

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA



71

ESTUDIO DE LAS SEMILLAS DE
MOMORDICA CHARANTIA
"cundeamor"

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

MARIA ESTHER DE ITA MORALES

México, D. F.

1979



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CLAS TESIS 1979
AGE M.T. 173
PERSONA _____
PROF. _____
S. _____



Presidente Prof.: Ofelia Espejo de Ochoa.
Vocal Prof.: Ma. del Socorro Salas Tavares.
Secretario Prof.: Eugene A. Bratoeff Titoff.
1er. Suplente Prof.: Ma. Teresa Requero Reza de la Macorra.
2o. Suplente Prof.: Cristina Díaz Padilla.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA : Lab. de Quim. Farmacéutica y Prod.
Naturales de la Div. de Estudios de Postgrado de la Facultad de Química.

NOMBRE COMPLETO DEL SUSTENTANTE : María Esther De Ita Morales.

NOMBRE COMPLETO DEL ASESOR : Dr. Eugene A. Bratoeff Titoff.

A MIS PADRES

A tī

Este trabajo fué realizado bajo la
dirección del Dr. Eugene A. Bratoeff
a quien agradezco toda su ayuda.

I N D I C E

- I.- INTRODUCCION.
- II.- GENERALIDADES.
- III.- PARTE TEORICA.
- IV.- PARTE EXPERIMENTAL.
- V.- ESPECTROSCOPIA.
- VI.- CONCLUSIONES.
- VII.- BIBLIOGRAFIA.

INTRODUCCION

INTRODUCCION

Con el fin de encontrar nuevas sustancias de origen natural con posible aplicación en el campo de la medicina, se ha venido desarrollando una investigación sistemática de los componentes químicos de "cundeamor", clasificada como Momordica charantia perteneciente a la familia de las Cucurbitáceas, debido a que en estudios anteriores sobre el fruto de esta especie se han encontrado sustancias de interés farmacológico (1).

Con la posibilidad de encontrar en las semillas de "cundeamor" sustancias igualmente interesantes desde el punto de vista farmacológico, hace que este trabajo sea de particular interés.

Sabiendo de antemano que las semillas están compuestas generalmente por grasas y aceites, existe la posibilidad de que éstas sean aplicadas en perfumería, industria jabonera, etc. Por ello existe -- una doble posibilidad de aplicación en estudio de dichas semillas.

GENERALIDADES

GENERALIDADES

Momordica charantia L. es una planta perteneciente a la familia - de las Cucurbitáceas, conocida también por los nombres comunes de bálsamo , catajera, coccoxihuitl, cundeamor, hierba de la araña, tocaxihuitl y yucahax.

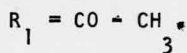
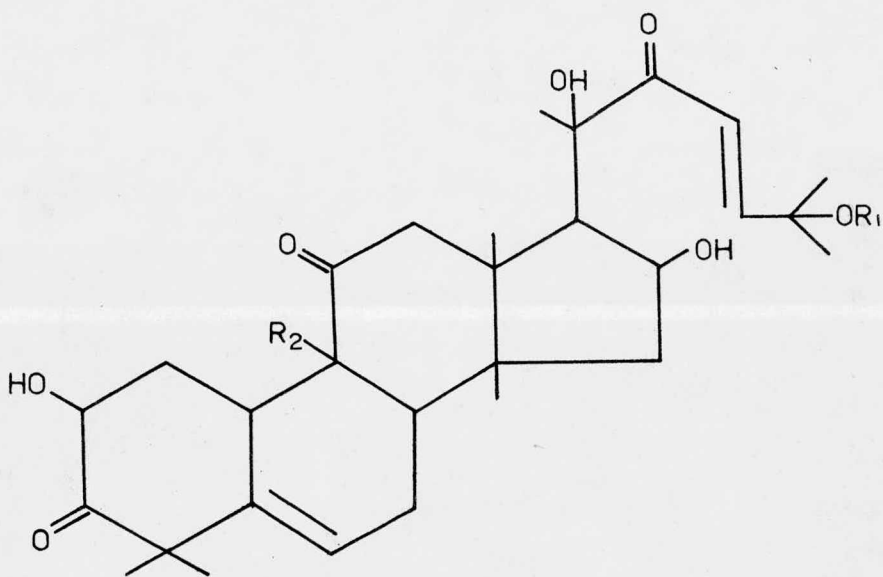
La familia de las Cucurbitáceas pertenece a las Dicotiledóneas -- está formada por 20 géneros diferentes y 64 especies , de éstas últimas -- algunas son amargas y venenosas, otras poseen valor alimenticio para el -- hombre como lo son los pepinos, sandía, melones y calabazas dulces y en -- menor cantidad existen especies con propiedades curativas. En el caso de -- Momordica charantia L, se le han atribuído diversas propiedades tales como afrodisiaco, antiparasitario, astringente, etc, (1).

Una revisión química hecha por Hegnauer (2) en 1957, muestra que los principios amargos y tóxicos presentes en ésta familia son principalmente saponinas y aceites con actividad laxante que se encuentran presentes en las semillas de algunas de las especies de las Cucurbitáceas.

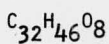
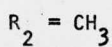
Estos datos y el hecho de que en Sudáfrica se producían algunos- envenenamientos por la ingestión de calabazas dulces y sandías que contenían dichos principios amargos, así como la observación de Belkin y Fitzgerald (3) en 1952 de que el extracto de la raíz de Bryonia y de los frutos de Citrullus colocynthis así como los frutos de Echballium elaterium , todos ellos pertenecientes a la familia de las Cucurbitáceas, tenían la propiedad de necrosar tumores, hicieron que el interés por los principios activos de esta --- familia fuera extraordinario.

Posteriormente se aislaron del fruto de algunas especies de esta familia, 14 principios amargos a los que se les denominó Cucurbitacinas A,B, C,, N ; siendo las mas importantes la Cucurbitacina B y E como -- principios amargos.

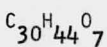
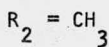
Químicamente las Cucurbitacinas son triterpenos tetracíclicos (4) y se encuentran relacionadas biogenéticamente unas con otras.

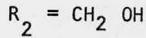


Cucurbitacina B

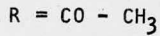
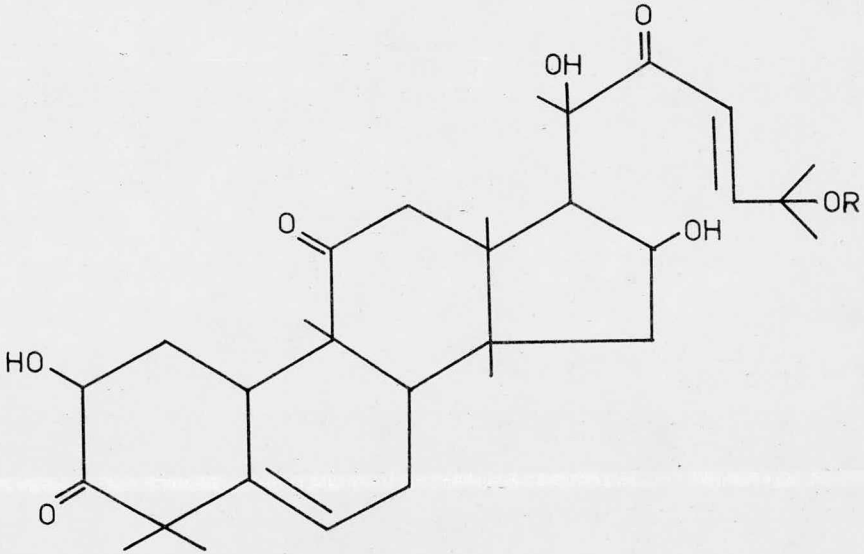
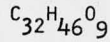


Cucurbitacina D





Cucurbitacina A



Cucurbitacina E $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{O}_8$



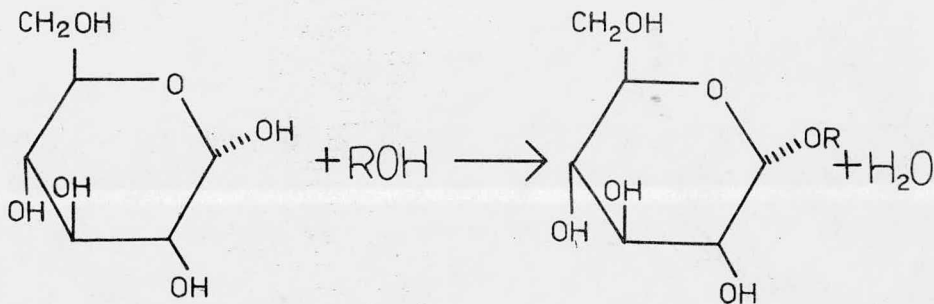
Cucurbitacina I $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_7$

En algunas ocasiones el sabor amargo no proviene de las Cucurbitacinas sino de las saponinas que se encuentran en las plantas. Para el caso de Momordica charantia , Momordica balsámica, Momordica clematidea , Momordica foetida y Raphanocarpus welwitschii , todas pertenecientes a las Cucurbitáceas, se asegura (5) que el principio amargo es diferente de las -

Cucurbitacinas.

Momordica charantia L. contiene principalmente glicósidos a los cuales debe su sabor amargo, aceites y ácidos grasos libres, clorofila, resinas y carbohidratos.

Desde el punto de vista químico, los glicósidos son compuestos derivados de las formas cíclicas de los azúcares, piranosas y furanosas, en las que el hidrógeno del oxhidrilo hemiacetálico del azúcar (carbono No. 1), ha sido reemplazado por grupos alquilo o arilo formando un nuevo enlace de tipo acetal (6).



D-glucosa.

Estos compuestos se conocen también como heterósidos. Estan formados por la fracción no hidrocarbonada (grupos arilo o alquilo) a la que se le llama genina o aglicón y una porción hidrocarbonada a la cual se le llama azúcar ó glicona. El azúcar que con mayor frecuencia forma parte de un glicósido es la glucosa (7), aunque pueden encontrarse todos los azúcares -- naturales conocidos, en mayor o menor proporción. De las hexosas que forman parte de los glicósidos se encuentran la galactosa, manosa, fructosa, cuya

abundancia es relativamente menor. De las pentosas las más comunes son la L-arabinosa y la D-xilosa.

En base a la naturaleza química del grupo aglicón, se ofrece la siguiente clasificación de glicósidos : (A) grupo cardioactivo, (B) grupo de las antraquinonas, (C) grupo de los cianóforos, (D) grupo de los tiocianatos, (E) grupo de los flavonoles, (F) grupo de los alcoholes, (G) grupo de los aldehídos, (H) grupo de las lactonas, (I) grupo de los fenoles y --- (J) grupo de las saponinas. Este último con valor económico y farmacológico.

El término saponinas, (sapon-jabón), se aplica a dos grupos de -- glicósidos que forman soluciones acuosas coloidales, tienen la propiedad de ser detergentes pues abaten la tensión superficial y forman espuma cuando - la solución se agita vigorosamente , razón por la cual son venenos eficaces para animales de sangre fría (peces y ranas) ya que hemolizan los glóbulos rojos.

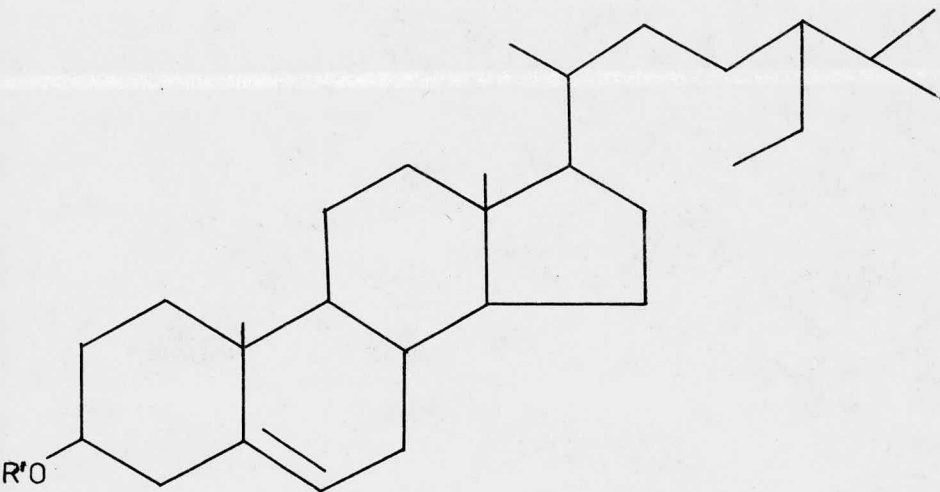
Un grupo de estos glicósidos contiene una aglicón de tipo esteroide de que son los derivados del ciclopentano-perhidrofenantreno. A éstos pertenecen el aglicón de los glicósidos cardiotónicos como la digitalina.

El otro grupo lo constituyen glicósidos que contienen un aglicón-triterpenoide con 30 átomos de carbono en su molécula y son los que se --- encuentran en la familia de las Cucurbitáceas (8) , motivo de nuestra -- atención.

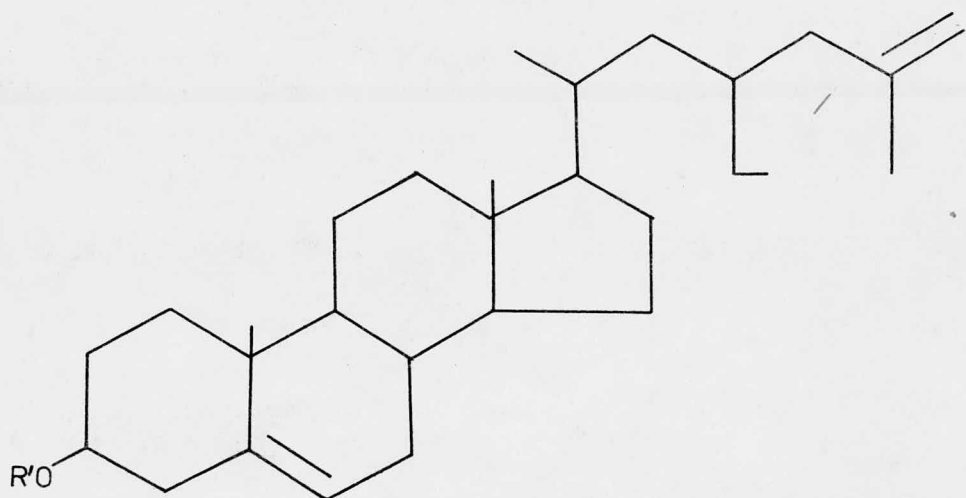
En estudios sobre el extracto metanólico del fruto de Momordica-charantia, Lotlikar y Rao (9) aislaron un compuesto cristalino blanco -- al que llamaron " Charantina " con un punto de fusión de $266-268^{\circ} \text{C}$.

Este compuesto mostró una marcada actividad hipoglucemiante al ser administrada a conejos por vía oral en una dosis de 20 - 30 mg por animal - y por vía intravenosa a una dosis de 6 - 12 mg por animal.

W. Sucrow (10) identificó a la charantina como una mezcla de dos glicósidos cromatográficamente homogéneos ; los β -D-glicósidos de -- β -sitosterol (1) y de Δ^5 -stigmastadien - 3 β -ol.



(1) $\overset{1}{\text{R}} = \beta$ - D - glicósido



(II) $R' = \beta - D - \text{glicósido.}$

Contrariamente a lo que encontraron Lotlikar y Rao , la mezcla de estos $\beta - D - \text{glicósidos}$ no mostraron tener actividad hipoglucemiante al ser administrada a conejos en las mismas condiciones que fué administrada la charantina .

De la misma mezcla de $\beta - D - \text{glicósidos}$ se prepararon diversos derivados como el tetrabenzoato, tetrametil éter y el tetracetato obteniéndose el mismo resultado en cuanto actividad hipoglucemiante que los $\beta - D - \text{glicósidos}$ por separado.

Con respecto a las semillas de las especies de esta familia , --- Chisholm y C.Y. Hopkins (11) informan que contienen principalmente dos -
*
grupos distintos de aceites . Un grupo contiene la composición ordinaria de ácidos palmítico, oleico y linoleico y otro grupo que contiene una mayor cantidad de ácidos triénicos conjugados . El primer grupo está constituido por cucurbitas comunes como Cucumis dipsances , Cucumis melo, Cucurbita -- ficifolia , Lagenaria sicerania , Luffa cylindrica y Telfaria pedata y el segundo por las especies Momordica, Telfaria y Trichosanthes .

En la tabla No. 1 se muestran los análisis de los aceites obtenidos para Echballium elaterium , Momordica charantia y Trichosanthes anguina, así como el de las otras cucurbitas comunes. Los altos índices de refracción para los tres primeros indican la insaturación conjugada,

* Se reserva el nombre de grasas para los triglicéridos naturales sólidos o líquidos . El término grasa usualmente se refiere al estado sólido mientras que aceite generalmente se aplica al estado líquido .

Además de los triglicéridos, las grasas naturales contienen ciertos constituyentes no glicéridos que son materia insaponificable. La porción insaponificable de las grasas naturales está constituida por esteroles , - hidrocarburos, tocoferoles y otra clase de material que no ha sido identi-- ficado. El contenido de esta materia insaponificable en la mayoría de las -- grasas naturales es normalmente de 0.5% a 2.6% .

T A B L A No. 1

ESPECIES	ACEITE EN SEMILLAS	INDICE DE REFRACCION	INDICE DE YODO
<i>Echballium elaterium</i>	33.3 %	1.4880	
<i>Momordica charantia</i>	25.45 %	1.4990	
<i>Trichosanthes anguina</i>	29.1 %	1.4979	
<i>Cucumis dipsances</i>	28.8 %	1.4742	139.0
<i>Cucumis melo</i>	29.8 %	1.4748	132.6
<i>Cucurbita ficifolia</i>	32.9 %	1.7422	121.8
<i>Lagenaria sicerania</i>	26.8 %	1.4741	134.3
<i>Luffa cylindrica</i>	20.1 %	1.4730	126.6
<i>Telfaria pedata</i>	38.8	1.4671	83.2

Se ha observado que de manera muy especial la composición de ácidos grasos para Momordica charantia (12) depende de la localización geográfica, así como de la etapa de crecimiento en que se colecta la planta. Así, - Mary J. Chisholm y C.Y. Hopkins (11) informan que el componente principal de las semillas de " cundeamor " es el ácido α -eleosteárico ; Airan y Shah (13) informan que el aceite está constituido por ácido esteárico y oleico ; Verma y Aggarwal (14) informan que la composición es ácido --- α -eleosteárico, ácido linoléico, ácido oleico y esteárico.

PARTE TEORICA

PARTE TEORICA

La planta que se utilizó en la elaboración de este trabajo se --
colectó en los alrededores de Villahermosa Tabasco.

Del extracto hexánico de las semillas de Momordica charantia, se
obtuvo una grasa de color amarillo claro con un punto de fusión de 35-37 °C,
este producto mostró una sola mancha al correrse por cromatografía en capa
fina en distintos eluyentes. A este producto se le denominó A-1.

El espectro de Ultravioleta (espectro # 1) de A-1 presenta una --
 λ máx = 222 nm .

El espectro de Infrarrojo (espectro # 2) muestra dos bandas, una
en 2910 cm^{-1} y otra en 2850 cm^{-1} correspondientes a metilos y metilenos, --
en la región de los carbonilos, el compuesto muestra una banda fuerte a ---
1730 cm^{-1} que es típica para el carbonilo de un éster, muestra también una
banda fuerte en 1150 cm^{-1} que indica la unión carbono-oxígeno del éster.

En el espectro de RMN (espectro # 3), aparece un multiplete a --
0.9 ppm que indica la presencia de metilos y metilenos; el multiplete en
1.5 ppm indica la presencia de metilos; en 2.2 ppm se observa una señal ---
ancha correspondiente a los hidrógenos del metileno del éster α al carbo-
nilo; en 5.3 ppm se observa una señal ancha que desaparece con D_2O , esta --
señal indica la presencia de un oxhidrilo, la señal ancha a 4.2 ppm se ---
puede asignar a los protones de la base del éster .

El compuesto A-1 por saponificación con potasa alcohólica dió una

fracción insaponificable que mostró ser muy semejante a β -sitosterol por cromatografía en capa fina y los ácidos grasos libres. Los ácidos grasos libres muestran en el espectro de Infrarrojo (espectro #4) una banda en 2930 cm^{-1} y otra en 2840 cm^{-1} indicando nuevamente la presencia de metilos y metilenos; una banda fuerte en 1710 cm^{-1} la cual corresponde al carbonilo del ácido, la banda débil que aparece en 3350 cm^{-1} corresponde al oxhidrilo. El espectro de RMN de los ácidos grasos libres (espectro #5) muestra las mismas señales múltiples a 0.9 ppm y 1.3 ppm correspondientes a los hidrógenos de los metilos y metilenos, la señal que aparece en 2.2 ppm corresponde a los hidrógenos del metileno α al carbonilo del ácido; la señal ancha a 6.4 ppm y que desaparece con D_2O indica la presencia del grupo oxhidrilo.

Cuando A-1 se trató con potasa en metanol evitando todo rastro de humedad durante el transcurso de la reacción, se obtuvieron los ésteres metílicos de los correspondientes ácidos grasos.

En el espectro de Infrarrojo de los ésteres metílicos de A-1 (espectro # 6) desaparece la banda ancha en la región de 3350 cm^{-1} correspondiente al oxhidrilo; en la región de carbonilos, en 1730 cm^{-1} se observa una banda correspondiente al carbonilo del éster, aparecen también las bandas correspondientes a metilos y metilenos en 2900 cm^{-1} , 2830 cm^{-1} y 1460 cm^{-1} . Una banda ancha en 1110 cm^{-1} correspondiente a la unión carbón-oxígeno del éster.

El espectro de RMN de los ésteres metílicos (espectro #7) muestra a 0.9 ppm y 1.3 ppm las señales múltiples correspondientes a metilos y metilenos, en 2.2 ppm aparece una señal compleja que corresponde a los hidrógenos de un metileno α al carbonilo. Un singlete nuevo aparece en 3.7 ppm comprueba la metilación pues esta señal corresponde a los hidrógenos del --

metoxilo.

La cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de A-1 ----
(cromatograma No. 1) muestra la siguiente composición de ácidos grasos:

ácido palmítico	4.66%
ácido esteárico	95.34%

De otro lote de semillas de Momordica charantia obtenidas del --
Estado de Tabasco, (la región no se conoce con certeza), cuando las semillas
se extrajeron con hexano, al evaporar el disolvente, se obtuvo un aceite -
amarillo claro que tiende a polimerizar . A este aceite se le denominó A-2.

A-2 muestra al igual que A-1 en el espectro de Ultravioleta ---
(espectro # 8) una λ máx = 222 nm,

En el espectro de Infrarrojo (espectro #9), aparecen dos bandas, una
-1 -1
en 2910 cm y otra en 2840 cm correspondientes a metilos y metilenos , -
en la región de los carbonilos, aparece nuevamente una banda fuerte en 1730
-1 -1
cm correspondiente al carbonilo del éster; dos bandas, una en 1380 cm y
-1
otra en 1450 cm verificando nuevamente la presencia de metilos y metile--
nos.

En el espectro de RMN (espectro # 10) A-2 muestra también un mul-
tipleto a 0.9 ppm correspondiente a los dos hidrógenos de un metileno, el -
singulete a 1.5 ppm corresponde a metilos y metilenos, en 2.4 ppm aparece -
una señal compleja correspondiente a los hidrógenos del metileno del éster,
la señal débil que aparece a 6.0 ppm y que desaparece con D₂O corresponde
al hidrógeno de un oxhídrido y la señal ancha que aparece a 4.3 ppm a los -
protones de la base del éster.

Cuando A-2 fué saponificado con potasa alcohólica en condiciones --
anhidras al igual que A-1, se obtuvieron únicamente los ácidos grasos libres.

Estos muestran en su espectro de Infrarrojo (espectro # 11) dos -
bandas, una en 2910 cm^{-1} y otra en 2840 cm^{-1} correspondientes a metilos y
metilenos; a 1710 cm^{-1} aparece una banda correspondiente al carbonilo del
ácido. Al igual que A-1, A-2 muestra una banda ancha y débil correspondiente
al oxhidrilo.

El espectro de RMN de A-2 (espectro # 12) resultó ser igual que -
el espectro #5 correspondiente a los ácidos grasos libres de A-1.

Cuando A-2 fué transesterificado, se obtuvieron los ésteres metí-
licos de los correspondientes ácidos grasos. Su espectro de Infrarrojo , --
(espectro # 13) muestra una banda débil en 3450 cm^{-1} indicando que una ---
pequeña parte de los ácidos grasos no se metilaron ; en 1730 cm^{-1} aparece
también una banda en 2910 cm^{-1} y otra en 2830 cm^{-1} correspondientes a metii
los y metilenos.

El espectro de RMN (espectro # 14) muestra un singulete a 3.7 ppm
correspondiente al metoxilo del éster, el multiplete que aparece a 0.9 ppm -
así como el de 1.3 ppm corresponden a metilos y metilenos, el multiplete en
2.2 ppm corresponde a los hidrógenos del metileno α al carbonilo. En 5.8 ppm
aparece una señal débil que desaparece con D_2O , esta señal indica la presencia
de oxhidrilo, indicando así que existen trazas de compuesto sin metilar.

La cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de A-2 ---
(cromatograma No. 2) muestra la siguiente composición de ácidos grasos :

ácido esteárico	82.0%
ácido palmítico	17.71%
ácido oleico	0.95%
ácido linoleico	2.21%
ácido linolénico	0.9%

De los resultados obtenidos al analizar los dos aceites por --- cromatografía gas-líquido, se puede observar que la composición de ácidos - grasos en las semillas de Momordica charantia depende de la localización - geográfica donde es colectada la planta. Estos datos concuerdan con los re- portados en la literatura, (14) .

Del extracto metanólico de las semillas de Momordica charantia - mediante cromatografía en columna sobre fluorisil del extracto, al evapo- rar el disolvente, se obtuvo un compuesto cristalino blanco al que se le - denominó A-3 . A-3 presenta un punto de fusión de $285^{\circ} - 290^{\circ} \text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}} = -43^{\circ}$ (THF).

El espectro de Infrarrojo de A-3 (espectro # 15) muestra una ban- da en 3420 cm^{-1} correspondiente a un oxhidrilo, las bandas en 1630 cm^{-1} y 2850 cm^{-1} indican la presencia de metilos y metilenos .

Este compuesto, A-3, mostró una reacción positiva para la prueba de Lieberman y Burchard así como a la prueba de antrona indicando la pre- sencia del esqueleto esteroidal .

El espectro de RMN de A-3 (espectro # 16) muestra en campo alto dos singuletes , uno en 0.75 ppm y otro en 1.2 ppm indicando la presencia - de los dos metilos angulares en C-18 y C-19 respectivamente. El espectro - muestra también un doblete a 2.5 ppm (2H) que indica la presencia de los

dos protones alílicos en C₇. La señal múltiple entre 4.1 ppm y 4.9 ppm es característica para los protones de la molécula del azúcar y la señal en 5.7 ppm corresponde al protón vinílico en C₆ y el protón anomérico del azúcar.

Cuando el compuesto A-3 se trató con anhídrido acético y piridina, se obtuvo el tetracetato de A-3, $pf = 165^{\circ}C$, $[\alpha]_D^{20} = -29^{\circ}$. El punto de fusión de este producto resultó ser igual al reportado por -- Sucrow y además no mostró depresión del punto de fusión con una muestra auténtica aislada por el mismo Sucrow.

Cuando A-3 fue tratado con cloruro de benzoílo y piridina, se formó el tetrabenzoato, $pf = 190^{\circ}-192^{\circ}C$, $[\alpha]_D^{20} = 10^{\circ}$, nuevamente, este derivado resultó ser idéntico al compuesto reportado por Sucrow.

A-3 por hidrólisis con ácido clorhídrico en metanol dio el aglicón, el cual resultó ser idéntico a una muestra original de ----
 β -sitosterol y el azúcar resultante de la hidrólisis se identificó mediante cromatografía en capa fina como glucosa.

Estos datos y la presencia de los dos metilenos angulares que presenta A-3 en su espectro de RMN nos hacen suponer que A-3 es un --
 β -D-glicósido de β -sitosterol aislado por primera vez de las semillas de Momordica charantia.

PARTE EXPERIMENTAL

PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión fueron determinados en la Div. de Estudios Superiores de la Fac. de Química en un aparato Fisher-Johns.

Los espectros de Ultravioleta se hicieron en la Div. de Estudios Sup. en el Depto. de Química Analítica, en un aparato Perkin Elmer 337 en las condiciones que cada espectro indica.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear se determinaron en la misma División en un espectrofotómetro de RMN modelo Varian E-360 a 60 MHz, los valores se indican en ppm usando Tetrametilsilano (TMS) como estándar interno.

Los datos de Cromatografía de Gases se obtuvieron del Depto. de Química Analítica de la Div. de Estudios Sup. de esta Facultad usando un Cromatógrafo de Gases marca Varian Aerograph modelo 210B en las siguientes condiciones :

Columna de acero inoxidable de 8 ft, 1/8 de pulgada, empacada con 20% de DEGS Cromosorb W-AW de 80/100 mallas.

Temperatura del Horno	190°C
Temperatura del Detector	200°C
Temperatura del Inyector	200°C
Flujo de Nitrógeno	30 ml/ min
Flujo de Hidrógeno	28 ml/ min
Flujo de Aire	30 ml/ min
Velocidad de la Carta	0.1 in/ min

Las rotaciones específicas se obtuvieron igualmente en la Div. de Estudios Sup, de esta misma Facultad.

EXTRACCION DE SEMILLAS :

500 g de semillas molidas se extrajeron en continuo en un soxhlet con hexano durante 24 horas y posteriormente con metanol durante 20 horas. El extracto hexánico se secó con sulfato de sodio y evaporó obteniéndose - 30 g (6.2 %) de un polvo ligeramente amarillo, $pf = 35-37^{\circ}C$. UV. $\lambda_{m\acute{a}x} = 222nm$
IR : banda ancha 3350 cm^{-1} (OH) ; 2900 y 2850 cm^{-1} ($-CH_3$ y $-CH_2$) ; 1730 cm^{-1} (C=O de éster) ; 1380 cm^{-1} ($-CH_3$) .

Dado que este compuesto mostró un bajo punto de fusión y un grupo carbonilo para un éster, se sospechó que se tratara de una grasa , por lo tanto se procedió a determinar sus índices de yodo, saponificación y acidez siguiendo las técnicas descritas por Jenkins y Mehelenbacher (15) y se obtuvieron los siguientes resultados :

Índice de Yodo	28
Índice de Saponificación	297
Índice de Acidez	83.4

SAPONIFICACION DE LA GRASA :

500 mg de producto se saponificaron con 30 ml de potasa alcohólica (500 mg de hidróxido de potasio en 30 ml de etanol de 96°), la mezcla se colocó en un matraz equipado con un condensador de reflujo y se calentó --- durante tres horas. Se evaporó a sequedad el etanol y se extrajo varias --- veces con éter de petróleo obteniéndose 164.1 mg (32.8 %) de fracción in-

saponificable al evaporar el éter de petróleo. A la fracción básica se le agregó ácido clorhídrico hasta pH 3 y se extrajo tres veces con acetato de etilo (25 ml cada extracción), al eliminar el disolvente por evaporación, se obtuvieron 321.8 mg (64%) de ácidos grasos libres.

La constitución de la fracción insaponificable no se pudo determinar por Cromatografía de Gases por falta de estándares de referencia, sin embargo, se sospecha que se trate de un fitosterol dado que en cromatografía en capa fina muestra un R_f muy cercano a β -sitosterol.

DETERMINACION DE ACIDOS GRASOS. TRANSESTERIFICACION :

Se metilaron 500 mg de grasa, la transesterificación consiste en la formación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos con potasa y metanol en condiciones estrictamente anhidras.

Los 500 mg de grasa se colocaron en 50 ml de una solución 0.2N de KOH (570 mg/ 50 ml) en metanol R.A., la mezcla se calentó a reflujo hasta que ésta fue homogénea, aproximadamente 3 horas, la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y posteriormente se adicionó a un volumen igual de agua fría formándose una solución opalescente la cual se extrajo tres veces con éter etílico (50 ml cada extracción), las porciones etéreas se reunieron y lavaron con agua destilada hasta pH neutro. El extracto etéreo se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad obteniendo se 27.7 mg (5.5 %) de ésteres metílicos puros.

De otro lote de semillas extraídas de la misma manera, al evaporar el hexano se obtuvo un aceite amarillo-claro que tiende a polimerizar, la cantidad que se obtuvo de este compuesto fueron 78.76 g (15.75 %).

UV: λ máx = 222 nm , IR: banda ancha en 3425 cm^{-1} (OH); 2900 y 2850 cm^{-1} ($-\text{CH}_2-$ y $-\text{CH}_3$) ; 1725 cm^{-1} (C=O de éster), 1380 cm^{-1} ($-\text{CH}_3$).

A este aceite se le determinaron los índices de yodo, acidez y saponificación al igual que la grasa anterior siguiendo las mismas técnicas de Jenkins y Mehelenbacher obteniéndose los siguientes resultados :

Indice de saponificación	284.7
Indice de acidez	81.5
Indice de yodo	32

SAPONIFICACION DEL ACEITE :

500 mg del aceite (A-2) fueron saponificados en las mismas condiciones que A-1 y no se obtuvo fracción insaponificable . El tratamiento de la fracción básica con HCl hasta pH 3 y extracción con acetato de etilo, dió un 99.8 % (499 mg) de ácidos grasos libres .

DETERMINACION DE ACIDOS GRASOS : METILACION :

1 g de aceite fue metilado colocándolo en 50 ml de una solución 0.2 N de KOH (570 mg en 50 ml de metanol R.A.) , la mezcla se sometió a --reflujo por 14 horas, hasta que la mezcla de reacción fue homogénea, se --dejó enfriar a temperatura ambiente adicionándose posteriormente un volumen igual de agua fría, cuando se formó una solución opalescente se extrajo tres veces con éter etílico (50 ml cada extracción), estas fracciones se reunieron y se lavaron con agua destilada hasta pH neutro, el extracto etéreo --

se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad obteniéndose - 150 mg (15.0 %) de ésteres metílicos puros.

OBTENCION DEL GLICOSIDO :

El extracto metanólico fue secado con sulfato de sodio anhidro y evaporado a sequedad, para su purificación, el extracto evaporado se sometió a cromatografía en columna sobre fluorisil y se eluyeron fracciones con -- metanol. Todas las fracciones fueron controladas por cromatografía en capa fina obteniéndose finalmente 150₀mg (0.03 %) de un compuesto cristalino - blanco pf = 285-290 °C $[\alpha]_D^{20} = - 43^{\circ}$.

A este compuesto se le hicieron las pruebas para esqueletos esteroïdales siguiendo las técnicas descritas por Burchard, Lieberman y Salkowski (16) , todas resultaron ser positivas para el compuesto cristalino al que se le denominó A-3.

IR : banda ancha $\overset{-1}{3420}$ cm (OH) , $\overset{-1}{1630}$ cm y $\overset{-1}{850}$ cm doble ligadura , $\overset{-1}{2910}$ cm y $\overset{-1}{2850}$ cm metilos y metilenos.

ACETILACION DEL GLICOSIDO :

200 mg de glicósido se acetilaron con 2 ml de anhídrido acético y 2 ml de piridina anhidra durante 48 horas a temperatura ambiente, después de este tiempo se agregó agua para destruir el exceso de anhídrido acético y se extrajo con cloroformo 5 veces . La capa clorofórmica se lavó 3 veces con ácido clorhídrico al 8% para eliminar la piridina, formando el cloruro de piridinio y posteriormente se lavó con bicarbonato de sodio y finalmente - con agua. El producto obtenido se secó con sulfato de sodio anhidro y la -- evaporación de la fase clorofórmica dió 30 mg (15 %) del acetato correspon-



diente. $pf = 165^{\circ}C$, $[\alpha]_D^{20} = -29^{\circ}$, idéntico al producto reportado por Sucrow (10).

BENZOILACION DEL GLICOSIDO

200 mg de glicósido se benzoilaron con 2 ml de cloruro de benzoilo y 2 ml de piridina anhidra y se dejó reposar durante toda la noche. Posteriormente se calentó por una hora en baño maría la mezcla de reacción y se trató exactamente de la misma manera que el acetato. La evaporación de la fase clorofórmica dió 30 mg (15 %) de un compuesto cristalino con un punto de fusión de $190-192^{\circ}C$, $[\alpha]_D^{20} = +10$ idéntico al producto reportado por Sucrow.

HIDROLISIS DEL GLICOSIDO :

200 mg de glicósido se colocaron en un aparato de reflujo con una mezcla de 40 ml de dioxano y 20 ml de ácido sulfúrico al 36 %, la mezcla de reacción se reflujo por dos horas. Al final de la reacción, el ácido sulfúrico se neutralizó con una solución acuosa de bicarbonato de sodio y el dioxano se eliminó por destilación. El residuo se extrajo 5 veces con cloroformo, la fracción clorofórmica se lavó nuevamente con solución acuosa de bicarbonato de sodio. La eliminación del disolvente dió 40 mg de un compuesto cristalino con un $pf = 132^{\circ}C$. Este compuesto resultó ser completamente idéntico a una muestra auténtica de β -sitosterol.

La correspondiente fase acuosa de la hidrólisis dió una prueba positiva para la reacción de Molisch (17), indicando así la presencia de carbohidratos, los cuales fueron identificados de la siguiente manera :

Se prepararon placas de cromatografía usando como adsorbente sílica gel en una solución de ácido bórico 0.02 M , las placas se dejaron --- activar por dos horas en la estufa a 120^oC .

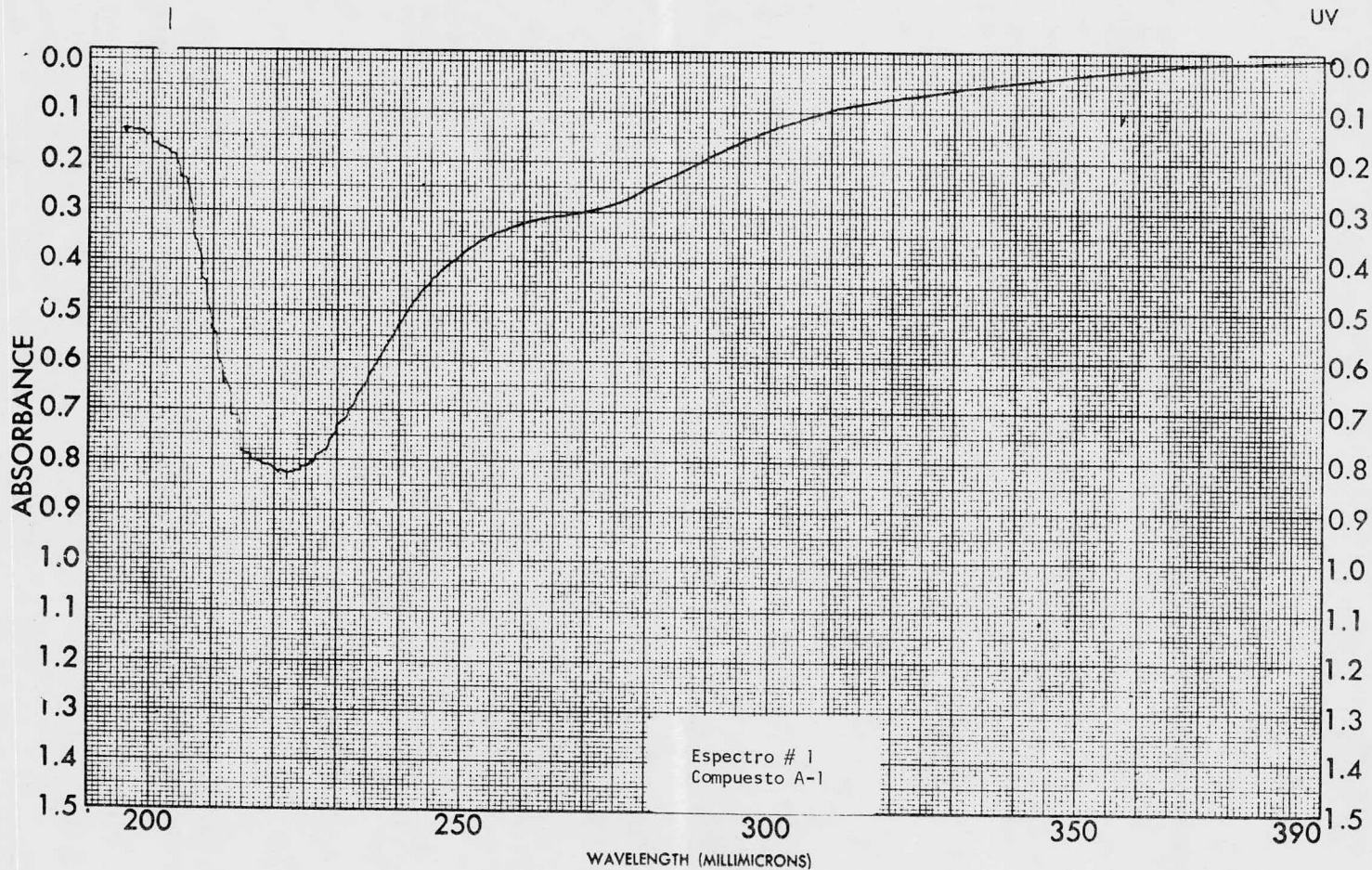
Se aplicaron 20 microlitros de las soluciones de estándares y muestra en una concentración de 0.1 mg/ml disueltas en piridina . Los estándares de referencia empleados fueron : D-glucosa, Xilosa, Ramnosa, Galactosa Fructosa; Manosa y Arabinosa .

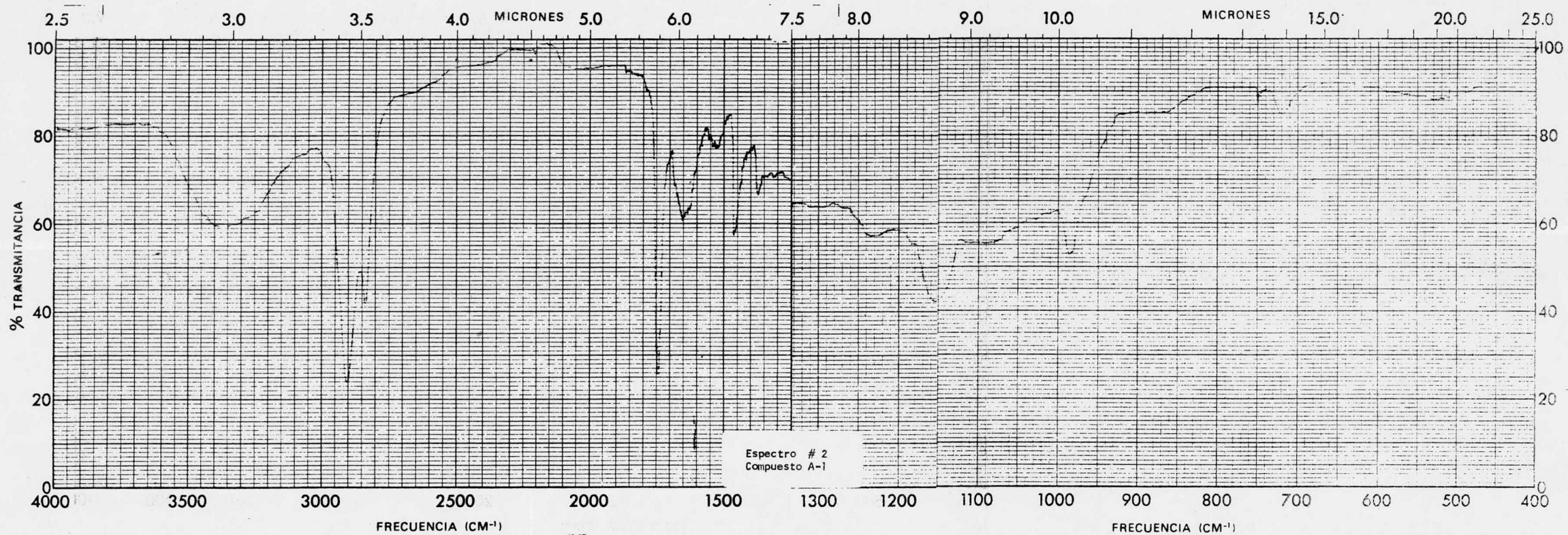
El medio eluyente en el que se desarrollaron las placas fué :

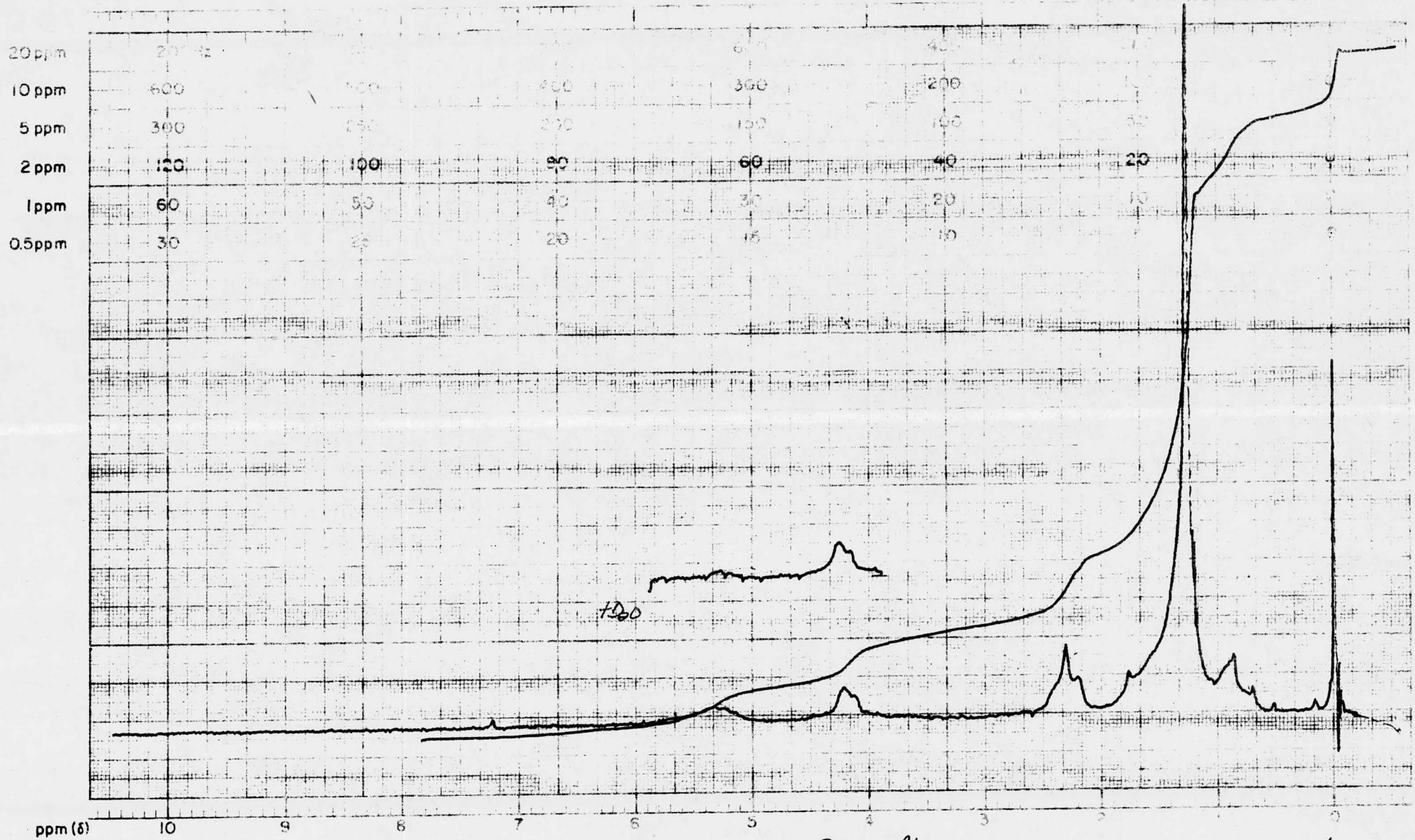
acetato de etilo	26 %
agua	7 %
isopropanol	14 %

Las placas se observaron primero con luz ultravioleta onda corta, y posteriormente se revelaron con anisaldehído . El Rf de la muestra problema resultó ser idéntico al Rf de el estándar D-glucosa.

ESPECTROSCOPIA







AMPLITUD 380

TIEMPO DE BARRIDO 5

MUESTRA: *Estér de Sta*

OBSERVACIONES

OPERADOR *Stina*

FILTRO 0.02 seg

REAR 10

Espectro # 3
Compuesto A-1

FECHA 4/IV/78

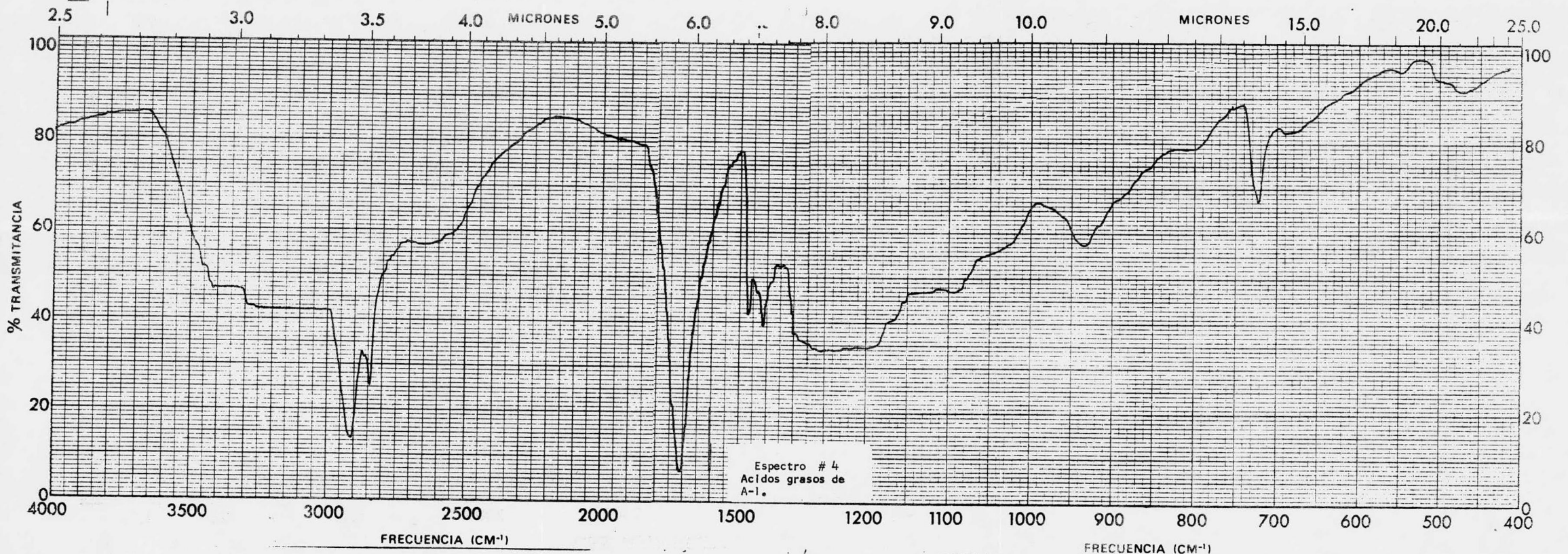
SPECTRAL NO 5297

RF 0.05

—

DCl_3

SECUENCIA *Estér de Sta*





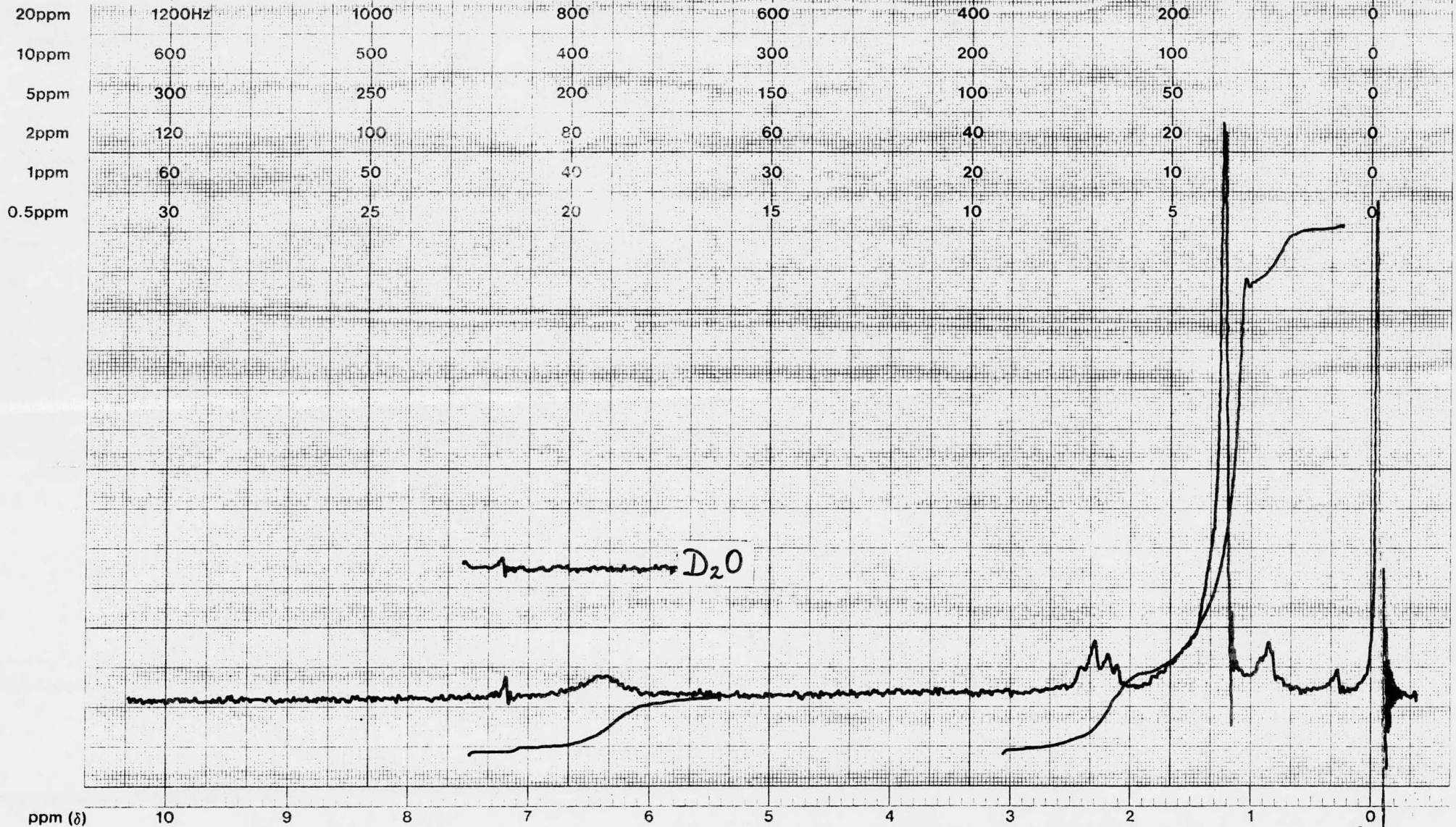
varian instruments

palo alto, california

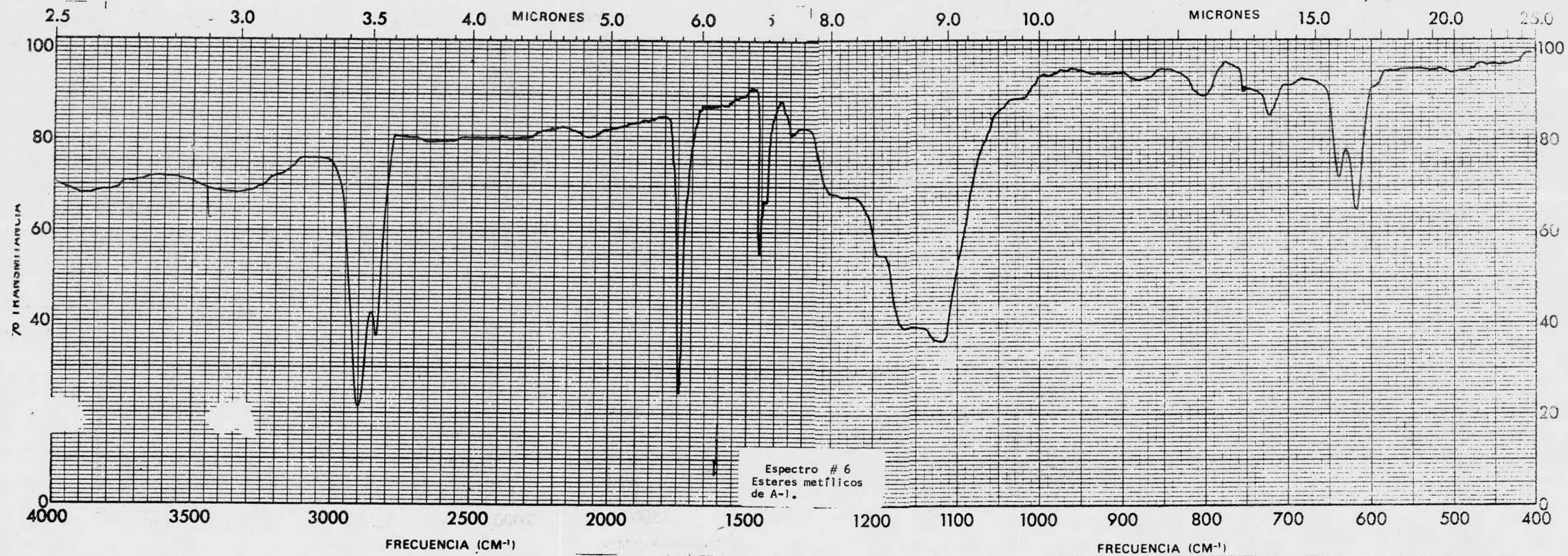
START OF SWEEP



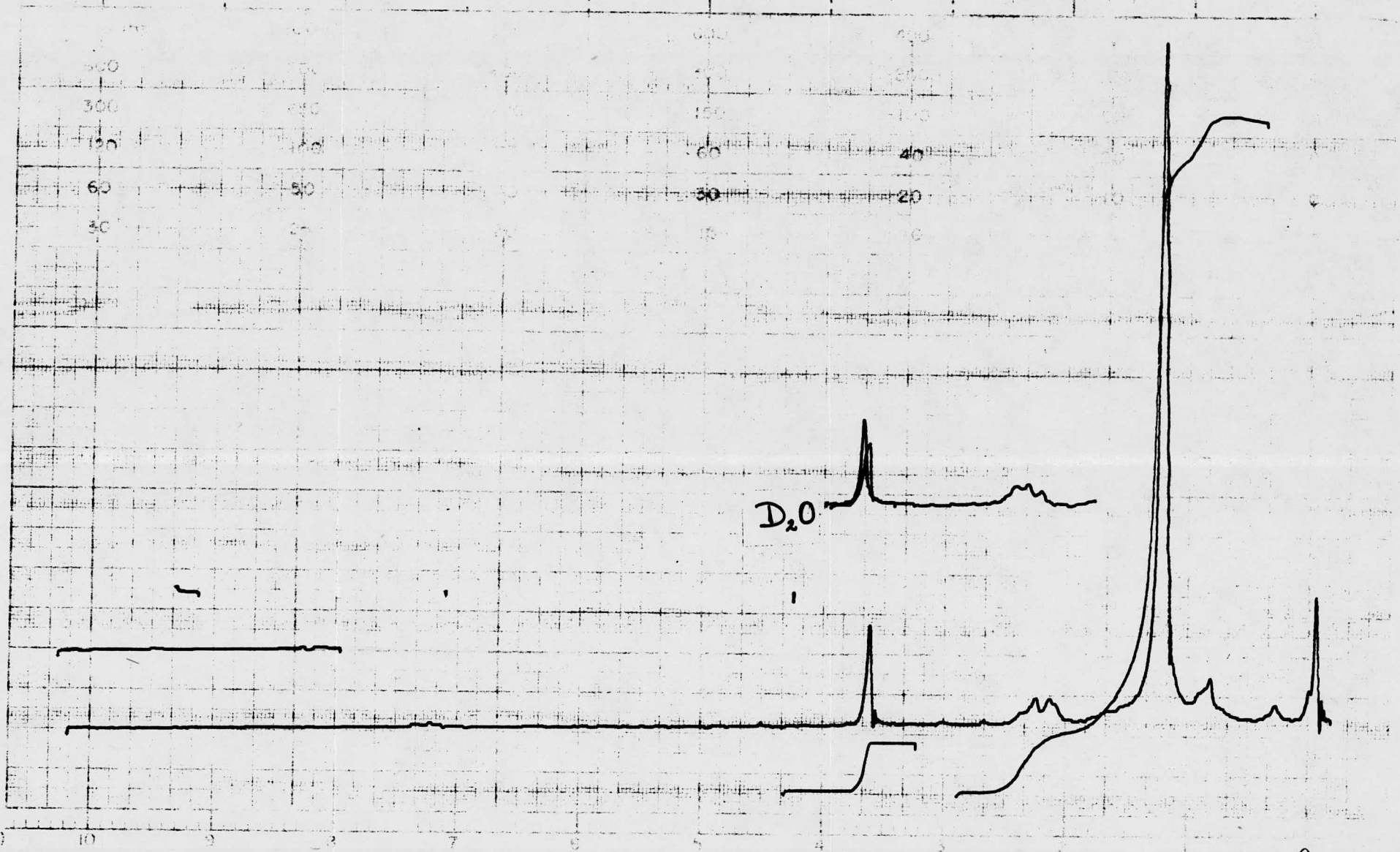
END OF SWEEP



SPECTRUM AMPL. 250 SWEEP TIME 5 min SAMPLE: Ester de Bratoef REMARKS: Espectro # 5 OPERATOR Paul S.
 FILTER .05 sec SWEEP WIDTH 10 ppm or Hz SOLVENT: CDCl₃ DATE 21/01/78
 RF POWER .05 mG END OF SWEEP 0 ppm or Hz SPECTRUM NO. 5560



15.0 ppm
10 ppm
5 ppm
2 ppm
1 ppm
0.5 ppm



AMPLITUD 150

FILTRO .05

REF. .05

TIEMPO DE EXCITACION 2

60

0

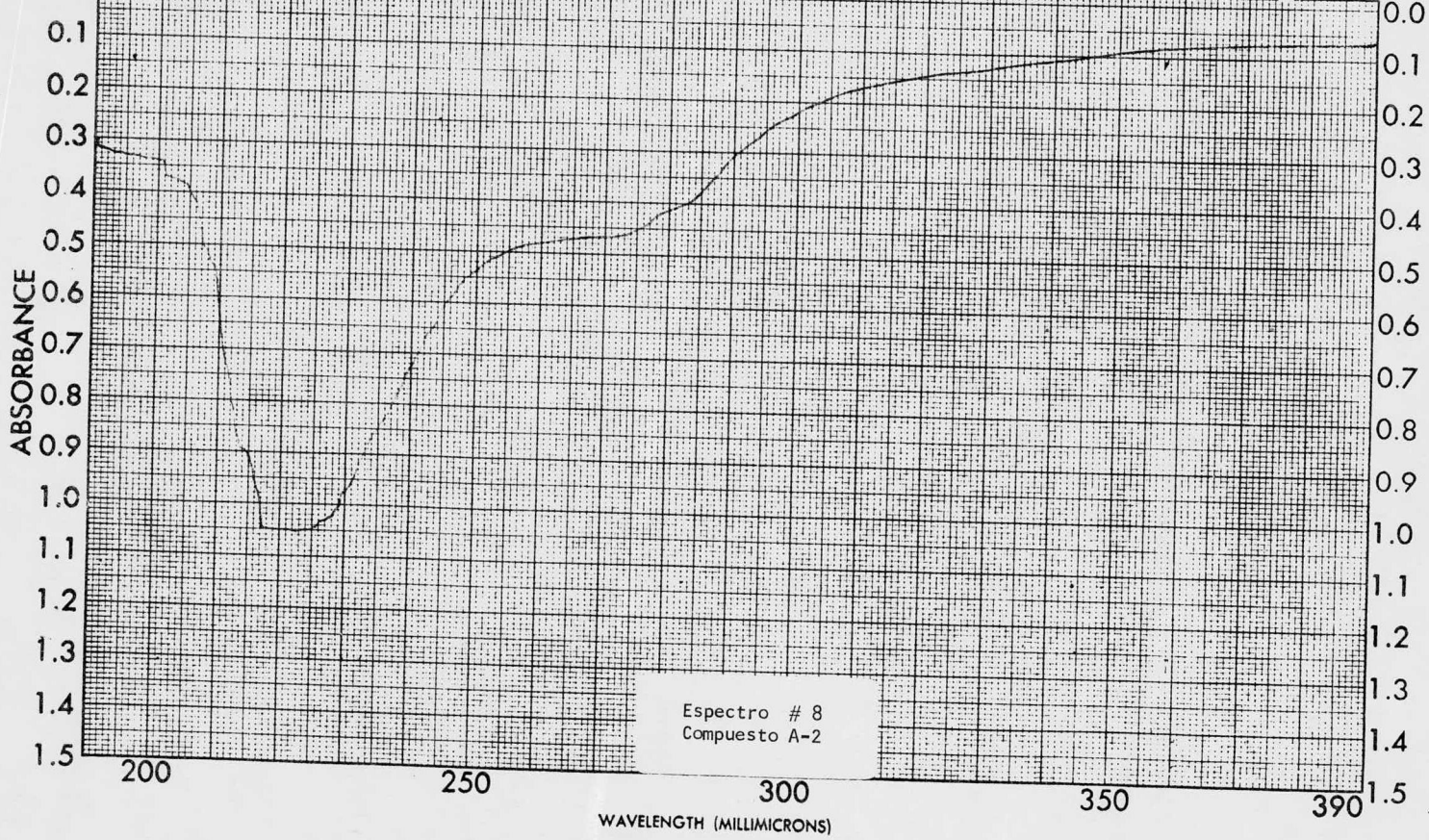
Ester de la

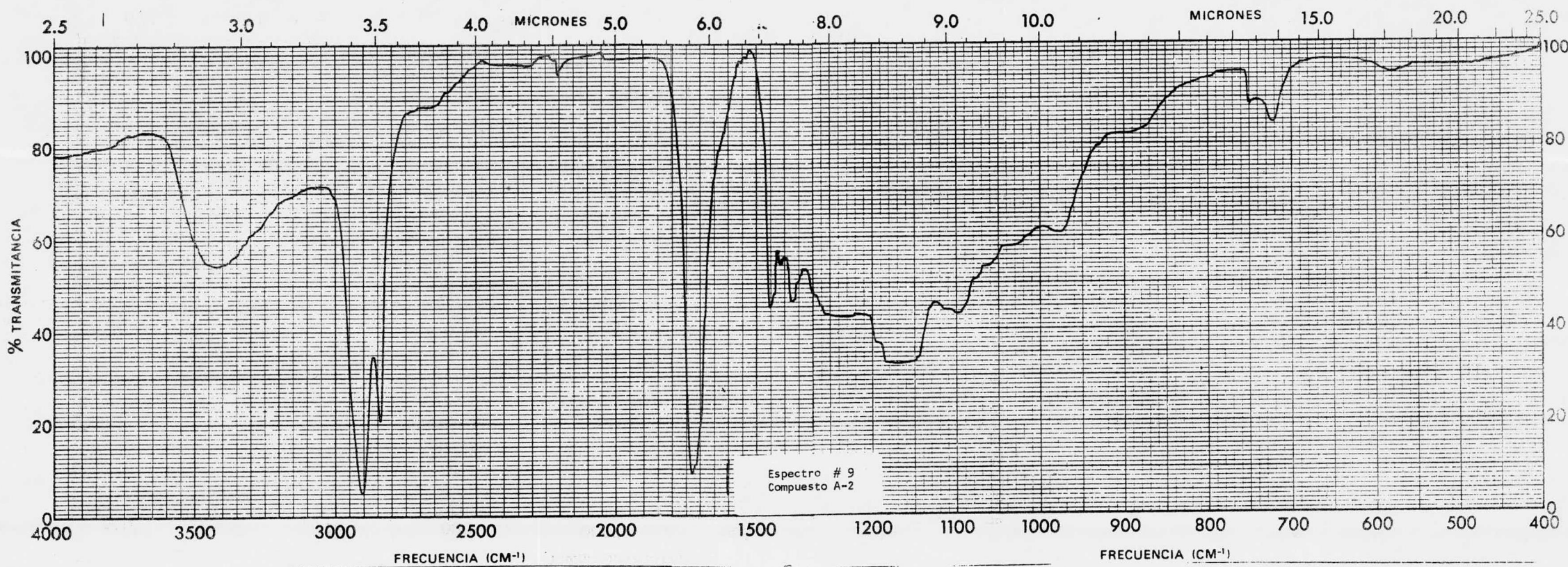
l-

CH₃

Espectro # 7
Esteres metilicos
de A-1.

OPERADOR Paul E.
26/11/78
ESPECTRO 5557
BRADDEF







AMPLITUD 100
 FILTRO 0.1
 RF 0.5

TIEMPO DE BARRIDO 5 min
 CAMPO BARRIDO 10 gauss

MUESTRA
 SOLVENTE $CDCl_3$

OBSERVACIONES
 nada - 15 ppm
 Espectro # 10
 Compuesto A-2

OPERADOR Jina
 8-V-78
 ESPECTRO 5470
 Bralcy

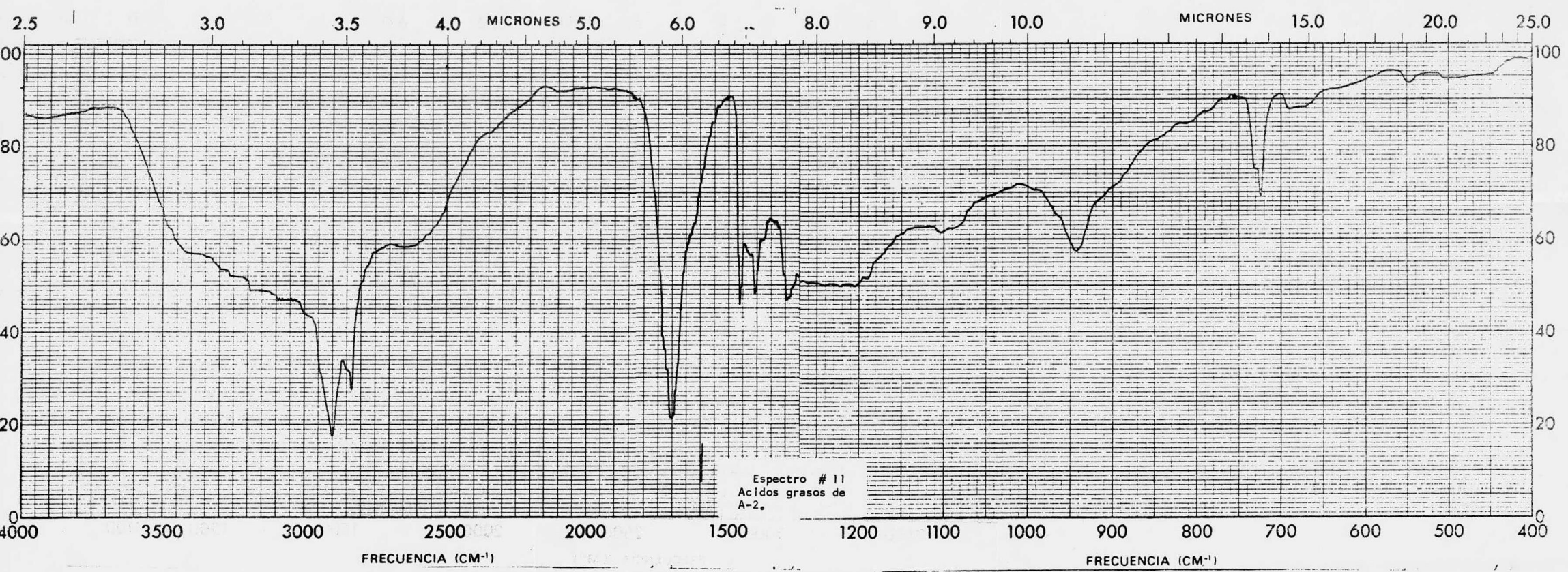


CHART NO. 36CK10

PRINTED IN U.S.A.

varian instruments

pato s.l.c. california



START OF SWEEP

END OF SWEEP

20ppm
10ppm
5ppm
2ppm
1ppm
0.5ppm

1000
500
250
100
50
25

1000
500
250
100
50
25

800
400
200
80
40
20

600
300
150
60
30
15

400
200
100
40
20
10

200
100
50
20
10
5

0
0
0
0
0
0

ppm (a)

9

7

6

5

3

2

0

SPECTRUM AMP: 250

FILTER: 0.01

RF POWER: 18

SWEEP TIME: min

REPEAT: 10

LEAD: 0

SAMPLE:

SOLVENT: C_2H_5

RE MARKS:

Espectro # 12
Acidos grasos de
A-2.

OPERATOR

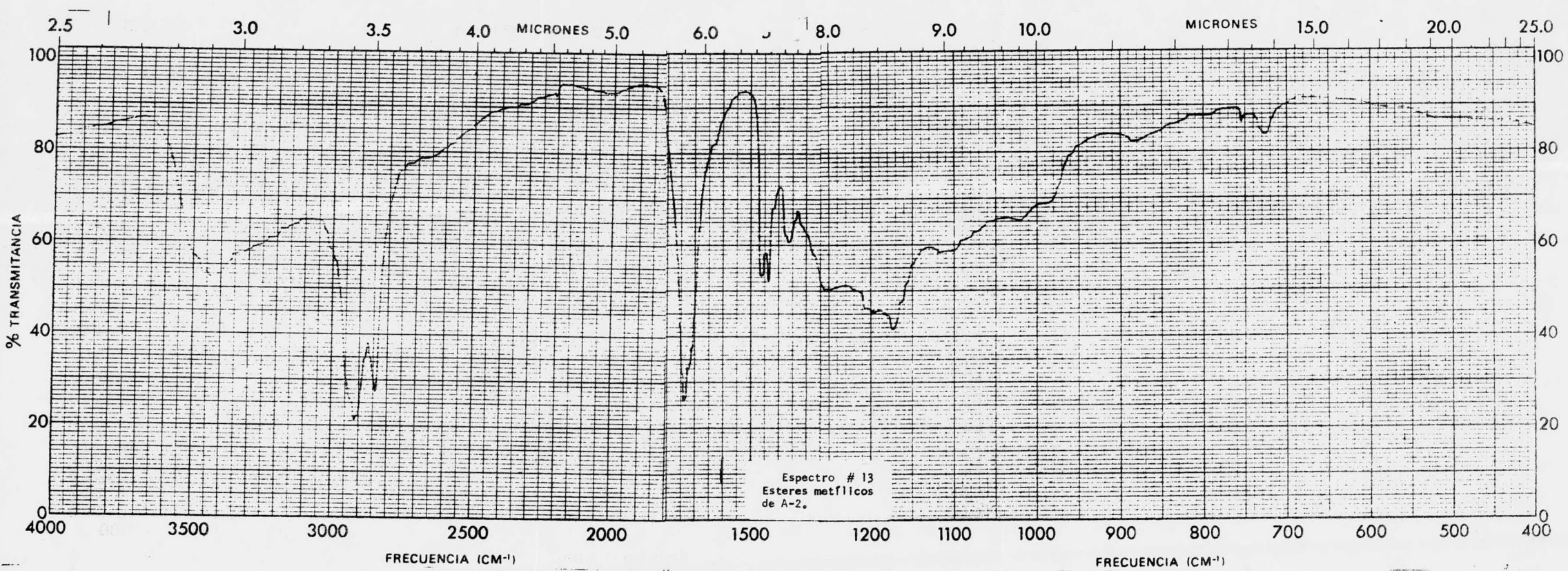
Raul E.

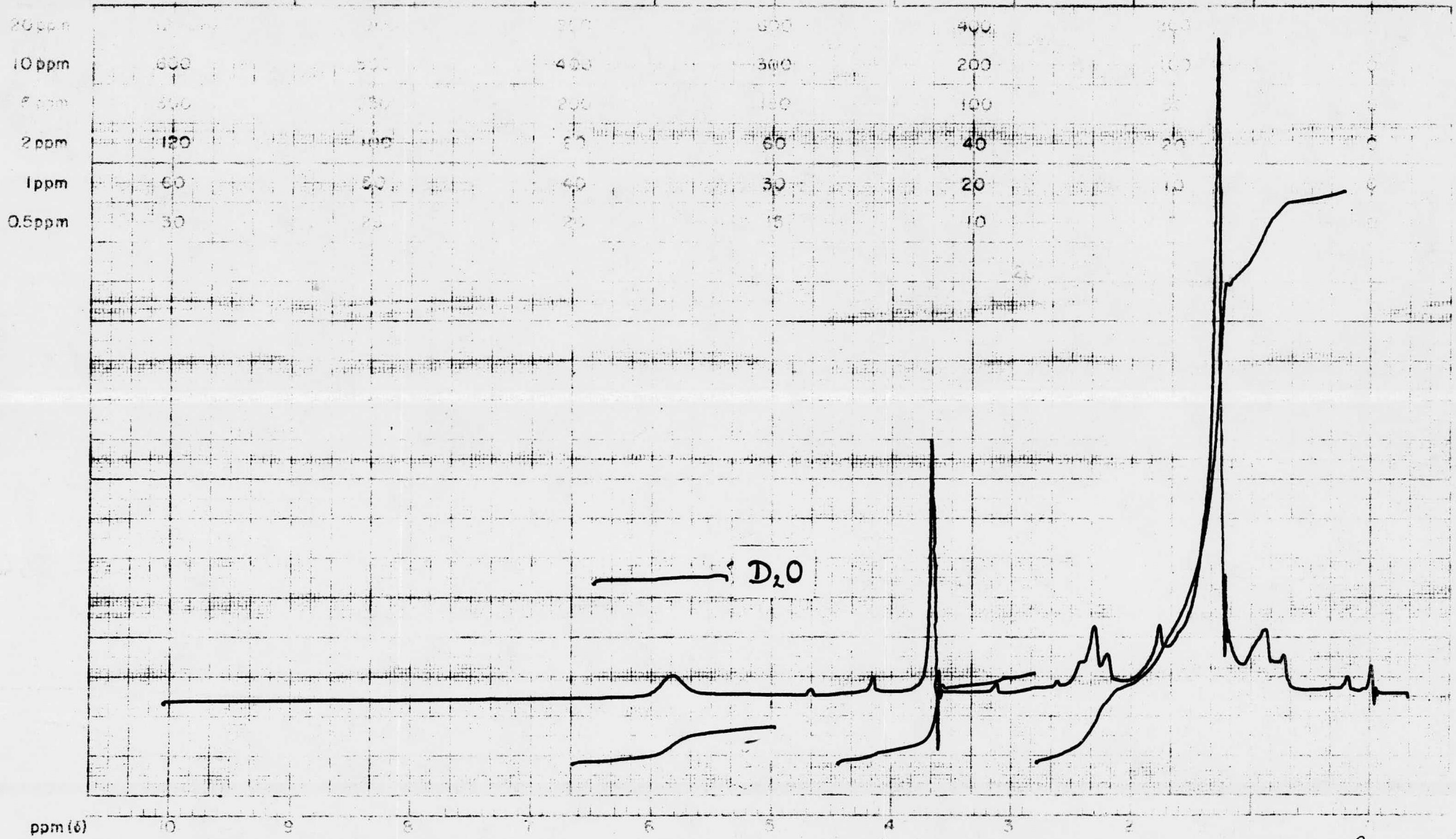
DATE

SPECTRUM NO. 5560

D₂O

EM-360 60 MHz NMR SPECTROMETER





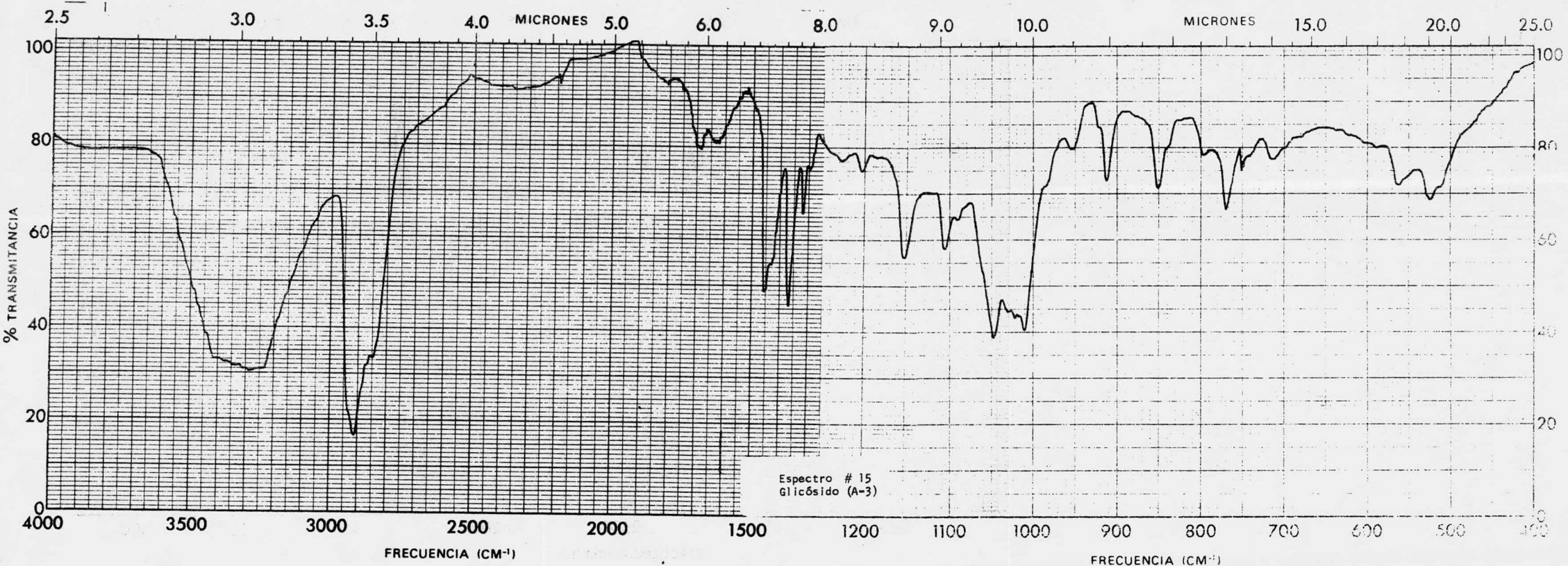
AMPLITUD 100
 FILTRO 05
 RF 105

TIEMPO DE BARRIDO 5
 GANADO 10
 0

OPERA *Bratof*
 CDEh

OBSERVACIONES
 Espectro # 14
 Esteres metilicos
 de A-2.

OPERADOR *Pajit*
 TECH *28/VI/78*
 ESPECTRO No *5579*
Bratof





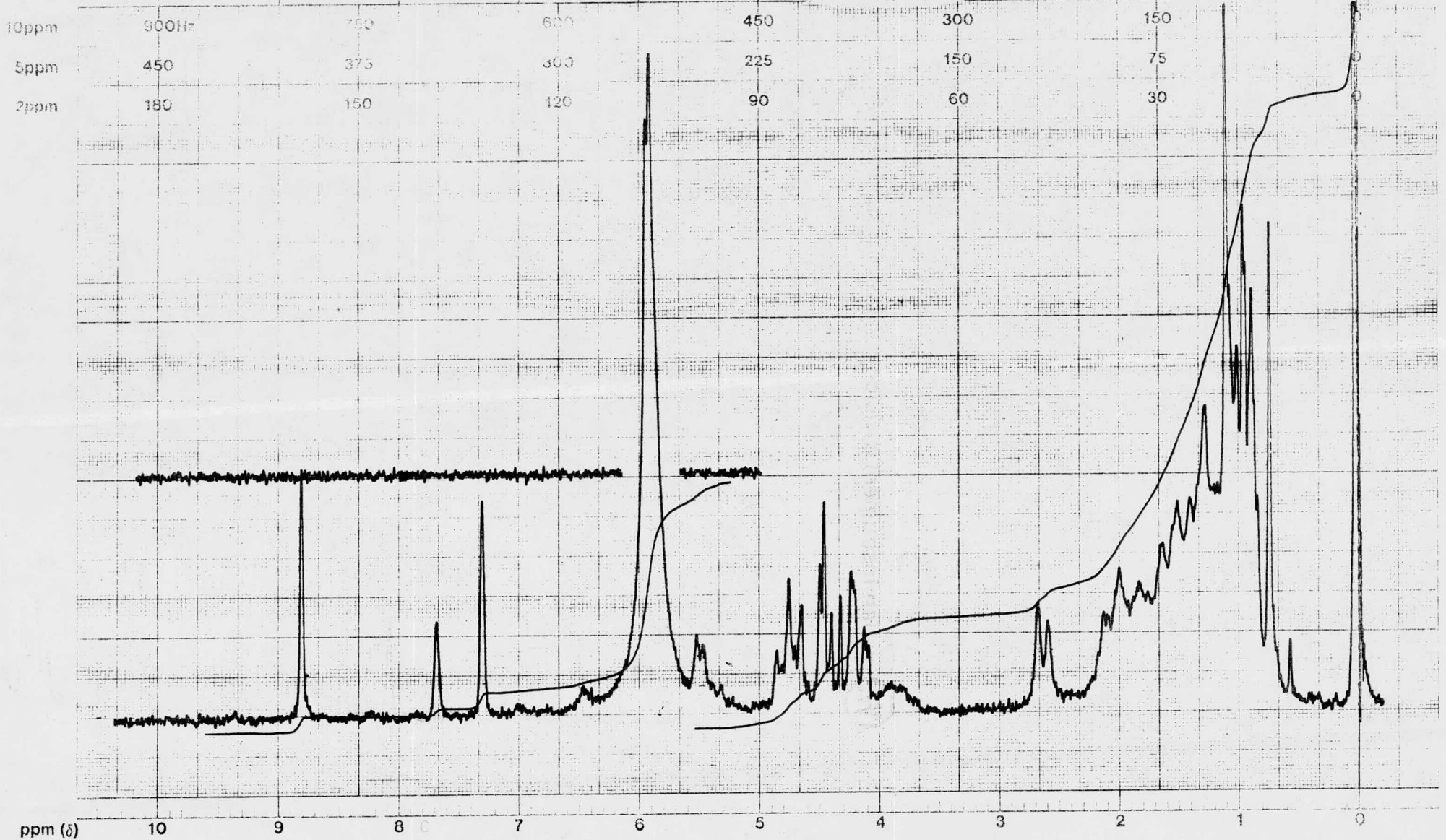
varian instrument division

palo alto, california

START OF SWEEP



END OF SWEEP



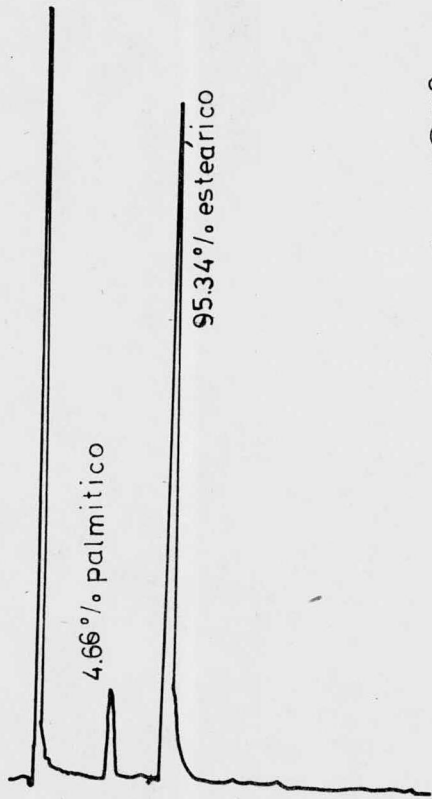
EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

LOCK POS. _____ ppm SPECTRUM AMPL. 2700 SWEEP TIME 5 min NUCLEUS ¹H SAMPLE: E. Bratoff OPERATOR Tina

LOCK POWER _____ mG FILTER 0.05 sec SWEEP WIDTH 10 ppm ZERO REF. TMS Espectro # 16 DATE 1- Nov. 78
 Glicósido (A-3).

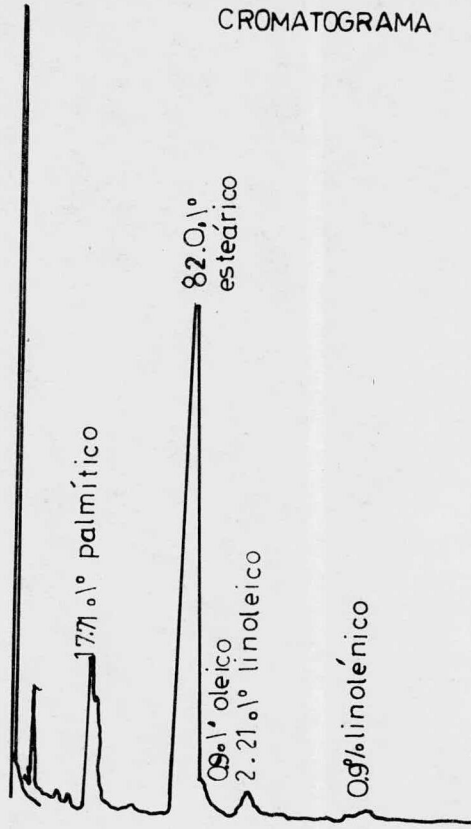
DECOUPLE POS. _____ ppm DECOUPLING POWER _____ mG RF POWER 0.05 mG END OF SWEEP 0 ppm SAMPLE TEMP. TA °C SOLVENT: C₆D₆N SPECTRUM NO. 177

CROMATOGRAMA 1



columna 20 degs chrom w-aw
80/100 mallas
G_t 1/8 "acero inoxidable
temperatura horno 190°C
inyector 200°C
detector 200°C
flujo N₂ 30 ml/min
H₂ 30 ml/min
aire 28 ml/min
velocidad carta 0.1 in/min

CROMATOGRAMA 1



columna 20 degs chrom w-aw
80/100 mallas
G_ft 1/8" acero inoxidable
temperatura -horno 190°C
detector 200°C
inyector 200°C
flujo N₂ 30 ml/min
flujo H₂ 28 ml/min
flujo aire 30 ml/min
velocidad carta 0.1 in/min

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se han estudiado las semillas de "cundeamor", Momordica charantia perteneciente a la familia de las Cucurbitáceas obteniéndose los siguientes resultados :

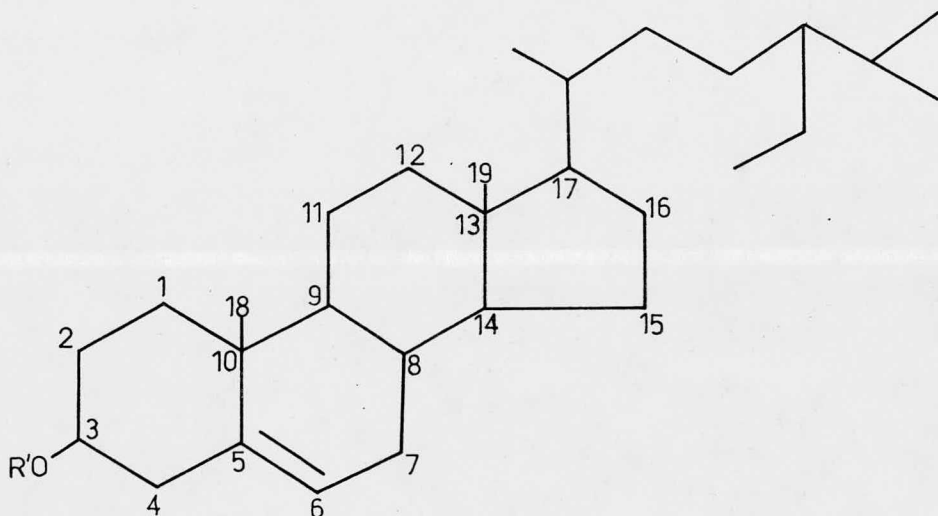
Del extracto hexánico de las semillas de "cundeamor" se aislaron dos tipos diferentes de aceites. Para un lote de semillas colectadas en las orillas de Villahermosa, el análisis por Cromatografía de Gases muestra un 4.66 % de ácido palmítico y un 95.34 % de ácido esteárico. El valor de yodo para este aceite fue 28, el de saponificación de 297- y el valor de acidez de 83.4. Para otro lote de semillas colectadas en un lugar diferente de Villahermosa, aunque en el mismo Estado de Tabasco, el análisis da 82.0 % de ácido esteárico, 17.71 % de ácido palmítico, 0.9 % de ácido oleico, 2.21 % de ácido linoleico y 0.9 % de ácido linolénico.

Estos datos indican que la composición de ácidos grasos en las semillas de "cundeamor" depende de la localización geográfica de donde se colecta la planta. Estos resultados coinciden con los datos reportados en la literatura (11,12,13. y 14) .

Del extracto metanólico de las semillas se aisló por Cromatografía en columna sobre fluorisil un compuesto cristalino blanco en un rendimiento de 0.03 % al que se le llamó A-3, $pf = 285^{\circ} - 290^{\circ} C$, $[\alpha]_D^{20} = -43^{\circ}$. A-3 resultó ser un β -D-glicósido de β -sitossterol aislado por primera vez de las semillas de Momordica charantia.

Este compuesto resultó ser idéntico con el producto aislado de los frutos de esta especie. Su estructura se determinó por espectroscopía : como Resonancia Magnética Nuclear, Infrarrojo, Polarimetría, así como por los derivados preparados de este glicósido , los cuales son idénticos a los reportados en la literatura (10)

La estructura determinada para este compuesto A-3 , es la siguiente :



$R^3 = \text{p} \text{-D-glicósido} .$

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- 1) Lotlikar. M. M y M.R. Rajarama Rao ; Pharmacodynamics 68, 9538 (1963).
- 2) Hegnauer , R. ; Chemotaxomische der Pflanzen 4 , ---- 608-624 . Birkhauser verlag basel und Stuttgart , 1966.
- 3) Belkin, M., y D. B. Fitzgerald ., J. Natl. Cancer Inst. 13 , 139 (1952)
- 4) Hegnauer, R ., Chemotaxomische der Pflanzen , 4 , 608-624 Birkhauser verlag basel und Stuttgart, 1966.
- 5) Enslin, P. R. y S. Rehm ., Z. Physiol. Chemie, 303 , - 97, (1956).
- 6) Ward Pigman . The Carbohydrates : Chemistry, Biochemistry, Physiology . Academic Press Inc. Publishers. New York 1957, 188-190.
- 7) Claus E. P. y Varro E. Tyler . Farmacognosia. Ed. Ateneo Buenos Aires Argentina , 1965 , 82-98.
- 8) Lara Hidalgo Ma. del Carmen . Saponinas esteroidales . - Tesis . Facultad de Química 1969. México,D. F.
- 9) Lotlikar, M. M. y M. R. Rajarama Rao ., J. Univ. Bombay, 29 , 223-4 (1960).
- 10) Wolfgang Sucrow (Tech. Univ. Berlin) . Chem. Ber. 99(9), 2765-77 (1966) (Ger).
- 11) Chisholm, Mary J. y C. Y. Hopkins ., Canadian Journal of Chemistry ., 42 , 560-564 (1964).
- 12) Verma, J. P. y J.S. Aggarwal ., Jour. Indian Chem. Soc., 33 (5), 357-358 (1956).

- 12) Verma. J.P. y J.S. Aggarwal ., Jour. Indian Chem. Soc., 33 (5), 357-58 (1956).
- 13) Airan y Shah ., J. Univ. Bombay., 11, 105 (1942).
- 14) Morton. M. y J. Riley ., Analyst, 70 , 68 (1945).
- 15) Mehelenbacher , Analysis of Fats and Oils . The --- Garrad Press Publishers, Champaign Illinois, 1960 , 103-105, 294-308, 311-332.
- 16) Dreywood, R. ., Analyt. Chem ., 18 , 499 (1946)
- 17) Ward. Pigman. The Carbohydrates : Chemistry, Biochemistry, Physiology ., Academic Press Inc. Publishers. New York . 1957 , --- 602 - 610.

TESIS



Tesis por computadora

Medicina 25 Local 2
Tel. 550-87-98

Frente a la Facultad de Medicina
Ciudad Universitaria