en que parte de la enzima, el grupo prostético o coenzima, participa en la reacción de una manera que puede ser representada explícitamente por la formación de un intermediario de una combinación sustrato-grupo prostético. En estos casos los pasos sintéticos deberán incluir la fórmula adecuada y función del grupo prostético.

Ejemplos de éstos son encontrados en aquellas reacciones que requieren enzimas en donde el pirofosfato de tiamina es el grupo prostético.

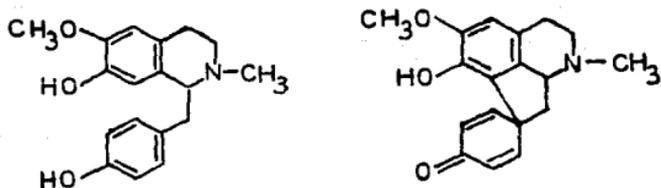
Algunas de las transformaciones biosintéticas descritas pertenecen a una categoría bien simple y conocida de reacciones. Algunas de éstas son las siguientes:

- 1) Formación del enlace C-C por reacción nucleofílica del grupo metileno con el átomo electrofílico del carbono de una cetona, de un éster, de un dióxido de carbono, éster alílico y de un ión metilsulfónico.

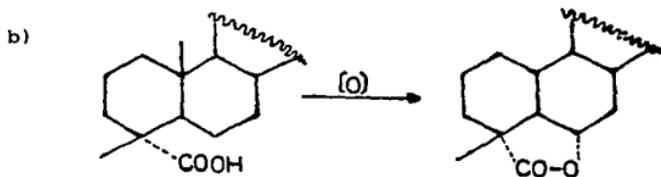
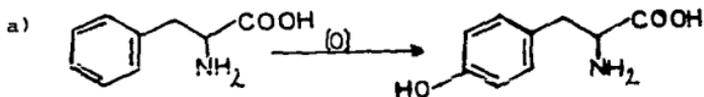


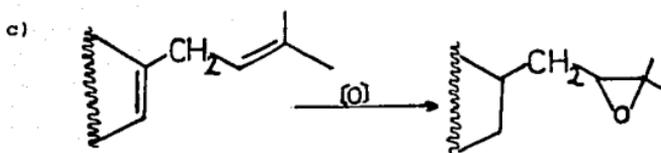


2) Formación del enlace C-C por oxidación.

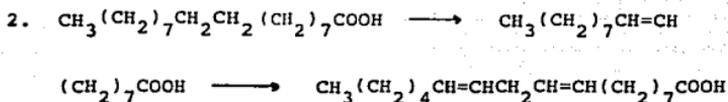
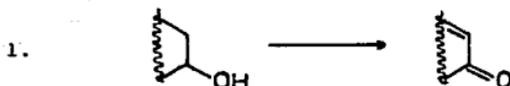


3) Introducción de oxígeno por oxidación de las ligaduras C-H a) y b) ó por epoxidación directa de doble ligadura C=C c).





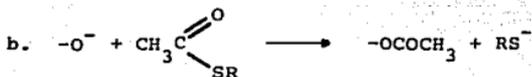
4) Una oxido-reducción de los enlaces C-O y C-C.



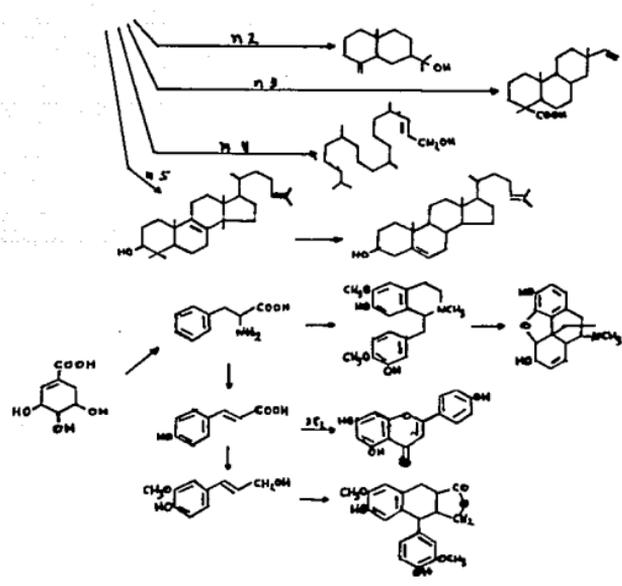
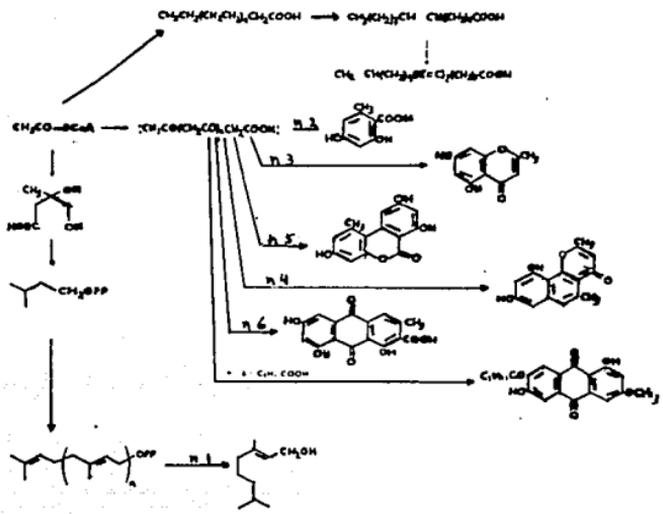
5) Descarboxilación de ácidos β -ceto carboxílicos.



6) Alquilación y acilación de nitrógeno nucleofílico y átomos de oxígeno.



Cuando estos procesos ocurren como una parte de la secuencia biosintética se puede suponer que se realizan por medio de enzimas específicas. De hecho nuestros conocimientos de los detalles exactos de la manera en que las enzimas participan en muchas de estas reacciones es muy imperfecto.



Cuadro No. 1. Principales vías de síntesis en el Metabolismo Secundario.

COMPUESTOS DE TRES CARBONOS DEL METABOLISMO PRIMARIO

El fosfato de triosa y el ácido fosfoglicérico además de los hidratos de carbono del ciclo del pentafofato, todos ellos participantes importantes en la fijación fotosintética del CO_2 son compuestos sumamente importantes y claves en los procesos metabólicos primarios de las plantas. Por transformaciones del metabolismo primario se llega a ácido pirúvico, a ácido fosfoenolpirúvico y a acetil-coenzima A. Estos a su vez forman los bloques principales de los metabolitos secundarios más elaborados de las plantas vivientes.

El fosfogliceraldehído y su isómero el fosfato dihidroxiacetona se forma a partir de la fijación fotosintética del dióxido de carbono y por el rompimiento de azúcares. Ya que estos carbohidratos se forman a partir de compuestos con tres átomos de C y se pueden descomponer por varios procesos metabólicos, pueden suponerse una infinidad de interrelaciones químicas además de diferentes niveles formados a partir de ellos. Es conveniente considerar el rompimiento de carbohidratos desde un punto en el cual reflejen toda una serie de reacciones químicas complejas, las cuales posteriormente serán la discusión central de la biosíntesis de los compuestos naturales.

La glucosa sirve a los organismos vivos de dos maneras es una fuente de energía para su crecimiento y un

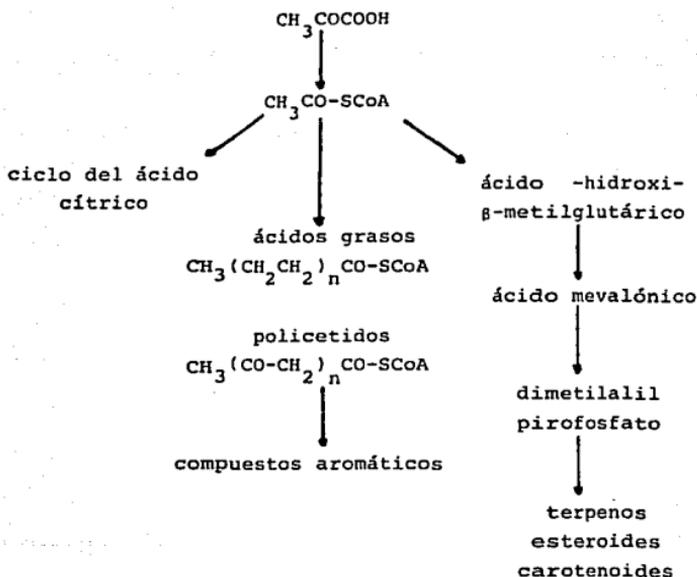
precursor de una innumerable cantidad de materiales que son importantes para las actividades sintéticas de las células. El rompimiento de la glucosa ocurre de diferentes maneras pero nuestro interés se fijará en un metabolismo oxidativo llamado respiración.

Es importante hacer notar que el ácido 3-fosfoglicérico 3 (PGA) es un producto de la degradación de la glucosa al igual que un producto de la asimilación del dióxido de carbono. Su importancia aumenta al ver su cercana relación con dos compuestos cuyos roles son claves en la biosíntesis: ácido pirúvico y ácido fosfoenolpirúvico (PEP).

La descarboxilación del ácido pirúvico catalizada enzimáticamente lleva a la formación de la acetil CoA la cual es el punto inicial en la secuencia de tres reacciones de gran importancia.

1. El ciclo del ácido cítrico para la completa oxidación del ácido pirúvico con la subsecuente formación de ATP, β -ceto ácidos y con reacciones asociadas con el metabolismo del nitrógeno y aminoácidos.
2. La formación de cadenas policeto $-\text{CH}_2-\text{CO}-$.
3. La formación del ácido β -hidroxi- β -metilglutárico, ácido mevalónico y eventualmente terpenos y esteroides.

Estos procesos son una parte del esquema general representado en el cuadro No. 1 y son explicados en la siguiente figura:



La importancia especial de la acetil CoA en los procesos biosintéticos del metabolismo secundario en las plantas, se debe a la remarcable versatilidad dentro de la transformación celular (13).

PARTE EXPERIMENTAL

Las anteras con que se trabajó se colectaron en Cuernavaca, Morelos.

El gran tamaño de la flor Solandra nítida permite que se lleve a cabo la separación de los componentes de la flor como son el cáliz, corola, pistilos y estambres.

Estos últimos se separaron con cuidado en filamentos y anteras.

Una vez separadas las anteras se secaron y debido a su gran tamaño (aproximadamente 1 cm de longitud) se facilitó la eliminación de polen sacudiendo muy bien la antera, ya que no se deseaba que éste estuviera presente en las extracciones que se realizarían con diferentes disolventes.

Se preparó la parte externa de la interna, porque pueden ser diferentes los componentes de cada una. Anteriormente se había trabajado con la antera completa y sin quitar el polen (8).

Se pesaron las partes de la antera obteniéndose de la parte externa 295.59 g, de la parte interna 6.84 g. Posteriormente se molieron y se colocaron en papel filtro en forma de cartucho para introducirlos en dos soxhlets para llevar a cabo la extracción con los diferentes disolventes, hexano (para desengrasar) cloroformo, metanol y tetrahidrofurano, en orden sucesivo.

En cada uno de ellos la extracción se continuó hasta agotamiento. El control de las extracciones se realizó por medio de cromatografía en capa fina.

EXTRACTOS OBTENIDOS:

EXTRACTO HEXANICO

	PESO (g)
Parte externa de la antera	2.86 g
Parte interna " " "	0.17 g
De color amarillo intenso, semisólido.	

EXTRACTO CLOROFORMICO

Parte externa de la antera	1.65 g
Parte interna " " "	0.21 g
Color café oscuro semisólido, olor dulce.	

EXTRACTO METANOLICO

Parte externa de la antera	11.29 g
Parte interna " " "	0.80 g
Color café muy oscuro de aspecto chicloso.	

EXTRACTO TETRAHIDROFURANO

Parte externa de la antera	1.17 g
Parte interna " " "	0.86 g
Color café oscuro semisólido.	

De los extractos realizados el que presenta mayor interés es el extracto clorofórmico ya que en éste anteriormente se reportó la presencia del ácido dehidro-

ácetico (8).

Los otros extractos se trabajarán posteriormente en otras investigaciones.

Se procedió a trabajar con los extractos clorofórmicos tanto de la parte externa como de la interna, utilizando el medio ácido fórmico-tolueno-formiato de etilo (1+5+5). En el cual se reportó la presencia de 14 manchas en cromatografía de capa fina. Nosotros confirmamos la presencia de esas 14 manchas tanto en el extracto de la parte externa como de la parte interna de la antera.

Se buscó otro medio adecuado para sustituir al anterior dado que los reactivos antes mencionados no se tenían disponibles, el mejor medio encontrado fué: cloroformo-metanol (9.5+0.5). En este medio también se apreciaban 14 manchas como con el anterior.

Con el medio cloroformo-metanol (9.5+0.5) se realizaron una serie de cromatografías en capa fina de los extractos de la parte externa e interna de la antera, utilizando placas de 5X20 cm y bidimensionales de 10X10 cm.

Se pudo observar que presentaban el mismo número de manchas (catorce), que revelaban de los mismos colores con ácido sulfúrico 5N. Tomando como base su R_f y el colorido al revelar con H_2SO_4 5N, se decidió juntar los dos extractos y trabajarlos de la misma manera en la siguiente columna.

Columna cromatográfica:

La columna utilizada fué de 3 cm de diámetro y 80 cm de largo, se montó con 186 g de gel de sílice para columna cromatográfica, tamaño de partícula 0.063-0.200 mm (70-230 mesh ASTM) Merck.

La relación que se usó muestra/gel de sílice fué de (1/100). Se aplicaron 1.86 g del extracto clorofórmico. El eluyente utilizado cloroformo-metanol (9.5+0.5) ya que fué el que mejor resolución presentó.

Por medio de un colector automático modelo (ULTRORAC 7000) se tomaron fracciones de 3 ml las cuales se controlaron con cromatoplasmas en capa fina de 20X10 cm Merck usando como eluyente el mismo medio.

Las fracciones colectadas en total fueron 2150. Después de controlarlas en cromatografía de capa fina se unieron de la siguiente manera:

Fracciones	No. de Matraz
1- 9	1
10- 19	2
20- 30	3
31- 35	4
36- 45	5
46- 55	6
56- 60	7

Fracciones	No. de Matraz
61- 70	8
71- 75	9
76- 84	10
85-190	11
191-200	12
201-255	13
256-345	14
346-365	15
366-494	16
495-585	17
586-619	18
620-675	19
676-734	20
735-945	21
946-1049	22
1050-1265	23
1066-1365	24
1366-1425	25
1426-1479	26
1480-1494	27
1495-1525	28
1526-1625	29
1626-1725	30
1726-1900	31
1901-1925	32

Fracciones	No. de Matraz
1926-1989	33
1990-2024	34
2025-2150	35

Con otro control más minucioso se lograron juntar las fracciones de esta manera:

Número de matraz	Letra asignada
1,2	a
3,4	b
5,6,7,8	c
9,10,11	d
12,13	e
14,15,16,17,18,19	f
20,21,22	g
23,24,25,26,27,28,29,30,31	h
32,33,34	i
35	j

Las fracciones de la "a a la j" se corrieron en el mismo medio en cromatografía de capa fina contra un estándar de ácido dehidroacético comercial para compararlas y ver si en algunas de las fracciones podría encontrarse presente dicho ácido. Después de correrlas en el medio cloroformo-metanol (9.5+0.5) se observaron con luz U.V. de onda larga y corta ya que el estándar en el mismo me-

dio con luz UV de onda larga no reveló, pero con la onda corta se observó una mancha muy bien definida que presentaba una coloración morada. Con iodo reveló en color amarillo, con ácido sulfúrico 5N no reveló.

Al revelar con la lámpara de luz UV de onda larga se pudo ver que en las fracciones b, c, d y la g presentaron manchas color lila y con la onda corta solamente la fracción "h" presentaba una mancha de igual coloración y Rf que el estándar. Todas las fracciones revelaron con iodo en color amarillo con diferentes Rf, a excepción de la fracción "h" que presenta una mancha con ligera coloración amarilla, con el mismo Rf que el estándar; con ácido sulfúrico 5N se observaron varias manchas de colores diferentes, a excepción del estándar que no reveló.

FRACCION "c"

Al concentrarla se formó un precipitado blanco en el fondo del tubo, se quitó el sobrenadante con pipeta Pasteur. El precipitado se disolvió con cloroformo, y se buscó un medio adecuado para correr una (ccf) analítica. El que mejor resolución presentó fué el cloroformo-acetona-metanol (8+1+1). Con este medio se corrió la placa la cual al revelarla con iodo y ácido sulfúrico 5N se observó que solo presentaba una sola mancha de co-

lor ligeramente amarillo. Se corrió otra placa, ahora bidimensional de 10X10 cm en (ccf) en el mismo medio, para verificar que sólo era una mancha lo cual se comprobó. Después de varias pruebas se logró cristalizar con acetona-metanol (5+5) quedando unos cristales blanquesinos de punto de fusión 65°C, a los cuales se les mandó sacar espectro de IR que se anexa a continuación.

FRACCION "d"

Se buscó un medio adecuado para correr esta fracción en placa cromatográfica preparativa para separar las dos manchas presentes en esta fracción. El mejor medio encontrado fué cloroformo-etanol (8+2), se corrió cromatografía en capa fina de 20X20 cm y 0.25 mm de espesor de gel de sílice (60 F₂₅₄) Merck.

Por este método se logró separar dos fracciones denominadas d_I y d_{II}.

A la fracción d_I se le evaporó el disolvente con que se extrajo de la gel de sílice. Se formaron unos cristales muy pequeños de color amarillo opacos, de punto de fusión 160°C. A estos cristales se les corrió una cromatografía en capa fina bidimensional de 10X10 cm y revelada con I y H₂SO₄ 5N se observó la presencia de una sola mancha color amarillo tenue bien definida. A esta fracción d_I (cristales) se les mandó sacar espectros de

IR y Espectrometría de Masas los cuales se anexan a continuación.

La fracción denominada d_{II} no se trabajó debido a que era muy pequeña la cantidad obtenida.

FRACCION "f"

Por evaporación en la fracción "f" se obtuvo un residuo color amarillento, que se purificó mediante varias cristalizaciones que se realizaron alternadas en acetona y metanol, hasta obtener un producto blanco de punto de fusión 75-77°C. Este producto se recristalizó varias veces con metanol hasta obtener un punto de fusión constante el cual fué de 78°C. A éste se le mandaron sacar espectro de IR y de espectrometría de Masas que se anexan a continuación.

FRACCION "h"

La fracción "h" presenta tres manchas las cuales se separaron por cromatografía en capa fina preparativa.

Las fracciones obtenidas de ésta se denominaron h_I , h_{II} y h_{III} . La h_I y h_{II} no se trabajaron ya que al correrlas en otros medios diferentes presentaban varias manchas.

La fracción h_{III} es la que presenta características iguales a las del estándar comercial del ácido dehidro-

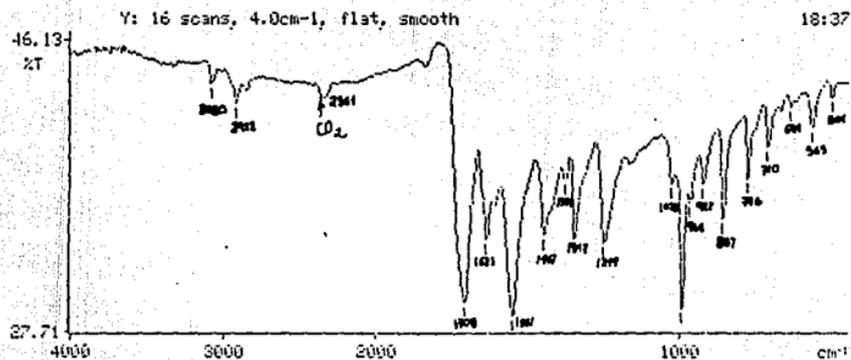
acético a excepción de que al revelarla con H_2SO_4 5N presenta una ligera coloración amarilla, lo cual nos hizo suponer que estaba impura. Se trató de purificar por cromatografía en capa fina preparativa de 20X20 cm de 0.25 mm de espesor de gel de sílice (60 F₂₅₄) Merck, utilizando como eluyente cloroformo-metanol (9.5-0.5), y con este mismo medio se recuperó de la gel de sílice.

Este procedimiento se le realizó a la fracción h_{III} dos veces, después de las cuales se logró la obtención de unos cristales blancos pequeños muy finos de punto de fusión 110°C.

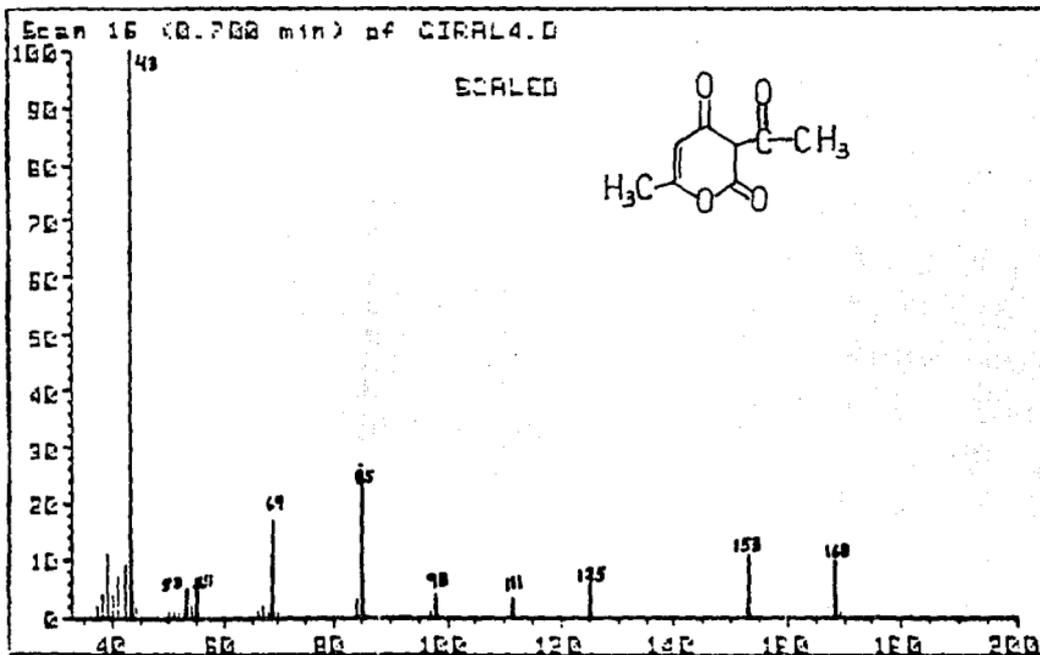
A estos cristales se les corrió una cromatografía en capa fina y al revelarla con ácido sulfúrico 5N se comprobó que ya no presentaba la ligera coloración amarilla que se observaba antes de purificarla.

Se les mandó sacar a los cristales espectros de IR y Espectrometría de Masas los cuales se anexan a continuación.

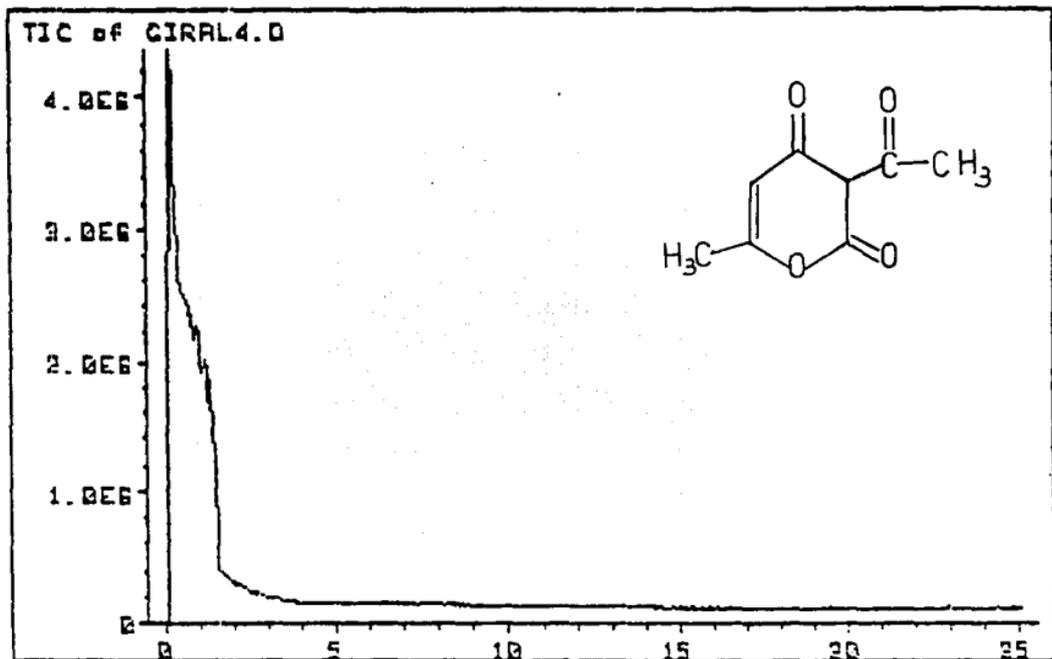
ESPECTROS



Espectro (I)
ac. dehidroacético.

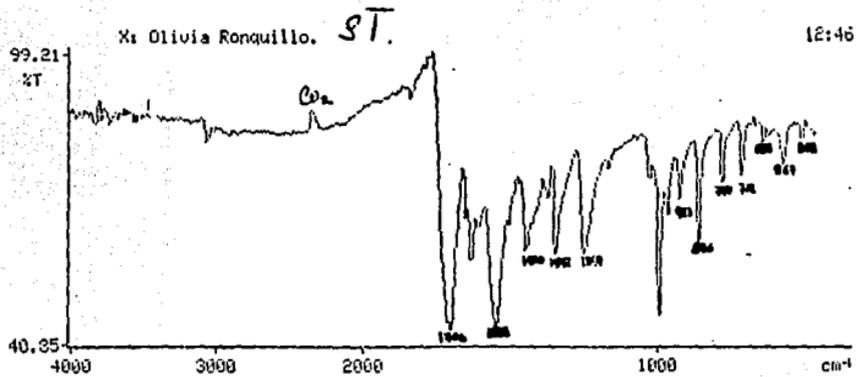


Espectro (II)

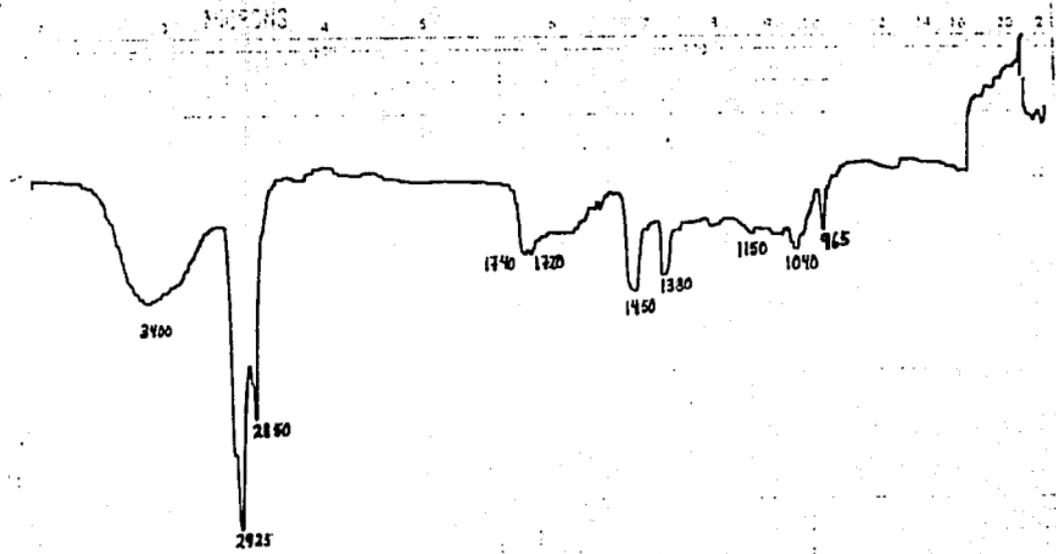


Espectro (III)

Termograma

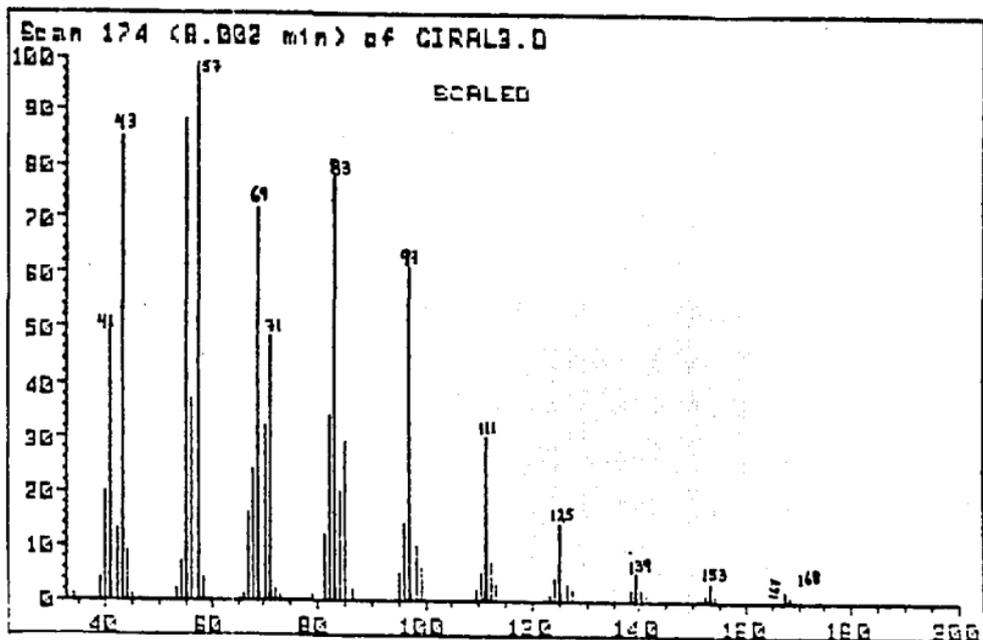


Espectro (IV)



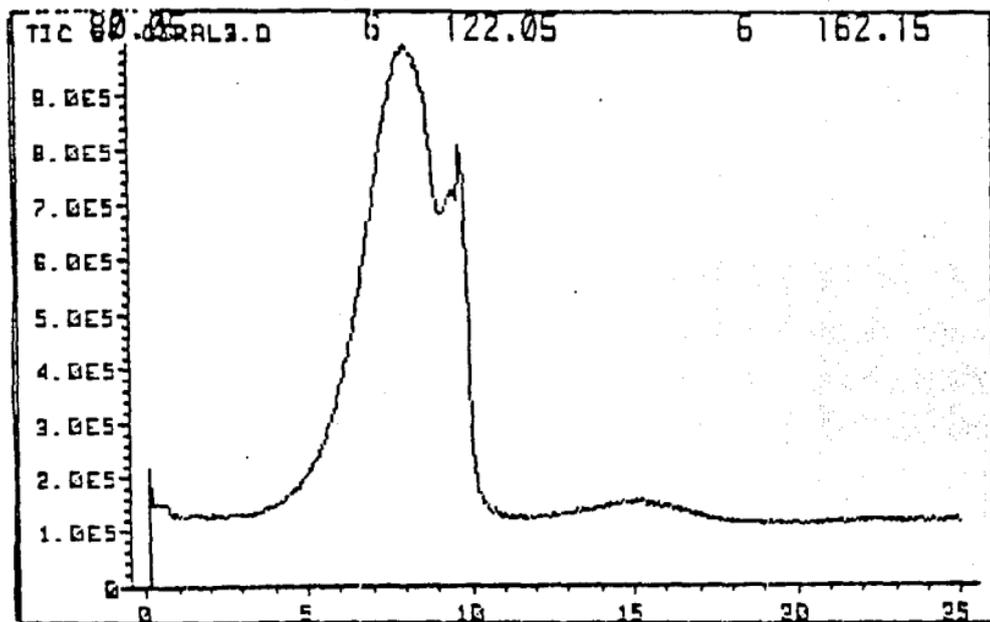
ESPECTRO (V)

SAMPLE		SOLVENT		SCAN		SINGLE B.		REMARKS.
Fd		KBr		12				
CONC		-		SLIT N		T.D. SPEED.		
CELL PATH		-		OPERATOR Marisela		ORD. EXP.		39
REFERENCE		oil		DATE 6-VII-80		T.CONST 1		
ORIGIN Cruz Ronquillo Olvera				No. 5102-1000		REF. No. 24957		



Espectro (VI)

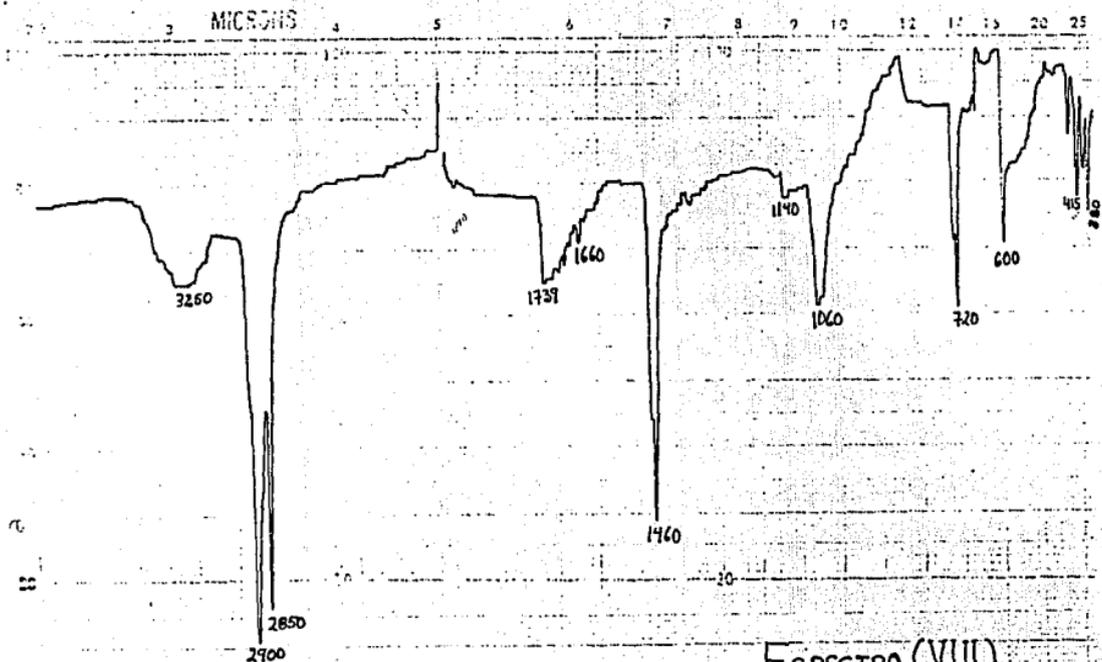
Isómero del ác. dehidroacético



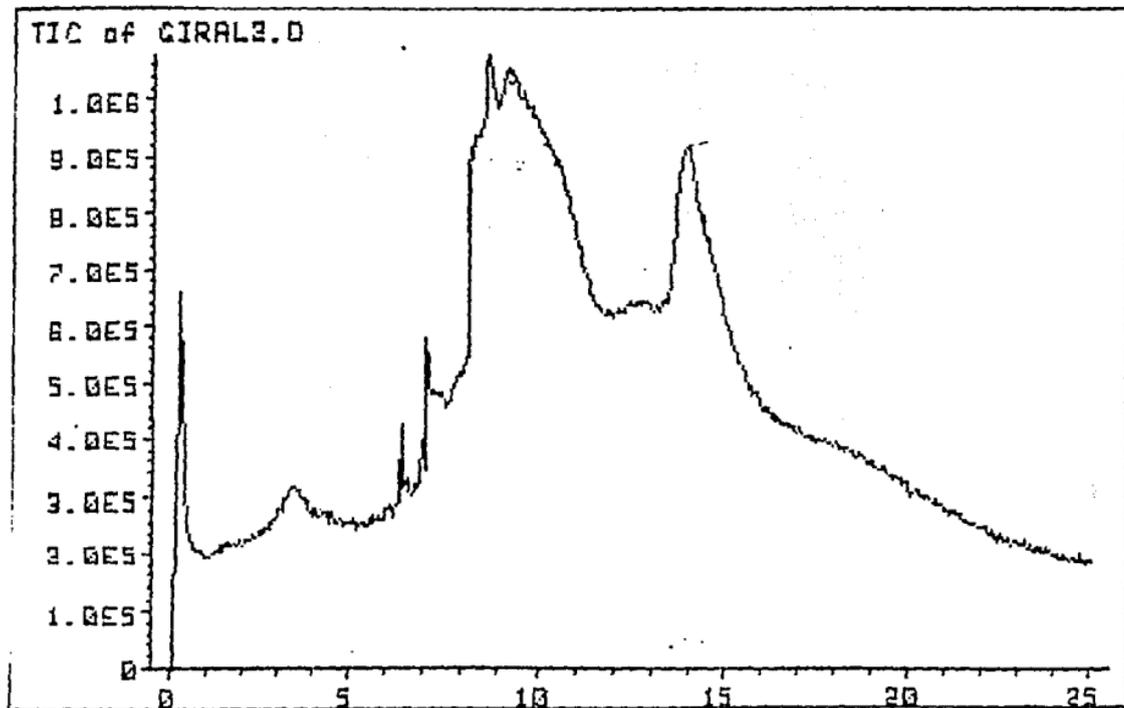
Espectro (VII)

Termograma

Isómero del ác. dehidroacético

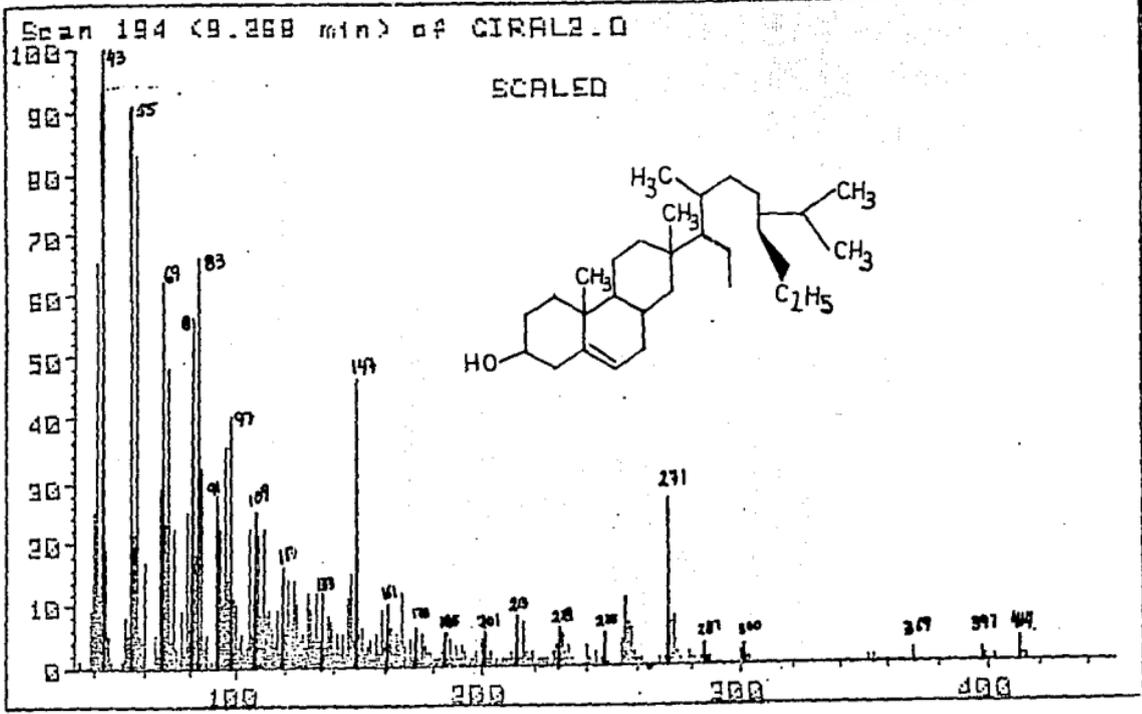


4000	3000	2000	1800	1600	1400	1200	1000	800	600	400
WAVENUMBER (CM ⁻¹)										
SAMPLE	SOLVENT	SCAN	SINGLE B.	REMARKS.						
Fr F	KBr	6X9								
CONC	CELL PATH	SLIT	T.O. SPEED.							
		W								
ORIGIN	REFERENCE	DATE	T.CONST							
Oliver Perry R	air	6-11-20								
		No. 5102-1000	REF. No. 24769							

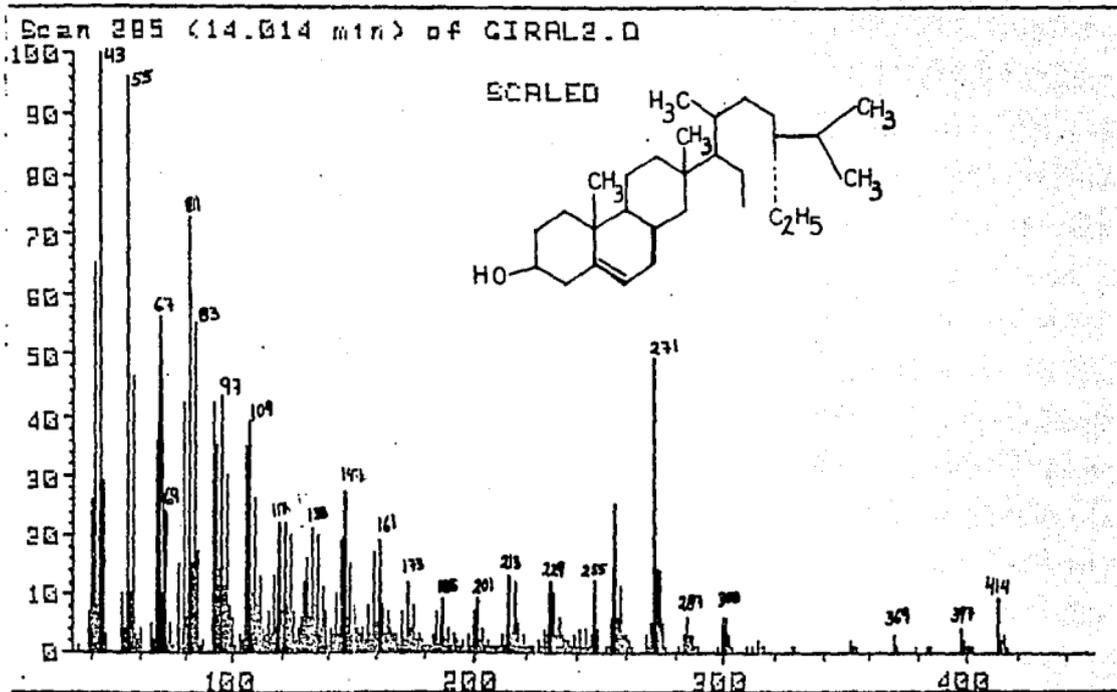


Espectro (IX)

Termograma



Espectro (X)



Espectro (XI)

DISCUSION Y RESULTADOS

Del extracto clorofórmico de las anteras de la flor tropical Solandra nítida se obtuvieron las fracciones: "c", "d". "f" y "h" de las cuales se aislaron e identificaron tres compuestos.

Un cuarto compuesto puro obtenido sólo pudo ser estudiado por espectroscopía de IR debido a la pequeña cantidad obtenida.

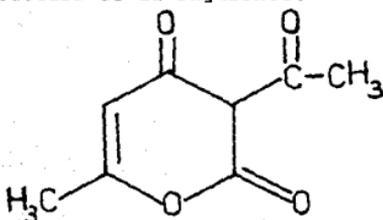
De la fracción "h" se purificó el compuesto h_{III} siguiendo el procedimiento reportado por E. Pineiro (8), con algunas modificaciones que hemos reportado en la parte experimental. Los métodos escogidos para identificar la muestra aislada fueron: la comparación con el estándar de ácido dehidroacético en cromatografía de capa fina, el punto de fusión, el espectro de IR espectro (I) y el de Masas espectro (II), con su correspondiente termograma (III), de fragmentación. El punto de fusión 110°C y el R_f en la cromatografía de capa fina coinciden en el compuesto h_{III} y el estándar.

Los espectros de IR del estándar espectro (IV), y el del compuesto h_{III} espectro (I), coinciden pico a pico lo cual es suficiente prueba para la identidad de dos compuestos (18).

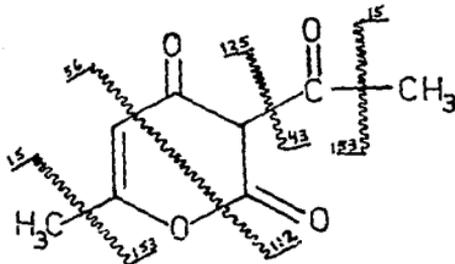
El espectro de Masas (II), obtenido coincide en la fragmentación así como en el Ión Molecular con el espectro del compuesto conocido (8). Los principales fragmentos encontrados fueron: m/e 43 (pico base), 53, 55, 69,

85, 98, 111, 125, 153 y 168 (Ión Molecular).

Lo citado anteriormente demuestra sin lugar a dudas que el compuesto h_{III} es idéntico al ácido dehidroacético cuya estructura es la siguiente:



Los principales fragmentos obtenidos en el espectro de masas se ilustra en la siguiente figura:



Con este estudio quedó confirmada la presencia del ácido dehidroacético en las anteras de Solandra nítida cumpliéndose el objetivo de esta tesis.

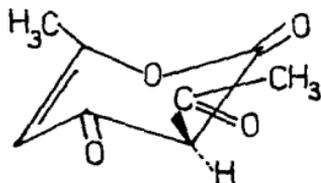
De la fracción "d" se aisló y purificó el compuesto d_I el cual presenta un espectro de IR espectro (V), muy semejante al del estándar del ácido dehidroacético espectro (IV), en él se ven claramente las bandas 1720 y 1740 cm que corresponden a un carbonilo del grupo acetilo y al carbonilo de una cetona de seis miembros.

3400 cm^{-1} corresponde a una banda de OH.

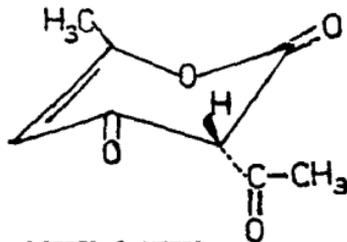
De este compuesto se corrió el espectro de Masas (VI) con su correspondiente termograma (VII). Este nos indicó que se trataba por lo menos de dos o tres compuestos mezclados habiéndose podido obtener el espectro de masas del compuesto que se evaporó a los 8.002 min. después que se introduce la muestra a la cámara de ionización. Este compuesto que corresponde al espectro (VI), presenta los mismos fragmentos que el ácido dehidroacético identificado anteriormente difiriendo solo en intensidad de los mismos. Este es un caso típico de isomería (15), por lo tanto el compuesto tiene la estructura del ácido dehidroacético difiriendo sólo en la configuración en el C-3 que tiene el grupo acetilo.

Una búsqueda intensiva en la literatura nos indicó que el ácido dehidroacético tiene estereoquímica desconocida para el C-3. Esta incognita sólo se puede resolver por síntesis orgánica o por los métodos modernos de Resonancia Magnética Nuclear de Protones y de ^{13}C . Como nosotros no tenemos completamente puro este compuesto,

sugerimos que se continúe este trabajo purificando una muestra comercial de ácido dehidroacético y se haga este estudio espectroscópico y proponemos que los compuestos que tenemos y que hemos identificado como ácido dehidroacético y su isómero (compuesto d_I), tienen las siguientes estructuras:



3 β -ACETIL-6-METIL
2,3-DIHIDROPIRAN
2,4-DIONA



3 α -ACETIL-6-METIL
2,3-DIHIDROPIRAN
2,4-DIONA

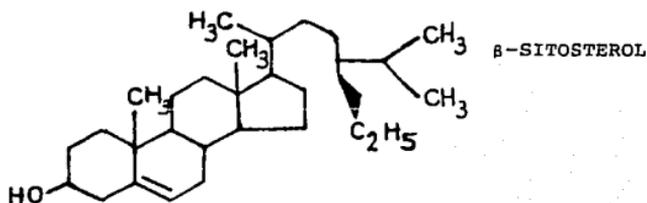
No pudiendo distinguirse con el espectro de masas cuál de ellas corresponde a cada uno.

De la fracción "f" se obtuvo un compuesto cristalino denominado compuesto f de punto de fusión 78°C al cual se le corrió espectro de IR (VIII), y espectro de Masas (Termograma IX, Espectro X, Espectro XI).

El termograma (IX), como puede observarse indica una mezcla de compuestos de la cual se escogieron los compuestos que se evaporaron a 9.259 min. y 14.014 min. después de introducida la muestra.

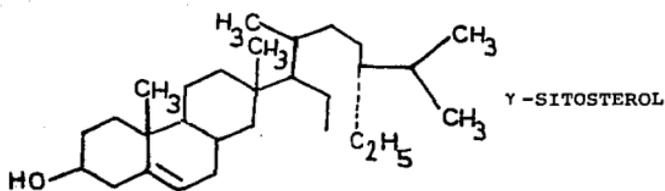
El espectro de IR muestra una banda muy pequeña en 1735 cm^{-1} y que corresponde a un carbonilo que se encuentra como impureza ya que la banda debería ser fuerte y aparece como débil y ancha. Así mismo el trazo del espectro de IR indica que el compuesto no es puro sino que se trata de una mezcla.

Los dos espectros de Masas obtenidos corresponden a dos compuestos isómeros de Peso Molecular 414. En la literatura (18), encontramos que el espectro (X) corresponde al compuesto conocido β -Sitosterol cuyos fragmentos se encuentran reportados también por Djerassi (19).



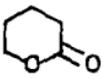
El compuesto que se evaporó en el espectrómetro de masas a los 14.014 min. es un isómero de β -Sitosterol puesto que presenta los mismos fragmentos que él con la única diferencia de las intensidades y esto está reportado en la literatura para estereoisómeros (15).

Este compuesto se identificó como γ -Sitosterol, ya conocido (20), (21).



De la fracción "c" se aisló un compuesto denominado c que presentaba una sola mancha en cromatografía de capa fina. A los cristales blanquesinos de punto de fusión 65°C se le corrió un espectro de IR espectro (XII), en el cual se encontraron las siguientes bandas:

banda cm^{-1}

3350	-OH asociado	banda ancha	
2925(s)	C-H	alifático	
2850(m)	C-C-H		
1735(s)	C-O	de éster o 	lactona de 6 miembros
1455			
1385	CH_3 y/o CH_2	$\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}$	(S)
1260	C-O	(st)	
1080	O-C		
1020	\parallel O	éster o lactona	
795	=C-H	(S)	

Este compuesto puede ser un éster o una lactona y en algún lugar de la molécula debe haber un doble enlace ya que está presente la banda de 795 cm^{-1} que indica

las vibraciones del fuera del plano C-H cuando el C es insaturado debido a un doble enlace. Además desde 1600-1650 se encuentra una banda ancha fusionada a la banda del carbonilo está banda (ω) indica C=C y es la banda (ν).

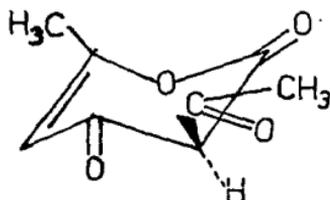
El compuesto c debe aislarse posteriormente y en mayor cantidad para poder completar su espectrometría de RMN y espectrometría de masas para elucidar su estructura.

CONCLUSIONES

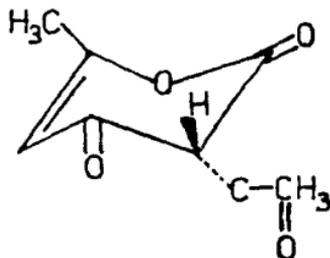
1) La composición química de la parte interna es idéntica a la composición química de la parte externa de las anteras de Solandra nítida.

2) Se confirmó la presencia del ácido dehidroacético en las anteras de Solandra nítida ya que el compuesto h_{III} aislado y el estándar comercial resultaron idénticos, cumpliéndose el objetivo de esta tésis. La identidad de los dos compuestos se efectuó por punto de fusión, cromatografía en capa fina, espectroscopía de IR y espectrometría de Masas.

3) Se aislaron e identificaron los siguientes compuestos:

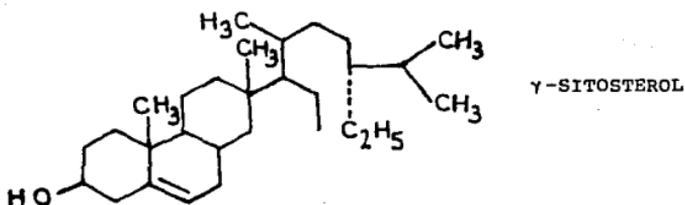
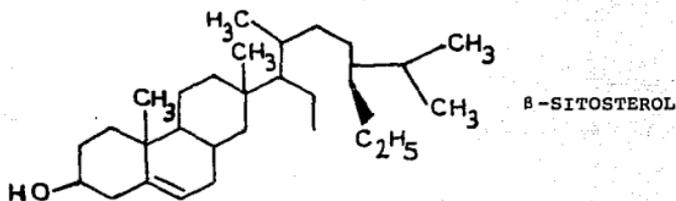


3 β -ACETIL-6-METIL
2,3-DIHIIDROPIRAN-
2,4-DIONA



3 α -ACETIL-6-METIL
2,3-DIHIIDROPIRAN-
2,4-DIONA

Uno de estos isómeros corresponde al ácido dehidroacético conocido, no sabiéndose hasta la fecha qué configuración le corresponde.



Compuesto "c" (Ester o Lactona).

4) Se sugiere que se continué el estudio de la elucidación de la estructura del compuesto "c" por espectroscopía de IR, Resonancia Magnética Nuclear y Espectrometría de Masas para lo cual se necesita repetir el aislamiento en mayor cantidad.

También se sugiere que se haga el estudio del ácido dehidroacético y su isómero por Resonancia Magnética Nu-

clear de Protones y de ^{13}C con el objeto de aclarar cual es la configuración del ácido dehidroacético conocido y efectuar el estudio de la actividad biológica que pudiera tener o no el estereoisómero, el cual se aísla por primera vez.

BIBLIOGRAFIA

1. Albarrán Torres J., Tesis: Derivado de la Dihidrocromona Aislada de la Corola de Solandra nítida, Facultad de Química, UNAM, (1976).
2. Jiménez E. M. E., Tesis: Contribución al Estudio de las Flores Tropicales (Corola de S. nítida), Facultad de Química, UNAM, (1976).
3. García Rojas Y., Tesis: Identificación por Espectrometría de Masas de Compuestos Aislados de la Corola y Pistilos de Solandra nítida, Facultad de Química, UNAM, (1978).
4. Tovar Gutiérrez C., Tesis: Contribución al Estudio de los Estambres de S. nítida, Facultad de Química, UNAM, (1984).
5. Giral F., Reguero M. T., Rivera C., Sacarosa en las Anteras de la Copa de Oro, S. nítida (Solanaceae). Ciencia Mex., XXIX (3-4), 229-230, (1975).
6. González de la Garza L. M., Tesis: Estudio Químico de las Grasas de Corola y Pistilos de S. nítida, Facultad de Química, UNAM, (1984).
7. Rosales Ledezma Carlos, Tesis: Alcaloides Presentes en Raíz de Solandra nítida, Facultad de Química, UNAM, (1981).
8. Rivera C., Piñeiro E. and Giral F., Dehidroacetic Acid in Anthers of Solandra nítida, Experientia, 32/12, 1490, (1976).

9. Avella Martínez L., Tesis: Contribución al Estudio Químico de las Anteras de *S. nítida*, Facultad de Química, UNAM, (1975).
10. Martínez Maximino, Anales del Instituto de Biología, XXXVII, (1966).
11. Holman Richard M., Robbins W., Botánica General, 1a. Ed., Uthea, (1961).
12. Lehninger Albert L., Principios de Bioquímica, Ed. Omega, (1984).
13. Geissman T. H., Crout D. H. G., Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism, Ed. Freeman, Cooper and Company, (1969).
14. Street H. E. and Cockburn W., Plant Metabolism, 2a. Ed. Pergamon Press, (1972).
15. Seibl Joseph, Espectrometría de Masas, Ed. Alhambra, (1973).
16. Pretsch Clerc, Seibl Simon, Strukturaufklärung Organischer Verbindungen, Ed. Springer Verlag, (1981).
17. Shriner Ralph L. and Fuson Reinold, Systematic Identification of Organic Compound, 5a th, Ed., John Wiley, (1964).
18. Cornu A. and Massot R., Compilación of Mass Spectral Data, 2a. Ed. Vol. 1, Ed. Heyden, (1975).
19. Djerassi Carl and Williams H., Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, Ed. Holden Day, (1964).

20. Lounasma A. Mauri, Karjalainen Arto, Acta Chemica Scandinavica, 25, 3441-3450, (1971).
21. Pavanaram S. K., Hofer P., Horst Linde, Helvetica Chemica Acta, Vol. XLVI, 1377, (1963).