

28
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

ESTUDIO FITOQUIMICO PRELIMNAR DE *Solanum ehrenbergii*, UNA ESPECIE DE PAPA SILVESTRE MEXICANA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A:

VICENTE JESUS HERNANDEZ ABAD

DIRECTOR: Q. ARTURO EDUARDO CANO FLORES

MEXICO, D.F.

1997

**TESIS CON
FALSA 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 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.

Gracias a Él, que todo lo ve, quien siempre ha iluminado mi camino.

**Este trabajo se desarrolló en el
Laboratorio de Química de Productos Naturales, L-314, de la
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la
Universidad Nacional Autónoma de México,
bajo la dirección del
Q. Arturo Eduardo Cano Flores.**

Dedicatorias.

A mi madre, María de Lourdes Abad Lira, quien ha luchado contra toda adversidad, con valor, sacrificio y un profundo amor por sus hijos, y ha hecho de mí una persona de provecho. Para ti, todo mi amor y agradecimiento.

A mis hermanos. Gracias a ambos por su amistad, su apoyo y, sobre todo, su cariño:

Anita: tu amor y tu ejemplo de tenacidad y lucha han estado presentes en todos los momentos de mi vida.

René: La distancia física no importa, ya que en nuestros corazones no existe; en ellos siempre estamos juntos.

A mi abuela, Raquel Lira, cuyos consejos han ayudado a que mi camino sea el correcto, y su amor me nutrió de pequeño.

A mi padre, René Hernández. Espero que en la inmensidad donde te encuentras, sientas orgullo por tus hijos. Sé que siempre estás conmigo, protegiéndome, y ayudando a que salga adelante. Para mí, esta es una forma de honrar tu memoria.

A mis sobrinos, Claudia y René. Espero que su futuro sea brillante, que la vida les depara dicha y triunfo, y que siempre estén conscientes de que cuentan con mi cariño y apoyo.

Agradecimientos.

A mi muy querida Alma Mater, la Universidad Nacional Autónoma de México. En ella, he aprendido a amar más a mi país. Sé que el ser Universitario es un honor, y ese honor implica un compromiso con nuestra nación.

Con cariño y respeto, para mis Maestros y Amigos:

Arturo Cano Flores: Un amigo deposita en nosotros su confianza, nos hace crecer como seres humanos y nos señala el camino a seguir que ha de ser el más provechoso para nosotros. No tengo forma de agradecer el que sea Usted un amigo siempre, y que sus consejos me hayan ayudado en mi formación no solo como profesional, sino como persona también.

Alejandro Ruiz Cancino: El recuerdo de su amistad, sus consejos y su orientación, están siempre no solo en mi mente, sino también en mi corazón. Con este trabajo, espero que en parte pueda yo satisfacer el empeño y cariño que demostró por este proyecto. Usted me enseñó que para realizar un sueño, debemos amar lo que hacemos. Sea este un humilde homenaje a su memoria.

Agradezco profundamente a la Dra. Ángela Sotelo López por su entusiasmo y valioso apoyo.

Se agradece a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UAM, el apoyo económico brindado para la realización de este trabajo, el cual forma parte del proyecto IM-214394.

Se agradece al personal técnico-académico del Instituto de Química de la UAM, en especial, al Dr. Federico García Jiménez, por las facilidades brindadas para la realización de este trabajo.

Para mí, la finalidad del Universitario no solo radica en ser un humano crítico, sino en ser una persona cuya acción tenga un sentido social. Esto implica, que el pensamiento del Universitario debe ser siempre en beneficio de su pueblo, y sus acciones deben encaminarse a retribuir a éste el haberle dado la oportunidad de ser un profesional. El Universitario, debe saber hacer a un lado los intereses mezquinos y el egoísmo, y debe tener presente, en todo momento, que no forma parte de una élite a la que el pueblo está obligado a servir; por el contrario, el Universitario es un servidor del pueblo, y tiene como tal la obligación y la responsabilidad de ayudar con su pensamiento y obras a éste, para de esa manera hacer cada día más grande a su patria. Desde mi punto de vista, esta es la única forma de dar sentido al lema de nuestra Universidad:

" Por mi raza hablará el espíritu "



Solanum ehrenbergii (Bitt.) Rydb.

ÍNDICE.

CONTENIDO.	PÁGINA.
Resumen	1
1. Introducción	2
2. Fundamentación del tema	4
2.1. Importancia de la papa cultivada a nivel mundial.....	4
2.2. Importancia que presentan las especies de papa silvestre.....	7
2.3. Sustancias tóxicas presentes en la papa cultivada y silvestre.....	11
3. Planteamiento del problema	32
4. Objetivos	33
4.1. Objetivo general.....	33
4.2. Objetivos particulares.....	33
5. Hipótesis de trabajo	34
6. Material	35
7. Metodología experimental	38
7.1. Estudio fitoquímico.....	38
7.1.1. Estudio preliminar: Pruebas a la gota y determinación en CCF para la detección de alcaloides esteroidales.....	38
7.1.2. Análisis químico de los extractos, con base en la detección presuntiva de alcaloides por medio de reacciones específicas.....	43
8. Resultados	46
8.1. Determinación cualitativa de alcaloides esteroidales en los diferentes extractos.....	46
8.1.1. Pruebas a la gota.....	46
8.1.2. Determinación en CCF.....	46
8.1.2.1. Reactivo de Marquis.....	46
8.1.2.2. Reactivo de p-anisaldehído.....	48
8.1.2.3. Reactivo de tricloruro de antimonio.....	48
8.2. Estudio fitoquímico de las partes aéreas de <i>Solanum ehrenbergii</i>	49

8.2.1. Purificación de la α -solanina.....	51
8.2.2. Purificación de la solanidina.....	52
9. Análisis de resultados.....	55
9.1. Pruebas a la gota.....	55
9.2. Pruebas en placa.....	58
9.3. Elucidación estructural de los alcaloides purificados de <i>Solanum ehrenbergii</i>	59
9.3.1. Análisis de los espectros de infrarrojo de las sustancias I y III.....	59
9.3.2. Análisis de los espectros de masas de las sustancias I y III.....	61
9.3.3. Discusión del espectro de RMN- ^{13}C de la solanidina (III).....	71
9.3.4. Análisis del espectro de RMN- 1H de la solanidina.....	75
10. Conclusiones.....	78
11. Sugerencias.....	79
12. Espectros de las sustancias aisladas.....	80
12.1. Espectro 1. IR (KBr) de la α -solanina (I).....	81
12.2. Espectro 2. EM (FAB $^+$, 3 KeV) de la α -solanina (I).....	82
12.3. Espectro 3. IR (KBr) de la solanidina (III).....	83
12.4. Espectro 4. EM (IE, 70 eV) de la solanidina (III).....	84
12.5. Espectro 5. RMN- ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, TMS) de la solanidina (III).....	85
12.6. Espectro 6. RMN- 1H (300 MHz, $CDCl_3$, TMS) de la solanidina (III).....	86
13. Bibliografía.....	87

RESUMEN.

Solanum ehrenbergii (*Solanaceae*), es una especie de papa silvestre mexicana altamente apreciada por los pobladores de San Luis Potosí y Zacatecas. Hasta el momento, no existen estudios concernientes a la naturaleza de los metabolitos secundarios que pudiesen estar presentes en esta planta. En este trabajo, se informan los resultados obtenidos del estudio fitoquímico preliminar de las partes aéreas de esta especie. Se determinó la presencia de glicoalcaloides en los extractos más polares de la planta, y se aislaron e identificaron como sustancias mayoritarias dos glicoalcaloides presentes en varias especies de *Solanum*: α -chaconina y α -solanina; a su vez, se identificó por métodos espectroscópicos a la solanidina, como producto de la hidrólisis ácida de las sustancias ya mencionadas.

1. INTRODUCCIÓN.

México es, sin lugar a dudas, un país altamente privilegiado en lo que a recursos naturales se refiere. En el territorio nacional, se encuentran presentes cerca del 10% de las especies de plantas y animales terrestres que se conocen actualmente.

La gran diversidad biológica de México, se debe a su ubicación geográfica, su fragmentado relieve e intensa historia geológica. Todos estos factores han sido determinantes para la creación de numerosos microambientes, donde ha tenido lugar el nacimiento de una gran cantidad de especies endémicas.

Resulta imposible desligar la cultura de nuestro país con el aprovechamiento que sus pobladores hacen de los recursos naturales. Desde la época precolombina, se documenta la utilización de plantas con fines alimenticios, medicinales o de ornato; el florecimiento de las culturas que formaron Mesoamérica, se debió en gran parte al uso racional de tales recursos.

En el México anterior a la conquista, se desarrolló una cultura alimenticia basada en una enorme variedad de vegetales comestibles: plantas tales como el maíz, frijol, chile, aguacate, jitomate, amaranto, papa, cacao, calabaza y vainilla, formaban parte de la dieta de los antiguos mexicanos y, con la llegada de los españoles a nuestro país, se diseminaron por todo el mundo, siendo en la actualidad muchas de estas plantas indispensables para la supervivencia de la población mundial.

Toda la riqueza alimenticia que brinda nuestro país, se debe a la domesticación de especies silvestres en cultivos que redundaron en la producción actual en gran escala. A pesar de lo anterior, muchas especies silvestres de plantas mexicanas no se aprovechan en la actualidad de manera adecuada, ya que no existe el conocimiento necesario de sus propiedades químicas y su potencial nutritivo.

La aplicación del conocimiento científico que a la fecha se tiene, puede permitir el estudio de muchas de éstas especies, con el fin de conocer acerca de sus propiedades nutritivas, farmacológicas e inclusive, su toxicidad potencial, mediante un trabajo multidisciplinario; tal esfuerzo, se traducirá en la posibilidad de dar un mejor aprovechamiento a los recursos naturales mexicanos, que en algún momento pudieran llegar a servir para mejorar el nivel de vida de nuestra población.

2. FUNDAMENTACIÓN DEL TEMA.

La familia *Solanaceae* comprende aproximadamente 75 géneros vegetales de importancia botánica, fitotécnica y de tipo comercial, ya que de éstos se obtienen productos farmacéuticos y alimenticios, además de ser fuente de diversas materias primas. Dentro de dichos géneros, se agrupan más de 200 especies, incluidas entre ellas las plantas productoras de tomate (*Lycopersicon sculentum*), chile (*Capsicum annum*, *Capsicum frutescens*, etc), tabaco (*Nicotiana tabacum*), tomatillo (*Physalis ixocarpa*); además, se obtienen de esta familia compuestos de interés farmacéutico, como es el caso de la atropina (*Atropa belladonna*), la nicotina (*Nicotiana tabacum*) y compuestos cardioactivos, comúnmente conocidos como cardiotónicos digitálicos, obtenidos de *Digitalis purpurea*^{1,4}.

Sin lugar a dudas, uno de los géneros más importantes dentro de la familia *Solanaceae* es el género *Solanum*. Dentro de éste, se encuentran especies de gran valor alimenticio, como son: *Solanum melongema* (berenjena), *Solanum macrocarpon* (planta del buevo africana), *Solanum muricatum* (pepino); ornamental, como *Solanum nigrum* (hierba mora); e incluso en la medicina tradicional, como es el caso de *Solanum quitoense* o "naranjillo"¹.

2. 1. Importancia de la papa cultivada a nivel mundial.

Dentro del género *Solanum* se agrupan 8 especies de papa cultivadas (*Solanum tuberosum*, *Solanum ajanhuiri*, *Solanum goniocalyx*, *Solanum phureja*, *Solanum stenotomum*, *Solanum curtilobum*, *Solanum juzepczukii*, *Solanum chaucha*) y aproximadamente 160 especies silvestres. Tales especies tuberíferas -es decir, que pueden formar tubérculos- se encuentran comprendidas en la sección *Petota Dumort*, frecuentemente llamada *Tuberarium (DUNAL) Bit*^{1,3,5}.

La papa es de origen americano. Fué domesticada en Sudamérica inicialmente, y se ha diseminado alrededor del mundo en los últimos 400 años, desde la llegada de los europeos a las tierras del continente Americano¹.

Las especies tuberíferas de *Solanum* son consideradas un grupo de plantas relativamente joven en términos geológicos y evolutivos. México constituye un importante centro de variabilidad de especies silvestres de papa y es también, probablemente, el centro de origen del grupo tuberífero en conjunto. Se cree que de nuestro país migraron hacia Sudamérica las primeras especies de papa, las cuales sufrieron una serie de procesos evolutivos que, en su conjunto, originaron una amplia variabilidad de especies con poca evolución génica. La mayor variabilidad de especies de papa en el continente americano ocurre en los Andes de Perú y Bolivia; en esta región, se encuentran alrededor de 90 especies de papa silvestre, y aproximadamente 400 variedades de papa común¹.

La papa cultivada crece generalmente en regiones frías, donde la temperatura promedio durante la temporada de crecimiento no excede los 18°C. Se cultiva en el 71% de los países del mundo, y representa alrededor del 47% de los tubérculos producidos. Es el cuarto cultivo más importante en el planeta, después del trigo, maíz y arroz, en cuanto al tonelaje total (Tabla 1)¹.

Los principales productores a nivel mundial para el año de 1990 eran los países Europeos, URSS, América del Norte, Australia y los países Andinos de América Latina (ver tabla 2). Europa del Norte y la URSS aportaban el 70% de la producción en todo el planeta¹.

La importancia de la papa cultivada radica en su alto valor alimenticio. La papa produce más materia seca y proteína que cualquier cereal cultivado en el mundo. Es el alimento principal en las zonas templadas del planeta; la razón de ello, es su elevado contenido de nutrientes, como son carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales^{1,3,4}. En la tabla 3, se dan los porcentajes de nutrientes presentes en la papa cultivada, según estudios de la FAO para 1990¹.

Tabla 1. Producción de papa a nivel mundial comparada con otros cultivos¹.

Cultivo	Área cosechada ($\times 10^3$ ha)	Rendimiento (Kg/ha)	Producción ($\times 10^3$ ton)
Papa	17854	15098	269561
Camote	11910	11058	131707
Trigo	231548	2570	595149
Arroz	145776	3557	518508
Maíz	129116	3682	475429

La papa es una de las fuentes más importantes de energía y tiene una mayor capacidad de proporcionar proteína que cualquier otro cultivo. Se ha calculado que el consumo de 100g de papa, puede suministrar de 5-7 % de la energía y de 10-12 % de la proteína diarias necesitadas por niños de 5 a 12 años de edad, así como del 3-6 % de la proteína y un 20% del ácido ascórbico requerido diariamente por el adulto^{1,2}.

La industrialización de la papa rinde productos tales como el almidón, la glucosa y las dextrinas. La producción mundial de almidón de papa es de aproximadamente 2×10^9 toneladas anuales. El agua de desecho colectada del pelado, cortado y blanqueado en las industrias de procesamiento de la papa, se ha utilizado para la recuperación de proteína de alto valor alimenticio con un 80-85 % de pureza. A su vez, las aguas residuales pueden

también utilizarse para preparar medios de crecimiento para células productoras de proteína (por ejemplo, levaduras)¹.

Tabla 2. Producción de papa a nivel regional¹.

Area cosechada (x 10 ³ ha)	Rendimiento (Kg/ha)	Producción (x 10 ³ t)	Region
18070	14923	276740	Mundial
779	8634	6722	Africa
735	28352	20837	América Norte-Central
912	12560	11453	Sudamérica
4607	13330	61416	Asia
4796	21502	102984	Europa
48	27685	1328	Oceania
6200	11613	72000	URSS
11875	16916	200881	Países desarrollados
6195	12245	75860	Países no desarrollados

2. 2. Importancia que presentan las especies de papa silvestres.

Las especies silvestres de papa están totalmente confinadas al continente Americano. Se distribuyen desde el Suroeste de Nebraska, Colorado, Utah, Sur de Arizona, Nuevo México y Oeste de Texas en los Estados Unidos, continuando por México, Centro y Sudamérica, hasta el archipiélago de Chonos del Centro-Sur de Chile y la región de la Patagonia en Argentina. Los países con mayor número de especies tuberosas silvestres son: Perú (64), México (33), Bolivia (31), Argentina (27) y Ecuador (13)¹.

Tabla 3. Composición química de la masa seca del tubérculo de papa*

Nutriente	Contenido (%)
Fibra cruda	2.1
Almidón	74.3
Azúcares totales	1.3
Azúcares reductores	0.6
Grasa	1.0
Nitrógeno total	1.2
Nitrógeno protéico	1.6
% del nitrógeno protéico.	
Albumina	48.9
Globulina	25.9
Prolamina	4.3
Glutelina	8.3
Minerales	
Calcio	0.02
Magnesio	0.08
Potasio	1.47
Sodio	0.02
Hierro (ppm)	15.70
Vitaminas (mg/100g)	
Tiamina	0.73
Acido ascórbico	92.08
Acido nicotínico	10.08
Riboflavina	0.12

*la masa seca corresponde al 22.5% del peso húmedo

Las 33 especies de papa silvestre mexicana se encuentran en la mayor parte del territorio nacional. Los límites geográficos son: al Norte, por la región montañosa de Chihuahua hasta la frontera con Estados Unidos; al Sur, por la región montañosa de Chiapas hasta la frontera con Guatemala; al Este, por la Sierra Madre Oriental y al Oeste por la Sierra Madre Occidental. Son pocos los Estados de la República Mexicana en los que no se ha reportado la presencia de papas silvestres, como es el caso de Baja California Norte, Campeche, Quintana Roo, Tabasco y Yucatán. En la tabla 4, se mencionan algunas de las

especies silvestres de papa encontradas en México, así como su localización en diferentes Estados de la República³.

Tabla 4. Especies de papa silvestre (*Solanum*) encontradas en México³.

Especie	Estados en que se localiza
<i>S. fendlerii</i>	Baja California Sur
<i>S. bulbocastanum</i>	Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Veracruz y D.F.
<i>S. cardiophyllum</i>	Aguascalientes, Chihuahua, Coahuila, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Zacatecas y D.F.
<i>S. demissum</i>	Durango, Michoacán, Hidalgo, México, Morelos, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Tlaxcala, Veracruz, Zacatecas y D.F.
<i>S. stoloniferum</i>	Chiapas, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tlaxcala, Veracruz, Zacatecas y D.F.
<i>S. brachistotrichum</i>	Chihuahua y Sonora.
<i>S. hintonii</i>	México.
<i>S. michoacanum</i>	Jalisco y Michoacán.
<i>S. trifidum</i>	Jalisco y Michoacán.
<i>S. wightianum</i>	Guanajuato.
<i>S. axycarpum</i>	México.
<i>S. polyadenium</i>	Jalisco, Puebla y Veracruz.
<i>S. iopetalum</i>	México, Hidalgo, Veracruz y D.F.
<i>S. morelliforme</i>	Chiapas, México, Puebla y Veracruz.
<i>S. verrucosum</i>	México, Coahuila, Tamaulipas y Oaxaca.
<i>S. ehrenbergii</i>	San Luis Potosí y Zacatecas.

La importancia de la papa silvestre es tanto histórica como económica, ya que se supone que algunos tubérculos de este tipo pudieron estar incluidos entre las primeras plantas utilizadas por los antiguos pobladores de América, suplantando una dieta basada en carne o bien, en épocas de necesidad, pudo ser un medio de subsistencia. En la actualidad³, se encuentran papas silvestres de importancia económica que son empleadas para

autoconsumo y comercialización entre los pobladores de las regiones en que crecen estas variedades, como es el caso de *S. ehrenbergii*, que se localiza en el altiplano Potosino-Zacatecano¹.

La distribución ecológica de estas especies no es tan restringida como la de la papa cultivada, ya que crecen en lugares ya sea desérticos, boscosos, selváticos, e inclusive en tierras que se ocupan o han sido utilizadas como terrenos de cultivo, y en una gran variedad de climas.

S. ehrenbergii, por ejemplo, tiene hábitos arvenses¹¹, ruderales¹², y preferentemente crece en lugares con suelos arenosos o arcillosos y con climas cálidos a semidesérticos³.

S. ehrenbergii y *S. cardiophyllum*, en conjunto, son denominadas "papas güeras", las cuales son especies tuberíferas de *Solanum* que forman parte de la vegetación nativa del altiplano Potosino-Zacatecano. A estas especies, se le llama también "papita del monte", "papita de campo", "papita blanca", "papita de milpa", "papita cimarrona", "papita de barbecho", "papita de labor", "papita silvestre" y "papita buena". Presentan una elevada tolerancia a la sequía y a daños provocados por hervíboros, lo cual es importante para su desarrollo en las zonas áridas y semiáridas del país. Cabe señalar, que el pequeño volumen comercializado y su gran demanda, así como su sabor agradable, hacen que estas dos especies de papa tengan un elevado valor económico en el mercado mexicano⁴.

El pequeño volumen comercializado de la "papita güera", se debe a que todos los intentos para cultivarla han fracasado, ya que al aumentar la densidad de plantas en el suelo de cultivo, se ha observado que, contrariamente a otras especies de papa, se incrementa la susceptibilidad a patógenos tales como *Phytophthora infestans* y *Alternaria solanii*, los

¹¹ Arvense: Puede crecer asociado a plantas de cultivo o entre matorrales espinosos

¹² Ruderales: Que pueden desarrollarse a lo largo de caminos, carreteras, etc.

cuales aniquilan las poblaciones ocasionando que su explotación bajo cultivo no sea redituable³.

2. 3. Sustancias tóxicas presentes en la papa cultivada y silvestre.

Tanto las especies de papa silvestre como las cultivadas contienen sustancias que, aunadas a los nutrientes, les permiten sobrevivir al ataque de insectos, microorganismos y/o a la erosión provocada por factores ambientales (un ejemplo de ello es la resistencia al "tizón tardío de la papa" provocado por el hongo *Phytophthora infestans*). Estas sustancias son en general alcaloides con esqueleto esteroidal y son comunes en todo el género, e incluso se encuentran en plantas de los géneros *Lycopersicon* y *Capsicum*^{4, 6, 7}.

Los alcaloides comprenden un gran número de compuestos nitrogenados alcalinos distribuidos ampliamente en todas las partes del material vegetal. Su importancia biológica radica en la gran variedad de efectos fisiológicos que provocan como resultado de su ingreso en el organismo. El término alcaloide no se ha definido con toda precisión, pero puede confinarse a bases nitrogenadas heterocíclicas derivadas por biosíntesis a partir de aminoácidos, involucrando para ello reacciones de oxidación, reducción, *trans*-alquilación o condensación intra e intermolecular. Esta definición excluye a la cafeína y al grupo de bases similares a esta, purinas o pirimidinas, originadas a partir de ácidos nucleicos. También se excluyen las bases lineales como la mezcalina y la efedrina, en las cuales el nitrógeno básico no forma parte de un sistema cíclico^{4, 5, 6}.

Se considera a los alcaloides como la clase más grande de metabolitos secundarios de origen vegetal conocida, ya que abarca aproximadamente 5500 estructuras de sustancias diferentes^{4, 5, 6}. Químicamente los alcaloides son un grupo muy heterogéneo, que incluye desde sustancias tan simples como la conina, el alcaloide mayoritario de *Conium maculatum*, a estructuras pentacíclicas como la de la estricnina, toxina obtenida de la raíz de *Strychnos sp.*, pasando por estructuras bencilisoquinolinicas (p.ej., ajmalicina, extraída de *Vinca rosea*), pirrolizidinas (sencionina, de *Senecio jacobaea*), diterpénicas

(aconitina, de *Aconitum napellus*), quinolinas (quinina, de *Cinchona officinalis*), piridinas (nicotina, de *Nicotiana tabacum*) y alcaloides con esqueleto esteroideal considerados como terpenoides modificados, encontrados en el género *Solanum*⁶.

Los alcaloides presentan ciertas características en común: Sus soluciones tienen un carácter alcalino; son en general compuestos de elevada polaridad, solubles en alcoholes, algunos en agua, y todos en soluciones ácidas diluidas; y presentan reacciones con ciertas soluciones conocidas como "reactivos específicos para alcaloides" en las que se aprovechan las propiedades químicas de estas sustancias para su detección presuntiva, como son la formación de compuestos insolubles en presencia de ácidos orgánicos (reactivo de ácido picrico, reactivo de ácido tánico), complejos insolubles halogenados (reactivo de Mayer, Wagner), bases de Schiff (reactivo de *p*-anisaldehído), etc⁶.

Se han conducido numerosos estudios fitoquímicos con el fin de establecer la naturaleza estructural de los alcaloides esteroidales presentes en el género *Solanum*. En la Tabla 5, se presentan los diferentes compuestos que tienen estas características y que se han aislado no solo de plantas tuberíferas, sino de todo el género.

Los alcaloides propios del género pueden poseer dos tipos de esqueletos esteroidales diferentes: solanidanos (tipo solanidina), conteniendo el sistema indolizidina, como se ejemplifica en la solanina, chaconina, leptina, leptinidina y demissidina; y espirosolano (tipo solasodano), que posee la estructura oxa-azaespirodecano, representado por el tomatidenol, y la solamarina⁶.

Tabla 5. Estructuras de los alcaloides esteroidales presentes en el género *Solanum*.

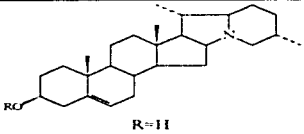
Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento	Ref.
Solanidina	 <p style="text-align: center;">R=H</p>	<i>Solanum tuberosum</i> <i>Solanum chacoense</i>	8-9.
α -Chaconina	Solanidina, R= L-Ram-D-Gal-L-Ram.	<i>Solanum tuberosum</i> <i>Solanum chacoense</i>	8-10
β -Chaconina	Solanidina, R= -D-Gal-L-Ram.	<i>Solanum tuberosum</i> <i>Solanum chacoense</i>	8-10
γ -Chaconina	Solanidina, R= -D-Gal.	<i>Solanum chacoense</i>	8-10
α -Solanina	Solanidina, R= D-Glu-D-Gal-L-Ram.	<i>Solanum tuberosum</i>	10
β -solanina	Solanidina, R= -D-Gal-D-Glu.	<i>Solanum tuberosum</i>	10

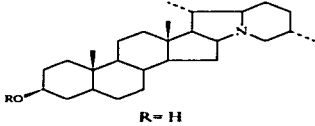
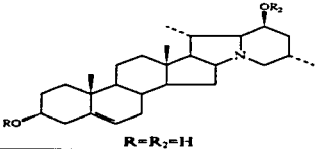
Tabla 5. Continuación...			
Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento	Ref.
γ -Solanina	Solanidina, R= -D-Gal.	<i>Solanum tuberosum</i>	10
Demissidina	 <p>R= H</p>	<i>Solanum commersonii</i> <i>Solanum demissum</i>	9 y 11
Commersonina	Demissidina, R= D-Glu-D- α -Gal-D-Glu-D-Glu	<i>Solanum commersonii</i> <i>Solanum demissum</i>	11
Demissina	Demissidina, R= D-Glu-D- α -Gal-D-Glu-L-Xil.	<i>Solanum commersonii</i> <i>Solanum demissum</i>	11
Leptinidina	 <p>R=R₂=H</p>	<i>Solanum chacoense</i>	9, 12 y 13.

Tabla 5. Continuación...

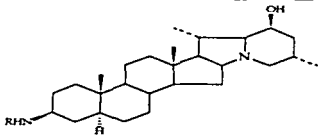
Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento	Ref.
Leptina I	Leptinidina, R=L-Ram-D-Glu-L-Ram R ₂ =Ac.	<i>Solanum chacoense</i>	9
Leptina II	Leptinidina, R= D-Glu-D-Glu-L-Ram R ₂ =Ac.	<i>Solanum chacoense</i>	9
Solanopubamina	 <p style="text-align: center;">R=H</p>	<i>Solanum pubescens</i>	14
Solanopubamida A.	Solanopubamina, R=CHO	<i>Solanum pubescens</i>	14
Solanopubamida B.	Solanopubamina, R=Ac.	<i>Solanum pubescens</i>	14

Tabla 5. Continuación...

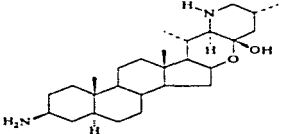
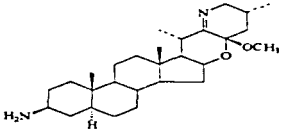
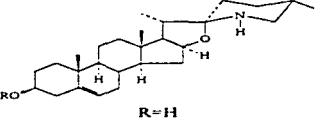
Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento	Ref.
Solanocapsina		<i>Solanum pseudocapsicum</i>	15-16
Solacapsina		<i>Solanum pseudocapsicum</i>	16
Δ^5 -tomatidenol-3 β .	 <p style="text-align: center;">R=H</p>	<i>Solanum dulcamara</i> <i>Solanum tuberosum</i> <i>Solanum chacoense</i>	16-18
α -Solamarina	Δ^5 -tomatidenol-3 β , R=D-Glu-D-Gal-L-Ram	<i>Solanum dulcamara</i>	17
β -Solamarina	Δ^5 -tomatidenol-3 β , R=D-Glu-D-Gal-D-Glu.	<i>Solanum dulcamara</i>	17

Tabla 5. Continuación...

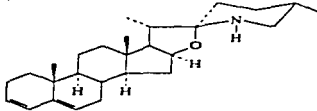
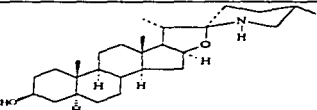
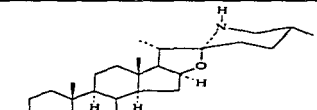
Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento	Ref.
Soladulcamarina	Δ^3 -tomatidenol-3 β . R=L-Ram-D-Glu-D-Ara-L-Ram.	<i>Solanum dulcamara</i>	17
$\Delta^{3,5}$ -Tomatidieno		<i>Solanum dulcamara</i>	17
Tomatidina		<i>Solanum dulcamara</i>	17 y 20
Soladulcina	 R=H	<i>Solanum dulcamara</i>	17
Solamargina	Soladulcina, R= L-Ram-D-Glu-L-Ram.	<i>Solanum xanthocarpum</i> <i>Solanum planifolium</i>	23-24

Tabla 5. Continuación...

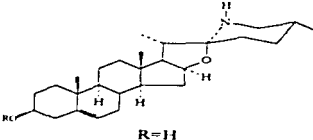
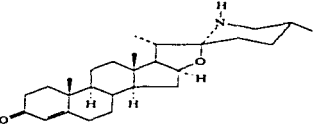
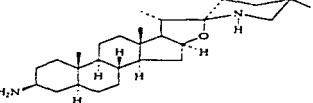
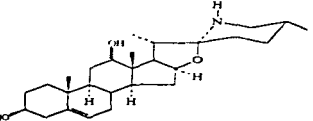
Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento	Ref.
β -Solamargina	Soladulcina, R= -L-Ram-L-Ram.	<i>Solanum xanthocarpum</i> <i>Solanum platanifolium</i> .	23-24
Solasodina	 <p style="text-align: center;">R=H</p>	<i>Solanum dulcamara</i> <i>Solanum incanum</i>	17, 19, 21 y 22.
Solasodenona		<i>Solanum hainanense</i>	26
Soladunalinidina		<i>Solanum dunalianum</i>	27
Solanaviol		<i>Solanum aviculare</i>	29

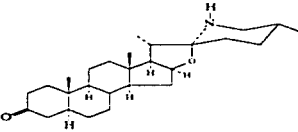
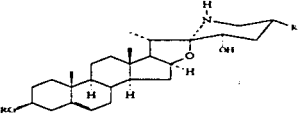
Tabla 5. Continuación...			
Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento	Ref.
Khasianina	Solasodina, R= -D-Glu-L-Ram.	<i>Solanum khasianum</i>	28
5 β -Solasodan-3-ona.		<i>Solanum aviculare</i>	30
Solaverina I	 R= L-Ram-D-Glu-L-Ram, R ₂ = CH ₃ .	<i>Solanum toxicarium</i> <i>Solanum verbascifolium</i>	31
Solaverina II	Solaverina I, R= L-Ram-D-Gal-D-Glu, R ₂ = CH ₃	<i>Solanum toxicarium</i> <i>Solanum verbascifolium</i>	31
Solaverina III	Solaverina I, R= -L-Ram-D-Gal-L-Ram, R ₂ = CH ₂ -OH	<i>Solanum toxicarium</i> <i>Solanum verbascifolium</i>	31

Tabla 5. Continuación...

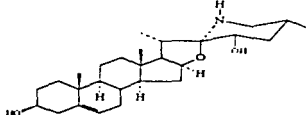
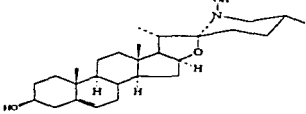
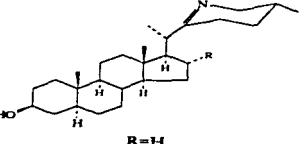
Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento	Ref.
(23S)-23-Hidroxisolasodina		<i>Solanum canense</i> <i>Solanum fraxinifolium</i>	32
N-Hidroxisolasodina		<i>Solanum robustum</i>	32
Anguivina	Solasodina, R = L-Ram-D-Glu-D-Xil	<i>Solanum anguivi</i>	34
Isoanguivina	Solasodina, R = L-Ram-D-Gal-D-Xil	<i>Solanum anguivi</i>	34
Solacongestidina	 <p style="text-align: center;">R=H</p>	<i>Solanum congestiflorum</i>	35

Tabla 5. Continuación...

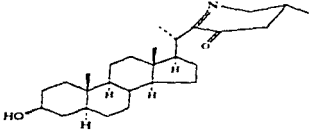
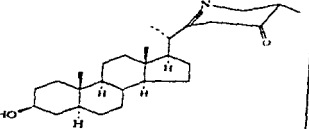
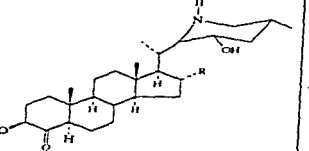
Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento	Ref.
Solafloridina	Solacongestidina, R=OH.	<i>Solanum congestiflorum</i>	35 y 36
23-Oxo-solacongestidina		<i>Solanum congestiflorum</i>	35
24-Oxo-solacongestidina		<i>Solanum congestiflorum</i>	35
Solaflilidina	 <p style="text-align: center;">R=OAc</p>	<i>Solanum ecuadorense</i>	37 y 38
Desacetilsolaflilidina	Solaflilidina, R=OH.	<i>Solanum ecuadorense</i>	37

Tabla 5. Continuación...

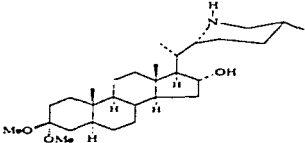
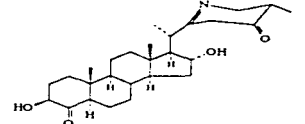
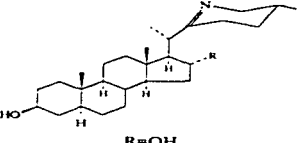
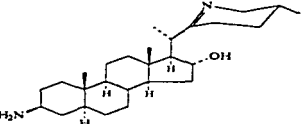
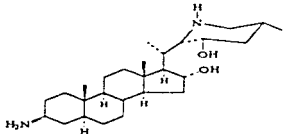
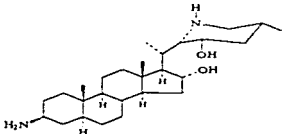
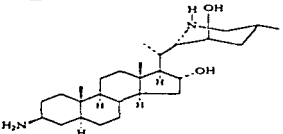
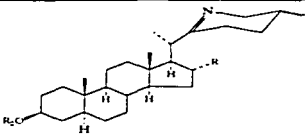
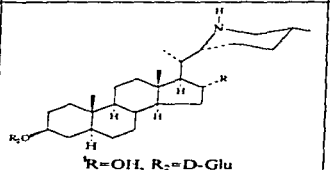
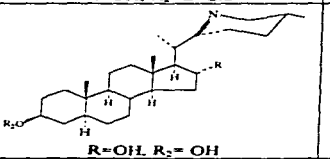
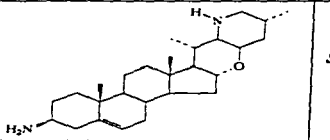
Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento	Ref.
Solaquidina		<i>Solanum pseudoquina</i>	39
Solamaladina		<i>Solanum hypomalacophyllum</i>	40
Isosolafloridina	 <p style="text-align: center;">R=OH</p>	<i>Solanum callium</i>	41
Solacallinidina		<i>Solanum callium</i>	41

Tabla 5. Continuación...			
Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento	Ref.
Isosolacapina		<i>Solanum pseudocapsicum</i> <i>Solanum giganteum</i>	42
Solacapina		<i>Solanum pseudocapsicum</i> <i>Solanum giganteum</i>	42
Episolacapina		<i>Solanum pseudocapsicum</i> <i>Solanum giganteum</i>	42
Havanina		<i>Solanum havanense</i>	43

R=OAc, R₂= -D-Glu

Tabla 5. Continuación...

Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento	Ref.
Capsicastrina	 <p>$R_1=OH, R_2=D-Glu$</p>	<i>Solanum capsicastrum</i>	44
Etiolina	 <p>$R=OH, R_2=OH$</p>	<i>Solanum capsicastrum</i>	44
Isoteinemina	Capsicastrina, $R=OH, R_2=H$	<i>Solanum capsicastrum</i>	44
Solanofortina		<i>Solanum seaforthianum</i>	45
Ravifolina	Solasodina, $R= L-Ram-D-Xil-L-Ram.$	<i>Solanum platanifolium</i>	47

sintomas neurológicos^{41, 52 y 55} y disturbios de la visión en humanos. Se ha comprobado que tienen propiedades teratogénicas^{53 y 56}, produciendo el efecto conocido como *Spina bifida* (partición de la espina dorsal en dos secciones). Aunado a ello, producen necrosis a nivel epitelial como resultado de su actividad tipo saponina que rompe las membranas celulares^{52 y 54}. El humano puede reconocer fácilmente niveles altos de estas sustancias, ya que dan a la papa un sabor amargo en concentraciones de inclusive 140 mg/Kg de peso seco del vegetal; los niveles necesarios para una intoxicación aguda son de aproximadamente 300 mg/Kg de papa⁴.

En *Solanum tuberosum*, los glicoalcaloides están presentes en todas las partes de la planta, como se indica en la tabla 6⁵⁶. Los niveles de glicoalcaloides se ven afectados por el tipo de cultivo, ambiente, clima, exposición a la luz, daño mecánico, etc⁴.

Es necesario hacer notar que la concentración y tipo de alcaloides varían de acuerdo con la especie de papa de que se trate, como lo demuestran los resultados del estudio realizado por Osman *et. al.*⁵⁶, los cuales se ilustran en la tabla 7.

La metodología frecuentemente empleada para el aislamiento de los glicoalcaloides presentes en diferentes especies de *Solanum*, se basa en el hecho de que estas sustancias se encuentran comúnmente como sales hidrosolubles⁵⁷. Como resultado de esto, una preparación que contenga a los glicoalcaloides en crudo se obtiene a partir de un extracto débilmente ácido seguido por una precipitación con NH_4OH a un pH arriba de 10^{57 y 58}. Los glicoalcaloides pueden separarse por otros métodos, como son: cromatografía de capa fina en placa preparativa (CPP)¹⁷, cromatografía en columna^{10 y 58}, cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)⁵⁸, o por cristalización¹⁸⁻²⁶. En todos ellos se aprovechan las propiedades como base y naturaleza glicosídica que presentan las sustancias aisladas.

Para su identificación, se han utilizado técnicas tales como la cromatografía de capa fina y la cromatografía en papel, cluyendo con mezclas de elevada polaridad, y utilizando

⁴¹ Tales como apatía, confusión mental, alucinación y tremor.

para su visualización reveladores químicos que aprovechan sus características químicas, como son el de tricloruro de antimonio, ácido sulfúrico y el reactivo de Dragendorff^{9, 17 y 21}.

Tabla 6. Distribución de glicoalcaloides totales en la planta de papa y en varios tejidos del tubérculo²⁴.

Parte de la planta	Glicoalcaloides totales (mg/100 g de peso fresco)
Partes aéreas	
Brotos	200-400
Flores	300-500
Tallo	3
Hojas	40-100
Tejido normal de tubérculo	
Cáscara (2-3% de tubérculo)	30-60
Parte inferior de la cáscara (10-15%)	15-30
Parte inferior de la cáscara y "ojos"	30-80
Parte inferior de la cáscara tubérculos amargos	150-200
Pulpa	1.2-5.0

En lo que respecta a la determinación cuantitativa de estas sustancias, se han utilizado métodos polarográficos⁹, colorimétricos^{9 y 34}, de cromatografía de gases^{9 y 38}, etc.

TABLA 7. Contenido de glicoalcaloides en especies selectas de *Solanum*¹⁵.

Especie ^a	β -chaconina	α -chaconina	α -solanina	Solamarinas ^b	Demissina	Tomatina	Glicoalcaloides totales (mg/100g peso fresco)
<i>S. ajanhui</i>	3.5	39.6	57.3				--
<i>S. curtilobum</i>		34.8	46.4	5.3	13.4		< 0.1
<i>S. stenotomum</i>	5.5	69.8	27.4				< 0.1
<i>S. juzepczakii</i>		14.0	37.8	7.7	40.4		0.7-1.3
<i>S. acaule</i> 1 ^b					95.5		1.7
<i>S. acaule</i> 2					62.81	30.9	1.4-5.0
<i>S. acaule</i> 3					88.2	11.6	1.4-5.0

^a Todas son especies cultivadas, a excepción de *Solanum acaule*.^b Se analizaron 3 clones de *S. acaule*.^c valor combinado para α y β solamarinas

La elucidación estructural de los glicocaloides del género *Solanum* se ha logrado a través del desarrollo de las técnicas espectroscópicas (IR), la Resonancia Magnética Nuclear (RMN-¹H y RMN-¹³C), la Espectrometría de Masas y la Cristalografía de difracción de Rayos X, las cuales han permitido conocer las diferentes estructuras e inclusive la conformación espacial de tales sustancias.

Además de los glicocaloides, existen en la papa otras sustancias que pueden llegar a provocar efectos nocivos cuando son consumidas, como son: inhibidores de proteasas, lectinas y compuestos fenólicos⁵⁷.

Los tubérculos de papa contienen inhibidores de proteasas. Dentro de este grupo, se incluyen los inhibidores de tripsina, quimi tripsina, kalieireína, y de la hemaglutinina. Se ha informado que la papa inhibe la actividad de la enterocinasa, la cual inicia la cascada de reacciones que activan a las proteinasas digestivas en los animales, por lo que es de esperar que esta inhibición evite la proteólisis digestiva, con lo que estos compuestos se considerarían entonces factores antinutricionales. Los inhibidores presentes en la papa están implicados en la defensa del tubérculo contra el ataque de plagas, o también, se ha pensado que son proteínas de reserva para el desarrollo de la planta de papa⁵⁶.

En lo que respecta a las lectinas, estas tienen la capacidad de aglutinar eritrocitos en numerosos animales, así como en humanos. A la fecha, se han realizado pocos estudios en cuanto a la significancia nutricional de las lectinas de papa, aunque se supone que, bajo ciertas condiciones, estas sustancias puedan provocar también un determinado efecto tóxico⁵⁶.

Muchos reportes indican la presencia de compuestos fenólicos en los tubérculos, follaje y raíces de la papa, en forma de fenoles monohidricos, cumarinas, antocianinas, flavonas y polifenoles. Tales sustancias, se localizan principalmente en la corteza y cáscara de la papa. En los pocos estudios realizados hasta la fecha en cuanto a la toxicidad de compuestos fenólicos presentes en el tubérculo, como son el ácido caféico y el ácido

clorogénico (ver figura 1), se ha encontrado que estas sustancias son tóxicas y teratogénicas, en animales de experimentación, solamente en dosis muy elevadas²⁶.

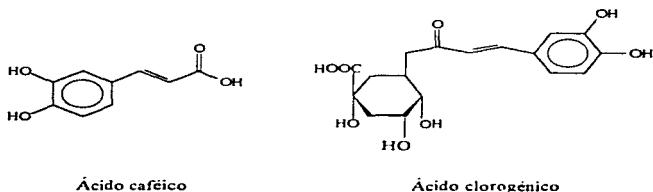


Figura 1. Estructuras de los compuestos fenólicos comúnmente encontrados en la papa.

Además de las sustancias ya mencionadas, numerosas especies de *Solanum* presentan, en sus diferentes órganos, saponinas y sapogeninas con esqueleto esteroidal, tales como la diosgenina²⁹, aculeatisida A²⁹, aculeatisida B²⁹, yamogenina y carpesterol⁶⁰ (ver figura 2). La elevada concentración de tales sustancias en las solanáceas, ha venido a desplazar a la obtención de diosgenina a partir de especies de *Dioscorea*, con el aprovechamiento de las saponinas presentes en *Solanum*, como intermediarios para la síntesis de hormonas esteroidales.

Con base en lo anteriormente expuesto, y aunado a la importancia que tiene *Solanum ehrenbergii* como alimento en la región del altiplano Potosino-Zacatecano, se encuentra el hecho de que esta especie puede clonarse o mezclarse genéticamente con especies cultivadas, con el fin de mejorar la resistencia de estas últimas, o puede pensarse en esta especie de papa como un recurso cultivable que permita obtener los beneficios nutricionales requeridos por la población. Por ello, es necesario conocer el tipo y cantidad de sustancias que puedan interferir con sus propiedades alimenticias, además de ser una

fuentes potenciales de materias primas que sirvan como precursores para la síntesis de hormonas como los corticoesteroides y los testosteroides.

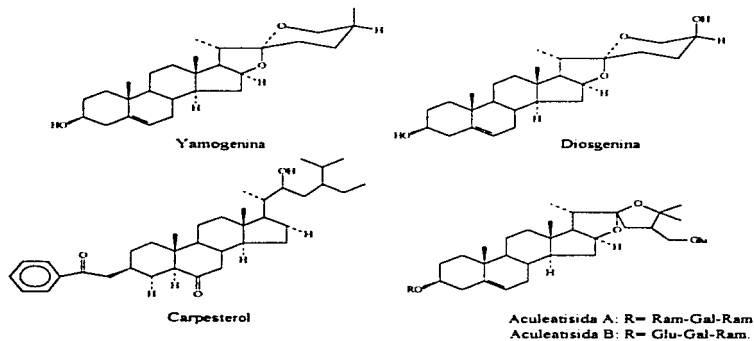


Figura 2. Estructuras de algunas de las saponinas y sapogeninas esteroidales presentes en diferentes especies de *Solanum*.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Las numerosas investigaciones realizadas sobre la composición química y nutricional a diferentes especies del género *Solanum*, han coadyuvado al conocimiento de dichas especies como recursos naturales de gran valía e interés desde diversos puntos de vista (nutricional, químico, farmacológico, económico, agronómico, etc.). En el caso particular de las especies tuberíferas del género *Solanum*, México es un centro importante de variabilidad, en donde se han identificado 33 especies de papa silvestre y alrededor de 20 variedades cultivadas de *Solanum tuberosum*.

Con base en lo anterior, resulta de especial interés el estudio químico de *Solanum ehrenbergii*, papa silvestre mexicana, que es consumida como alimento por los habitantes de los Estados de San Luis Potosí y Zacatecas, con la finalidad de determinar la presencia de factores antinutricionales en la planta, particularmente alcaloides esteroidales, y generar de esta manera los conocimientos que permitan se considere a dicha especie como una alternativa real para el consumo humano, y una fuente importante de materias primas.

4. OBJETIVOS.

4.1. Objetivo general.

Realizar el estudio químico preliminar de las partes aéreas de *Solanum ehrenbergii*, para determinar, identificar y caracterizar los alcaloides esteroidales mayoritarios presentes en dicha especie vegetal.

4.2. Objetivos particulares.

- 1) Recolectar y clasificar el material vegetal, de acuerdo con las técnicas de muestreo adoptadas en los registros, con el asesoramiento de un especialista en botánica.
- 2) Preparar los diferentes extractos a partir del material vegetal seco (partes aéreas), mediante técnicas de extracción sólido-líquido y líquido-líquido con disolventes de polaridad creciente.
- 3) Determinar la presencia de glicoalcaloides en los extractos obtenidos de las partes aéreas, mediante reacciones químicas específicas reportadas en la literatura^{2, 9, 17, 29, 60}.
- 4) Aislar y purificar los glicoalcaloides presentes en los extractos de las partes aéreas de acuerdo con lo determinado en el punto 3, mediante las técnicas químicas adecuadas que permitan la resolución de las mezclas obtenidas.
- 5) Caracterizar e identificar mediante técnicas espectroscópicas UV, IR, RMN-¹H y RMN-¹³C y espectrométricas, las sustancias aisladas en los diferentes extractos, así como con su comparación frente a muestras de referencia (solanidina, α -solanina, α -chaconina y demissidina).

5. HIPÓTESIS DE TRABAJO.

Los estudios químicos realizados a diferentes especies tuberíferas del género *Solanum*, han coadyuvado al conocimiento de dichas especies como recursos naturales de gran importancia desde diferentes puntos de vista (nutricional, químico, farmacológico, económico, etc.). México es un centro importante de variabilidad, de donde se han identificado 33 especies de papa silvestre y alrededor de 20 variedades cultivadas de *Solanum tuberosum*.

Con base en lo anterior, es necesario e importante el estudio de *Solanum ehrenbergii*, variedad de papa silvestre endémica de México que forma parte de la dieta de los habitantes del altiplano Potosino-Zacatecano, con la finalidad de identificar y caracterizar los alcaloides con esqueleto esterooidal presentes en sus partes aéreas, los cuales son sustancias químicas que poseen propiedades tóxicas para el organismo que las consume.

6. MATERIAL.

Material vegetal.

Partes aéreas de *Solanum ehrenbergii* secas y molidas (299 g), recolectadas en San Ángel del Río, Municipio de Salinas, San Luis Potosí, en Octubre 1 de 1994.

Material de vidrio básico.

Columnas de vidrio para cromatografía.

Matraz Erlenmeyer con capacidad para 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 ml.

Matraz Kitazato con capacidad para 125, 250, 500 y 1000 ml.

Matraz balón junta esmerilada 24/40 con capacidad para 100, 250, 1000 y 2000 ml.

Pipeta graduada para entregar 1, 2, 5 y 10 ml.

Equipo para destilación simple y fraccionada.

Frascos viales de vidrio borosilicato ámbar y claros, cuello estándar, con capacidad para 10 y 15 ml.

Frascos viales para muestreo cromatográfico cilíndricos con capacidad para 2 ml.

Cámara de elución para placas preparativas Labsen Sci. Co. de 20 x 20 cm con portaplaques de acero inoxidable.

Matraz con junta esmerilada esférica para rotavapor con capacidad para 1000 ml.

Mantilla eléctrica ADRY para matraz balón con capacidad de 100, 250, 500, 1000 y 2000 ml.

Cámara de elución para cromatofolios con capacidad para 100, 200 y 400 ml de volumen total.

Placa de toque de porcelana y de vidrio.

Equipo.

Aparato Fisher Johns.

Balanza analítica Ainsworth DE Series Mod. 100 A.

Balanza semianalítica OHAUS Mod. E400.

Parrilla de calentamiento con agitación magnética.

Balanza granataria OHAUS Triple Beam 800 series.

Lámpara de luz U. V. mineralight modelo UVGL-25 UV 254/366 nm.

Rotavapor Büchi mod. R-124.

Espectrofotómetro Nicolet FT IR Mod. 5 SX.

Espectrómetro de RMN Varian VXR-3005 (de 300 MHz para ^1H y de 75 MHz para ^{13}C).

Espectrómetro de masas Hewlett-Packard 5985 GC/MS 70 eV.

Espectrómetro de masas JEOL SX102 10 KV.

Sustancias químicas.**Sólidos.**

Cloruro mercuríco (HgCl_2) polvo, reactivo.

Iodo (I_2) cristales, reactivo.

Sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), ACS reagent.

Ioduro de potasio (KI), granular, reactivo.

Ácido fosfomolibdico x-hidratado ($12\text{MoO}_3\cdot\text{H}_3\text{PO}_4\cdot x\text{-H}_2\text{O}$), cristales, reactivo ACS.

Fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4), cristales, reactivo.

Ácido tánico ($\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6$), polvo, reactivo.

Fosfato de sodio dibásico anhidro (Na_2HPO_4), polvo, reactivo.

Ácido (+)-tartárico ($\text{HO}_2\text{CCH}(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{CO}_2\text{H}$), cristales, reactivo.

Ácido cítrico monohidratado ($\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{C}(\text{OH})(\text{CO}_2\text{H})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}\cdot\text{H}_2\text{O}$), granular, reactivo.

Ácido pícrico ($(\text{O}_2\text{N})_3\text{C}_6\text{H}_2\text{OH}$), cristales, reactivo.

Oxinitrato de bismuto (BiONO_3), cristales, reactivo.

Tricloruro de antimonio (SbCl_3), cristales, reactivo.
Silica gel para capa fina 60 G.
Solanidina ($\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{NO}$), cristales 98%.
 α -Solanina ($\text{C}_{42}\text{H}_{73}\text{NO}_{15}$), polvo 95%.
 α -Chaconina ($\text{C}_{42}\text{H}_{73}\text{NO}_{14}$), polvo 95%.
Demissidina ($\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{NO}$), cristales.
Celite 545.
Cromatofolios recubiertos con silica gel Merck Si-Gel 60F₂₅₄.

Líquidos^[1].

Cloroformo (CHCl_3), reactivo analítico.
Metanol absoluto (CH_3OH), reactivo analítico.
Hexano (C_6H_{14}), grado técnico.
Cloroformo, grado técnico.
Acetato de etilo ($\text{CH}_3\text{COO-CH}_2\text{CH}_3$), grado técnico.
Acetona, grado técnico.
Diclorometano (CH_2Cl_2), grado técnico.
Etanol ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$), grado técnico.
Ácido clorhídrico concentrado (HCl), reactivo.
Formaldehído (H_2CO), reactivo.
Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), reactivo.
Ácido fosfórico en solución al 85% (H_3PO_4), reactivo.
Ácido acético glacial ($\text{CH}_3\text{-COOH}$).
Hidróxido de amonio en solución (NH_4OH), reactivo.
p-anisaldhído ($\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4\text{CHO}$), reactivo.

^[1] Los reactivos líquidos grado técnico se purificaron mediante una destilación fraccionada.

7. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.

Solanum ehrenbergii (Bitt) Rydb. se recolectó en un campo de cultivo del poblado de San Ángel del Río, Municipio de Salinas, en el Estado de San Luis Potosí, el día 1° de octubre de 1994. La clasificación e identificación del material estuvo a cargo del M. en C. Mario Luna Cavazos.

Un espécimen representativo de *Solanum ehrenbergii* (Bitt) Rydb.- con número de registro 4116- fué depositado en el herbario FEZA, de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la UNAM.

7.1. Estudio fitoquímico.

El estudio fitoquímico se dividió en dos secciones, las cuales se describen a continuación.

7.1.1. Estudio preliminar: Pruebas a la gota y determinación en CCF para la detección de alcaloides esteroidales.

A partir de 7.65g de partes aéreas, se llevó a cabo la preparación de extractos con diferentes disolventes de polaridad creciente. A cada uno de los extractos se les realizaron las pruebas a la gota con los reactivos indicados en la literatura química especializada- cuya preparación se describe más adelante-, así como reacciones en cromatografía de placa fina^[6], para detectar alcaloides con esqueleto esteroideal.

^[6] Cromatofolios de aluminio recubiertos con sílica gel 60 F₂₅₄, espesor de capa de 0.2 mm.

Con base en los resultados obtenidos se eligieron los extractos con un contenido mayoritario de alcaloides, para realizar sobre ellos el estudio fitoquímico con el total de la planta.

La metodología seguida en el estudio preliminar para determinar alcaloides con esqueleto esteroidal de los diferentes extractos de las partes aéreas de *S. ehrenbergii*, se esquematiza en el diagrama 1.

- Reactivos empleados en la determinación de alcaloides en pruebas a la gota.

Para la determinación cualitativa de los alcaloides presentes en cada uno de los diferentes extractos, se procedió de la siguiente manera: Se trataron para cada reactivo cantidades de 1, 2 y 4 mg de cada uno de los extractos. Las pruebas se realizaron de acuerdo con lo requerido en cada caso, y se consideró positiva la prueba sólo si se notaba el cambio respectivo para cada reacción reportado en la bibliografía.

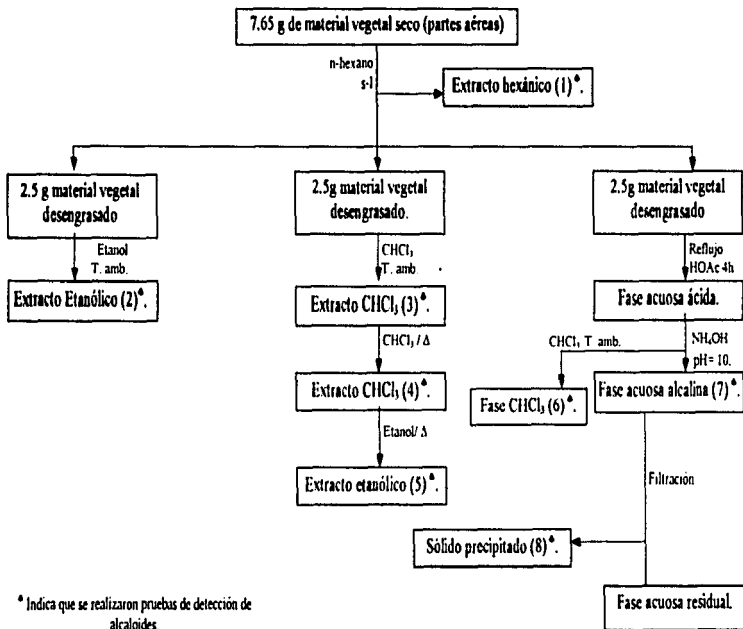
- Reactivo de Mayer^{27, 41}.

Se disolvieron 1.358g de cloruro mercúrico en 60 ml de agua destilada, y se disolvieron por separado 5.0 g de ioduro de potasio en 10 ml de agua. Las dos soluciones se mezclaron y se llevó a 100 ml. La formación de un precipitado amarillo-crema, era indicativo de una reacción positiva cuando se adicionaba el reactivo a la muestra.

- Reactivo de Hagger^{27, 41}.

Se preparó una solución saturada de trinitrofenol (ácido picrico). La formación de un precipitado amarillo o la aparición de cristales es indicativa de una reacción positiva.

Diagrama 1. Determinación de alcaloides en los diferentes extractos de *Solanum ehrenbergii*, partes aéreas, por medio de las pruebas a la gota y reacciones en CCF.



* Indica que se realizaron pruebas de detección de alcaloides.

- Reactivo de Marquis⁶².

A una alícuota de extracto, se le agregó una parte de formaldehído en solución al 37% y después con cuidado se adicionaron 5 partes de ácido sulfúrico concentrado. La aparición de una coloración violácea-rojiza, es considerada como una reacción positiva.

- Reactivo de Wagner⁶¹.

Solución, en 25 ml de agua, de yodo (500 mg) y yoduro de potasio (1.5 g). La aparición de un precipitado café-rojizo sugiere una reacción positiva de alcaloides.

- Reactivo de Scheibler⁶¹.

Solución de ácido fosfomolibdico al 2.5%. La aparición de un precipitado blanco en presencia de la muestra, denota una reacción positiva de alcaloides.

- Reactivo de ácido tánico².

Solución al 55% de ácido tánico en agua. La formación de un precipitado coposo blanco, es indicativa de la presencia de alcaloides.

- Reactivo de Dragendorff^{2, 61}.

Se suspendieron 1.7 g de óxido de bismuto y 20 g de ácido (+)-tartárico en 40 ml de agua. A la suspensión anterior se agregaron 16 g de KI en 40 ml de agua, se agitó durante una hora y se filtró la solución, recibiendo en un frasco protegido de la luz. Antes de utilizar, se mezclaban 5 ml de la solución con 15 ml de agua. La aparición de un precipitado café-rojizo sugiere la presencia de alcaloides en la muestra.

- Reveladores empleados en la detección de alcaloides con esqueleto esterooidal por medio de CCF¹⁷.

- Reactivo de Marquis⁴².

Se adicionaron 0.2-1.0 ml de formaldehído al 37% a 10 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se roció la placa eluida en un sistema benceno-metanol (5:1) y se calentó por 20 min, a 110°C. La coloración violácea, es indicativa de la presencia de alcaloides.

- Reactivo de Carr-Price⁹.

Se preparó una solución al 23% de tricloruro de antimonio en cloroformo. El revelador se esparció en la placa y ésta se calentó en una parrilla hasta la aparición de señales rosadas, violetas o azules, lo cual indica reacción positiva para compuestos esteroidales que contienen al menos un doble enlace.

- Reactivo de *p*-anisaldehído¹⁷.

Se mezclaron 0.5 ml de *p*-anisaldehído, 9 ml de etanol al 95%, 0.5 ml de ácido sulfúrico concentrado y 0.1 ml de ácido acético glacial. Se reveló la placa y se calentó hasta la aparición de los colores verde oscuro (posiblemente α -solanina), azul (α -solamarina), café (α -chaconina) o púrpura rojo (β -solamarina).

¹⁷ En todos los casos que se menciona comparación con muestra auténtica, ésta proviene de estándares de algunos de los alcaloides más comunes en el género, como son la solanidina (clave S 7881), demissidina (clave D 5649), α -chaconina (clave C 3768) y α -solanina (clave S 3757), de Sigma Chem Co.

7.1.2. Análisis químico de los extractos, con base en la detección presuntiva de alcaloides por medio de reacciones específicas.

A partir de 270.87 g de las partes aéreas de *Solanum ehrenbergii*, se prepararon los diferentes extractos que dieron un mayor número de pruebas positivas con los reactivos específicos para alcaloides. La preparación de los extractos y el trabajo químico realizado se esquematiza en el Diagrama 2.

Al comparar por CCF los extractos B^[9] y C^[10], se observó que éstos eran muy similares, en cuanto a la presencia de alcaloides esteroidales, así como con la fase acuosa D^[10]. Con el fin de obtener un mayor rendimiento de los compuestos de interés (alcaloides con esqueleto esteroideal), se decidió reunir B y C, y tratarlos con HOAc 10% a reflujo por 4 horas. Por tal motivo, la fase acuosa ácida D, es la suma de la parte soluble en ácido acético-etanol-agua de los extractos B y C, así como del residuo vegetal después de obtener el extracto C.

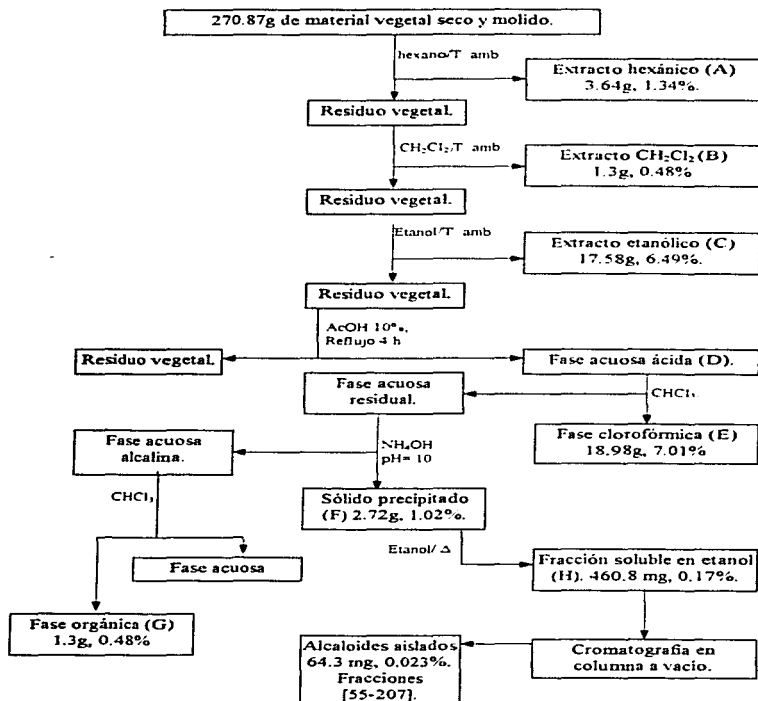
La fracción II -proveniente de la precipitación de la fase acuosa con base y posterior solubilización con etanol- se trató de purificar por cromatografía en columna a vacío (CCV). Esta fracción (460.8 mg), se adsorbió en 450 mg de celita, los cuales se depositaron en una columna con sílica gel-G para capa fina (23.02 g) con unas dimensiones de 4 cm de diámetro por 15 cm de altura. La columna se eluyó con mezclas de acetona-etanol de polaridad creciente, y después se cambió a mezclas de etanol-metanol-NH₄OH de polaridad creciente, en las que se mantuvo constante la proporción de hidróxido de amonio (0.5 %). Se obtuvieron un total de 233 fracciones de 25 ml cada una.

De la fase II, trabajada en la columna cromatográfica, se lograron separar gran cantidad de impurezas, mas la mezcla de alcaloides presente no se logró resolver. La purificación se logró gracias a la recristalización de las fracciones [55-207], eluidas con

[9] extracto diclorometánico.

[10] extracto etanólico.

[10] del tratamiento de las partes aéreas con HOAc 10% en reflujo.

Diagrama 2. Estudio fitoquímico de las partes aéreas de *Solanum ehrenbergii*.

acetona-etanol (85:15) hasta etanol puro y etanol-metanol-NH₄OH (95:4.5:0.5 hasta 50:49:1).

De los compuestos purificados, se llevó a cabo el análisis de sus propiedades físicas- pf., espectroscópicas- IR, RMN-¹H y RMN-¹³C- y espectrométricas- por Impacto Electrónico y FAB*.

8.- RESULTADOS.

8.1. Determinación cualitativa de alcaloides esteroidales en los diferentes extractos

8.1.1. Pruebas a la gota.

Los resultados obtenidos de las pruebas a la gota para la detección de alcaloides se concentran en la Tabla 8. El número que se indica en la columna denominada "extracto", es el que corresponde al dado en el diagrama 1 (pag. 40).

8.1.2. Determinación en CCF.

8.1.2.1. Reactivo de Marquis.

La CCF en la que se aplicaron los diferentes extractos, se eluyó con benceno-metanol (5:1), y se reveló con el reactivo de Marquis para CCF. En el caso de los extractos 2, 5, 6, 7 y 8, se obtuvieron reacciones positivas para la detección de alcaloides. En 2, 5 y 7, se detectó la presencia de α -solanina (R_f 0.25)¹¹¹ y α -chaconina (R_f 0.22)¹¹², al contrastar con las muestras auténticas.

¹¹¹ Se reportan para este alcaloide, los siguientes R_f : Cloroformo-metanol-hidróxido de amonio (2:2:1), 0.35, 0.26, 0.33 y 0.55; Cloroformo-metanol-ácido acético (50:45:5), 0.63, 0.20, 0.25 y 0.70; Cloroformo-metanol-agua (50:50:10), 0.47 y 0.66; butanol saturado con agua, 0.22 y 17⁸.

¹¹² Se reportan para este alcaloide, los siguientes R_f : Acetato de etilo-piridina-agua (3:1:3), 0.35, 0.22, 0.32, 0.46; butanol-acetona-agua (4:5:1), 0.38, 0.23, 0.32, 0.43, 0.33 y 0.77; Cloroformo-etanol-hidróxido de amonio 1% (2:2:1), 0.50, 0.56 y 0.42⁸.

Tabla 8. Pruebas a la gota para la detección de alcaloides de acuerdo con el Diagrama 1.

Extracto	Mayer ¹¹⁶			Hager ¹¹⁶			Wagner ⁶			Dragendorff ⁶			Marquis ⁷			SbCl ₅ ⁸			Ac. tánico ³			Scheibler ⁴		
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+
3	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+

8.1.2.2. Reactivo de *p*-anisaldehído.

El sistema utilizado para eluir la placa fué benceno-metanol (5:2). Los resultados con este revelador, se concentran en la tabla 9.

Tabla 9. Resultados de las pruebas en CCF con el reactivo de <i>p</i>-anisaldehído.	
Extracto	R_f de las sustancias en las que se observó reacción positiva.
1	1) Sustancia muy polar.
3	1) Sustancia muy polar. 2) 0.9.
4	1) 0.5. 2) 0.9.
2 y 5	1) 0.1. 2) 0.45 (α -solanina). 3) 0.55 (α -chaconina). 4) 0.8. 5) 0.9.
7	1) Sustancia muy polar.

8.1.2.3. Reactivo de tricloruro de antimonio.

Al eluir las CCF en el sistema metanol-hidróxido de amonio (200:3), se obtuvieron resultados positivos en los extractos 2, 3, 4, 5 y 7. En 2 y 7, se identificaron por CCF α -solanina (R_f 0.55) y α -chaconina (R_f 0.70).

Con base en los resultados del estudio preliminar, se decidió probar con la metodología que se muestra en el diagrama 2 (pag. 46) para la extracción, aislamiento y purificación de alcaloides con esqueleto esteroideal, por lo que se trató el material vegetal de la forma descrita anteriormente y como se detalla a continuación.

8.2. Estudio fitoquímico de las partes aéreas de *Solanum ehrenbergii*.

A partir de 270.87 g de material vegetal seco y molido, se procedió a realizar el desengrasado del mismo (extracto A). Una vez hecho esto, se prepararon los extractos diclorometánico (B) y etanólico (C) por lixiviación del material vegetal en cada uno de los disolventes. Al comparar los extractos por CCF, en cromatoplacas de silica gel eluidas con MeOH-NH₄OH (200:3) y reveladas con SbCl₅, se notó que en ambos se encontraban los alcaloides α -solanina (I) y α -chaconina (II). Dado que la finalidad del estudio era la purificación de glicoalcaloides con esqueleto esterooidal, se decidió reunir ambos extractos con el propósito de obtener un rendimiento mayor de las sustancias de interés.

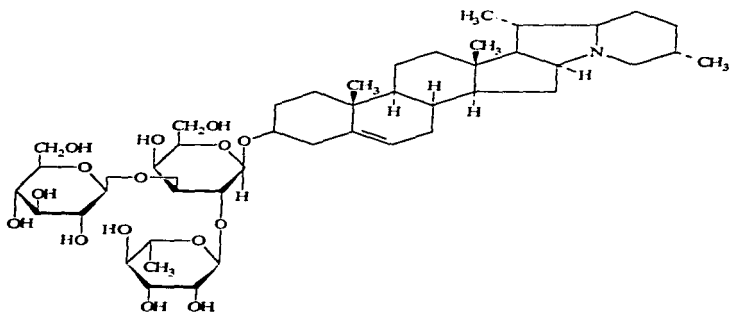


Figura 3. α -solanina (I).

Con el residuo vegetal resultante de la obtención del extracto C, se llevó a cabo un reflujo de 4 h con HOAc-EtOH-H₂O (10:45:45). De la misma forma se trataron los

extractos reunidos (B) y (C). Al comparar por CCF, se decidió reunir ambas fracciones, lo que dió como resultado la fase acuosa ácida (D), a la cual se le realizaron una serie de extracciones líquido-líquido con cloroformo; en la fase clorofórmica no se detectaron alcaloides con esqueleto esterooidal.

La fase acuosa ácida (D) se trató con NH_4OH hasta obtener un pH de 10. De éste procedimiento, resultaron la fase acuosa alcalina y el sólido precipitado F; en éste último, se detectó la presencia de los compuestos de interés en este estudio. La fase acuosa alcalina se extrajo de manera discontinua con CHCl_3 y en ninguna de las fases liquidas se encontró la presencia de alcaloides.

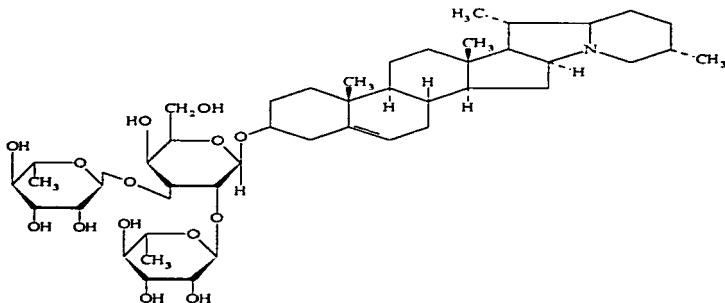


Figura 4. α -chaconina (II).

Dado el conocimiento de las características de solubilidad de los glicoalcaloides de *Solanum* en disolventes orgánicos de elevada polaridad, se realizó al sólido (F) una

extracción sólido-líquido con etanol caliente, con lo que al separar por filtración esta mezcla, se obtuvo la fracción soluble en etanol (II), en la que se observaron nuevamente los alcaloides esteroidales en CCF. En el sólido residual no se notó la presencia de éstos.

En la fase II, se encontraron los glicoalcaloides α -solanina (I) y α -chaconina (II), pero tales compuestos formaban parte de una compleja mezcla de un número apreciable de sustancias de solubilidad similar. Al tratar de recrystalizar directamente la fase II, no se lograba una buena separación de las sustancias, ya que había interferencias al momento de intentar esta estrategia por parte de los compuestos que acompañaban a los glicoalcaloides. Con la finalidad de separar a éstos de las otras sustancias, así como de tratar de resolver la mezcla de ambos alcaloides, se realizó una CCV a la fase II. Como resultado, se logró eliminar gran parte de las impurezas que contenía la mezcla de glicoalcaloides, más no se logró resolver ésta última, la cual apareció en las fracciones [55-207], eluidas con acetona-EtOH y EtOH-MeOH-NH₄OH de polaridad creciente; por lo que todas las fracciones que la contenían se reunieron.

8.2.1. Purificación de la α -solanina (I).

De las fracciones [55-207], se llevó a cabo la cristalización fraccionada por par de disolventes con una mezcla EtOH-MeOH. Tras repetidas cristalizaciones, se logró el aislamiento de un sólido blanco, en forma de copos (7.9 mg); en CCF, eluida con MeOH-NH₄OH (200:3) y comparando con muestras de glicoalcaloides como referencia, empleando como revelador tricloruro de antimonio, se observó que éste sólido presentaba el mismo R_f que la α -solanina (I). En las aguas madres se determinó la presencia de éste alcaloide y de la α -chaconina (II).

Dado el resultado anterior, los 7.9 mg de este sólido impuro se recrystalizaron a partir de una mezcla EtOH-H₂O (85:15). De esta recrystalización, se obtuvieron 5.7 mg (0.0021%) de un sólido blanco en forma de agujas muy finas, largas, el cual presentó el mismo R_f (0.55), en el sistema de elución MeOH-NH₄OH (200:3), que una muestra

auténtica de α -solanina (I). Al determinar el punto de fusión de éste sólido, se encontró que a los 248 °C se empieza a tornar amarillo, a los 258-259 °C se hace gelatinoso, para fundir finalmente con total descomposición entre los 263-265 °C⁽¹¹³⁾.

Los datos espectroscópicos y espectrométricos de éste compuesto se enlistan a continuación.

Espectro 1- IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3420, 2927, 2848, 2782, 1636, 1452, 1380, 1255, 1143 y 1070 cm^{-1} .

Espectro 2- EM (FAB⁺ voltaje acelerado 10 KV)⁽¹¹⁴⁾, m/z (% de abundancia relativa): 870 (1.2), 869 (6.67), 868 (2.33), 867 (2.2), 823 (0.4), 735 (0.6), 721 (0.5), 707 (0.33), 705 (0.4), 613 (0.53), 592 (0.33), 527 (0.46), 460 (3.4), 399 (1.73), 398 (0.86), 397 (2.13), 381 (2.6), 380 (6.67), 379 (1.1), 378 (1.73), 341 (1), 329 (1.47), 307 (2), 289 (14), 257 (2), 204 (2), 151 (8), 150 (3).

8.2.2. Purificación de la solanidina (III).

Las aguas madres de donde se obtuvo la α -solanina (I), se mezclaron con 20 ml de HCl acuoso al 20% v/v. La mezcla resultante se sometió a un reflujo durante 2 horas. Una vez terminado éste, la mezcla de reacción se dejó reposar y se le adicionó NH₄OH hasta alcanzar un pH de 10. La fase alcalina resultante se extrajo con CHCl₃ (5 x 5ml). El extracto clorofórmico se secó con Na₂SO₄ anhidro, y se concentró a 10 ml. A la fase orgánica resultante, se le adicionó MeOH absoluto. Tras repetidas cristalizaciones con el sistema MeOH-CHCl₃, se lograron purificar 6.2 mg (0.0023%) de un sólido blanco en

⁽¹¹³⁾ En la literatura se informa que la α -solanina (I) tiene una T_f de 284-286 °C, 262-263°C, y 276-278°C, esta última se determinó por calorimetría⁶³.

⁽¹¹⁴⁾ La muestra se desorbió de una matriz de alcohol nitrobenzílico usando átomos de Xe a 3 KeV. Las mediciones se llevaron a cabo a una resolución de 10000 con barridos de campo magnético y Ultramark como material de referencia.

forma de agujas largas, el cual tiene el mismo R_f [0.75, en el sistema MeOH: NH_4OH (200: 3)], que la solanidina (III). El sólido presentó un punto de fusión de $203\text{-}205\text{ }^\circ\text{C}^{(15)}$.

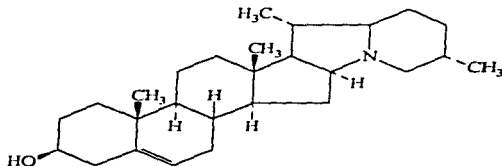


Figura 5. solanidina (III).

Los resultados del análisis espectroscópico y espectrométrico, se enlistan a continuación.

Espectro 3- IR ν_{max} (CHCl_3) cm^{-1} : 3612, 2951, 2929, 2869, 2848, 2788, 2748, 1456, 1377, 1139, 1043 y 1018 cm^{-1} .

Espectro 4- EM (I.E., 70 eV), m/z (% de abundancia relativa): 399 [$\text{M}^+ - 2$, 2], 398 [$\text{M}^+ - 1$, 12.7], 397 [M^+ , 44.9], 396 (22.8), 382 (14.4), 368 (2.5), 256 (2.9), 236 (2.1), 204 (31.4), 178 (4.2), 151 (14.8), 150 (100), 136 (5.1), 98 (7.2), 69 (5.9), 57 (7.6), 55 (6.4) y 43 (5.5).

Espectro 5- RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , TMS), δ (ppm): 140.82 (C-1), 121.68 (C-6), 74.65 (C-22), 71.78 (C-3), 63.04 (C-17), 61.03 (C-16), 60.23 (C-26), 57.61 (C-14), 50.22 (C-9), 42.29 (C-4), 40.28 (C-13), 39.93 (C-12), 37.26 (C-1), 36.60 (C-20), 33.36 (C-15), 32.05 (C-7), 31.64 (C-2 y C-8), 31.33 (C-25), 31.07 (C-24), 29.28 (C-23), 20.90 (C-11), 19.48 (C-19), 19.37 (C-27), 18.25 (C-21) y 16.48 (C-18).

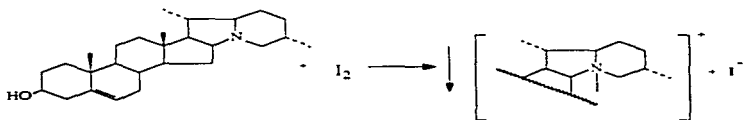
⁽¹⁵⁾ en la bibliografía, se informa un punto de fusión de $207\text{-}208\text{ }^\circ\text{C}$, e inclusive valores de $222\text{-}224\text{ }^\circ\text{C}$.

Espectro 6- RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS), δ (ppm): 5.34 (*d*, *J*= 4.8 Hz, 1H), 3.5 (*m*, *W*_{1/2} = 53.73 Hz, 1H), 3.47 (*s*, 1H), 2.835 (*dd*, *J*= 10.2 y 3.6 Hz, 2H), 2.605 (*m*, 2H), 2.27-2.08 (*m*, 2H), 0.99 (*s*, 3H), 0.91-0.89 (*d*, *J*= 6.6 Hz, 3H), 0.80 (*s*, 3H).

9. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

9.1. Pruebas a la gota.

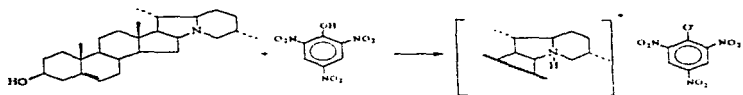
Como se puede notar en la tabla 8, las pruebas con los Reactivos de Mayer y Dragendorff fueron de las que más resultados positivos brindaron. La explicación de esto se fundamenta en que estos compuestos forman productos complejos de adición con los alcaloides, los cuales son insolubles (Mayer) y/o coloridos (Dragendorff). Las estructuras de estos compuestos no son bien conocidas, debido a que se presume que su naturaleza es muy compleja⁶¹. Otro de los reactivos utilizados, el de Wagner, es de los más indicados en la literatura para realizar las pruebas presuntivas de la presencia de alcaloides, ya que la adición de yodo a este reactivo produce la halogenación del nitrógeno presente en el compuesto orgánico, por medio de una reacción de óxido-reducción, formando un compuesto insoluble en agua⁶¹, como se ilustra en el esquema 1.



Esquema 1. Reacción de la solanidina con el reactivo de Wagner.

Otros reactivos, que aprovechan las propiedades de bases débiles que presentan los alcaloides, son los que contienen ácidos de elevado peso molecular. El reactivo de Scheibler forma sales insolubles de los alcaloides por combinación del compuesto orgánico con ácido fosfomolibdico ($H_3PO_4 \cdot 12MoO_3$), el cual se comporta como un ácido de Lewis por la presencia del molibdeno enlazado con oxígeno. En el caso de los reactivos de Hager y ácido tánico, ambos contienen sustancias que son o que se comportan como ácidos

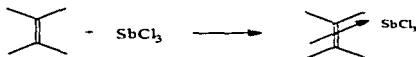
forman también sales insolubles en presencia de la base⁶¹. Lo anterior se ilustra con la reacción del ácido picrico y la solanidina (esquema 2):



Esquema 2. Reacción entre la solanidina y el reactivo de Hagger.

El reactivo de $SbCl_3$ presentó solamente dos reacciones positivas. En este caso, se aplica la utilización de este reactivo en especial para compuestos esteroidales con al menos una doble ligadura en su esqueleto. Sólo se presentó reacción positiva en dos de los extractos en el estudio preliminar, en los cuales se supone haya mayor cantidad de este tipo de sustancias.

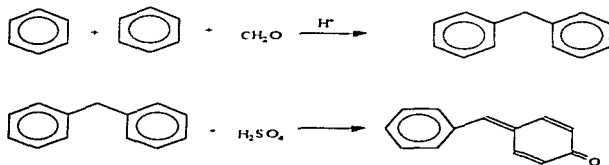
En el caso del sólido 8, se explica la reacción positiva debido a la presencia de alcaloides esteroidales con insaturación entre los carbonos 5 y 6; en la fase acuosa, se puede explicar la reacción debido a que en ella pueden existir saponinas que en sus esqueletos esteroidales contengan la doble ligadura. El fundamento de la aparición del color se debe a la formación de un complejo π con el (los) sistema(s) que contienen doble enlace, como son las vitaminas D y A, carotenoides, terpenoides, esteroides, saponinas, flavonoides, etc⁶². El complejo se ejemplifica en el Esquema 3:



Esquema 3. Formación de un complejo colorido entre una doble ligadura y el reactivo de tricloruro de antimonio.

El reactivo de Marquis es uno de los menos confiables para la detección de alcaloides, sobre todo en pruebas a la gota. La desventaja de utilizar este método se debe a que el reactivo puede provocar condensación de compuestos aromáticos con el formaldehído, y luego oxidar a los compuestos diarilmetilénicos a productos coloridos quinoides (prueba de Le Rosen para compuestos aromáticos), lo que le dá muy poca especificidad, ya que dará coloración con cualquier compuesto aromático⁶⁴. Esto explica el resultado positivo con el extracto hexánico. La reacción que se dá en presencia de tales sustancias se muestra en el esquema 4. La reacción positiva en el sólido 8, podría deberse a la presencia de derivados del fenilpropano, como son: los ácidos caféico, cumárico, cinámico, ferúlico, entre otros, los cuales están presentes en todas las plantas, ya que son unidades básicas para la formación estructural de las mismas. Estos compuestos, al ser aromáticos, pueden muy fácilmente dar reacción positiva en presencia del reactivo de Marquis.

Los resultados positivos en la prueba de Marquis con los alcaloides pueden deberse a la formación de compuestos de condensación del grupo carbonilo presente en el formaldehído y el nitrógeno básico del alcaloide, en medio ácido. Esto puede suponerse, más no se conoce bien la estructura del compuesto cromóforo que pudiera formarse⁶⁵.



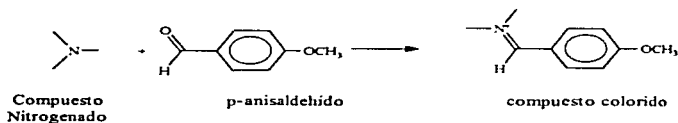
Compuesto cromóforo, rojo-violeta (Le Rosen)

Esquema 4. Ejemplo de la reacción de Le Rosen, entre un compuesto aromático y el formaldehído en solución ácida⁶².

9.2. Pruebas en placa.

Ya se explicaron las posibles reacciones con SbCl_3 y el reactivo de Marquis en párrafos anteriores. En la cromatografía en capa fina, se puede tener mayor confiabilidad de las pruebas, debido a que la elución separa los componentes de la mezcla y es posible hacer la reacción con cada uno de ellos sin que se presenten interferencias por parte de otros componentes de la mezcla, aprovechando para comparar con muestras auténticas. Cabe aclarar aquí que la gran sensibilidad del reactivo de tricloruro de antimonio y la reproducibilidad obtenida con éste al revelar las placas que contenían alcaloides, fueron los factores que se tomaron en cuenta para tenerlo como un reactivo "estándar" para la visualización de alcaloides de la papa en los diferentes extractos.

El reactivo de *p*-anisaldehído es también muy conveniente para la detección de alcaloides esteroidales y aminas. El nitrógeno presente se condensa con el carbonilo del *p*-anisaldehído, dando como resultado compuestos cromóforos que ayudan a visualizar a las sustancias con nitrógeno básico (ver esquema 5). El color se intensifica en medio ácido, ya que es más fácil que se forme el compuesto con el nitrógeno con carga positiva⁴⁴.



Esquema 5. Reacción entre el *p*-anisaldehído y un compuesto nitrogenado, para dar como resultado la formación de un compuesto colorido.

Este reactivo sirve también para la detección de esteroides, ya que reacciona con ellos de una manera aún no bien determinada; se postula que ocurren varias reacciones no cuantitativas, en las que intervienen los cationes ciclopentenilo en los esteroides en medio

ácido como intermediarios, que se condensan con el anisaldehído para formar compuestos coloridos. Este suceso podría explicar la diferencia de colores que se informan en la bibliografía, cuando se utiliza este reactivo para detectar alcaloides esteroidales con diferentes estructuras^{62, 64}.

9.3. Elucidación estructural de los alcaloides purificados de *Solanum ehrenbergii*.

9.3.1. Análisis de los espectros de infrarrojo de las sustancias I y III^{62, 64}.

En el espectro de IR de la sustancia I, se observa una banda en 2927 y 2848 cm^{-1} , que corresponde a la $\nu(\text{C-H})$ de carbonos con hibridación sp^3 ; además, se observan bandas propias de los metilos en 1452 y 1380 cm^{-1} .

Aunado a lo anterior, la banda de 3420 cm^{-1} puede atribuirse a la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares debido a la presencia de los grupos hidroxilo de los azúcares en la molécula. La banda de 1636 cm^{-1} es propia de carbonos con hibridación sp^2 , cuya presencia fué determinada por la reacción positiva con el reactivo de Carr-Price en CCF. La banda a 1255 cm^{-1} es propia de la $\nu(\text{O-H})$, y la de 1070 cm^{-1} del enlace $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$, presentes ambos en los anillos de las piranosas unidas a la aglicona.

Para el espectro de la sustancia III, se nota claramente la banda asignable a la $\nu(\text{OH})$ de la solanidina, a 3612 cm^{-1} , el cual se comprueba por las bandas en 1139 cm^{-1} , que corresponde a la $\nu(\text{C}-\text{O})$, y las bandas a 1043 y 1018 cm^{-1} , que se atribuyen a los grupos hidroxilo en posición β -ecuatorial unidos al C-3 en el esteroide. Se observan además las bandas de los metilos presentes en la molécula en 2951 y 2869 cm^{-1} , así como en 1456 y 1377 cm^{-1}) y las de metilenos en 2927 y 2848 cm^{-1} .

Ahora bien, la comparación del espectro de infrarrojo de la sustancia **I** con respecto a otros alcaloides aislados de *Solanum*, permite diferenciar de manera parcial los dos tipos principales de estructuras que puede presentar un glicoalcaloide.

Por ejemplo, para el Δ^5 -tomatiden-3 β -ol¹⁷⁻¹⁹ (**IV**), se observa en 3350-3310 cm^{-1} la $\nu(\text{N-H})$ de un grupo amino secundario, mientras que entre 1240-1070 cm^{-1} , aparecen las bandas correspondientes a la $\nu(\text{C-O-C})$ del grupo espiroaminocetal, el cual se encuentra sólo en el anillo E de las agliconas de los espirosolanos (ver figura 6)¹⁶¹.

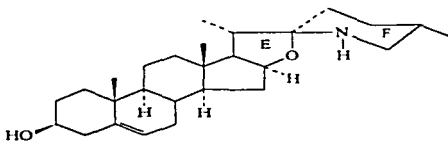


Figura 6. Δ^5 -tomatiden-3 β -ol¹⁷⁻¹⁹ (**IV**)

Los epiminocolestanos, como: la solacongestidina³⁵ (**V**, figura 7) y solafloridina³⁵⁻³⁶ (**VI**, figura 7), son otro grupo de alcaloides esteroidales, los cuales se diferencian en su espectro de IR de los alcaloides del tipo solanidano por la banda de absorción entre 1660-1650 cm^{-1} , que corresponde a la $\nu(\text{C=N})$.

Para el caso de los alcaloides que presentan un grupo amino primario unido en la posición 3 del esteroide, como es la solanopubamina¹⁴ (**VII**, figura 8), se visualiza una señal a 3420-3100 cm^{-1} , atribuible al grupo hidroxilo [$\nu(\text{-OH})$] y al amino primario [$\nu(\text{N-H})$]; la diferencia para este tipo de sustancias radica en que presentan una banda de absorción entre

¹⁶¹ Las bandas que se reportan en el espectro de IR para el Δ^5 -tomatiden-3 β -ol¹⁷⁻¹⁹, son las siguientes: 3320, 2920, 2840, 1167, 1450, 1379, 1340, 1267, 1248, 1215, 1186, 1175, 1140, 1046, 975, 965 y 865 cm^{-1} .

1610-1590 cm^{-1} (para VII, 1605-1595), la cual aparece cuando la molécula incluye a una amina primaria en su estructura.

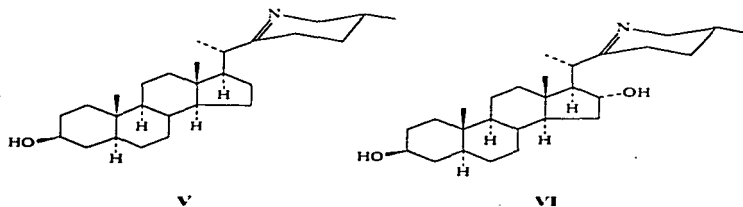


Figura 7. Estructuras de los alcaloides solacongestina³⁵ (V) y solafloridina^{35,36} (VI)

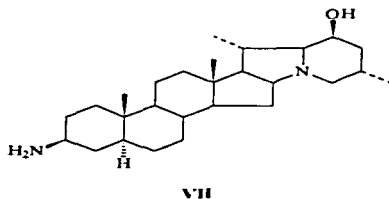
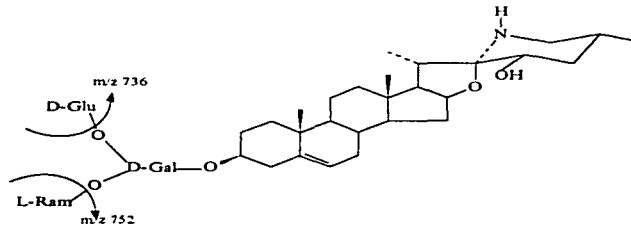


Figura 8.- solanopubamina¹⁴ (VII).

9.3.2. Análisis de los espectros de masas de las sustancias I y III^{47,48}.

El espectro de masas de la sustancia I, mostró un pico a 868 m/z [M^+], el cual corresponde a la fórmula $C_{15}H_{17}NO_{15}$ ($\Omega=10$) de la α -solanina. Junto con este pico, se encontraron otros a 870 [$M + 2H^+$], 869 [$M + H^+$], y 867 [$M - H$].

En el esquema 6, se muestra el patrón de fragmentación de la solaverina II^[17], propuesto por Yamashita *et al.*^[1]. Al obtener el espectro de masas empleando la técnica de FAB⁻, se observaron los picos correspondientes a los fragmentos con una m/z 898 [M - H]⁻, m/z 752 [M - Rannosa]⁻ y m/z 736 [M - Glucosa]⁻[18].

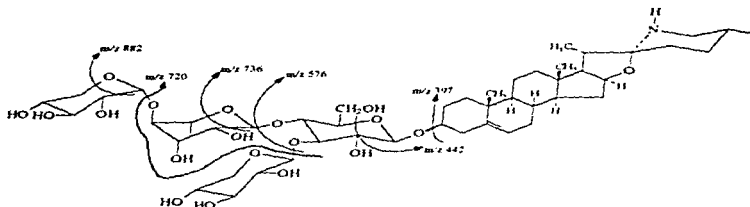


Esquema 6. Patrón de fragmentación parcial de la solatriosa en la solaverina II^[1].

Por otro lado, Lin *et al.* reportan que el patrón de fragmentación para la fracción glicosídica de la incanumina (ver esquema 7), al realizar su EM por la técnica de ionización FAB⁺, ocurre con la pérdida del fragmento C₄H₈O₄, observándose los siguientes fragmentos: a m/z 968 [M]⁺, 882 [M - C₄H₈O₄]⁺, 736 [M - Xil - C₄H₈O₄]⁺, 720 [M - Xil - Xil]⁺, 442 [M - Xil - Ram - Xil - C₂H₄O₄]⁺, 576 [M - Xil - Xil - Ram + 2H]⁺ y 397 [M - tetraosa]⁺. Con base en la propuesta anterior, se puede justificar la formación de los siguientes fragmentos para la α -solanina: m/z 722 [M - Ram + H]⁺, 721 [M - Ram]⁺, 707 [M - Glu + 2H]⁺ y 705 [M - Glu]⁺, como se ilustra en el esquema 8.

[17] Solaverina I, II y III, fueron aisladas de las partes aéreas de *Solanum toxicarium* y *Solanum verbascifolium*. La hidrólisis ácida de la solaverina II, dió como producto de reacción al solaverol A y a la β -solatriosa. Esta última corresponde a: 3-O- α -L-ramnopiranosil-(1-2)-[β -D-glucopiranosil-(1-3)]- β -D-glucopiranosido.

[18] Yamashita *et al.*, informan la presencia del fragmento de m/z 736, que asocian con la pérdida de glucosa y rannosa [M - Ram - Glu]. Sin embargo, a tal fragmento le corresponde un pico de m/z 590, ver esquema 6.

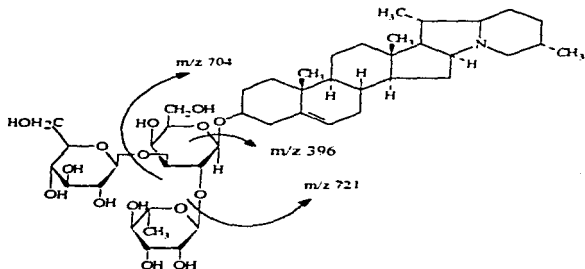


Esquema 7. Patrón de fragmentación de la región glicosídica de la incanumina⁴⁹.

Además, puede proponerse la existencia de algunos fragmentos en el espectro 2 de la siguiente manera: m/z 736 $[M - \text{Glu} + \text{CHOH}_2]^+$, 735 $[M - \text{Glu} + \text{CHOH}]^+$, 751 $[M - \text{Ram} + \text{CHOH}]^+$ y 750 $[M - \text{Ram} + \text{CHO}]^+$. Algo que es necesario mencionar, es que no se presenta un ión a m/z 616, el cual correspondería, de acuerdo con lo propuesto por Lin *et. al.*, a $[M - \text{Ram} - \text{Glu} + \text{CHO}]^+$, pero aparece un ión a 614 que se puede asignar a $[M - \text{Ram} - \text{Glu} + \text{CHO} - 2\text{H}]^+$. Tampoco aparece un fragmento a m/z 560, $[M - \text{Glu} - \text{Ram} - 2\text{H}]^+$, propio de la $[\gamma\text{-solanina}]^+$, correspondiente al tipo de fragmentación propuesto por Yamashita. Es por ello, que la asignación de cada señal debida a la ruptura de la región glucosídica es sólo una aproximación, que requiere estudios más a fondo para poder verificarse.

En el espectro de masas de la solanidina (III) por impacto electrónico, se observan fragmentos de m/z 399 $[\text{C}_2; \text{H}_4; \text{NO} + \text{H}]^+$ y 398 $[\text{C}_2; \text{H}_3; \text{NO} + \text{H}]^+$; el ión molecular de la solanidina aparece en m/z 397, y su fórmula es $\text{C}_2; \text{H}_4; \text{NO}$ ($\Omega=7$). El siguiente fragmento importante, que implica la pérdida de un metilo, aparece en m/z 383 para $[M - \text{CH}_3]^+$. Después de éstos, se presentan los fragmentos de m/z 204, para el ión α , y en m/z 150,

correspondiente al ión Δ de acuerdo con lo propuesto por Budzikiewicz⁷⁰, los cuales se muestran en el esquema 9.

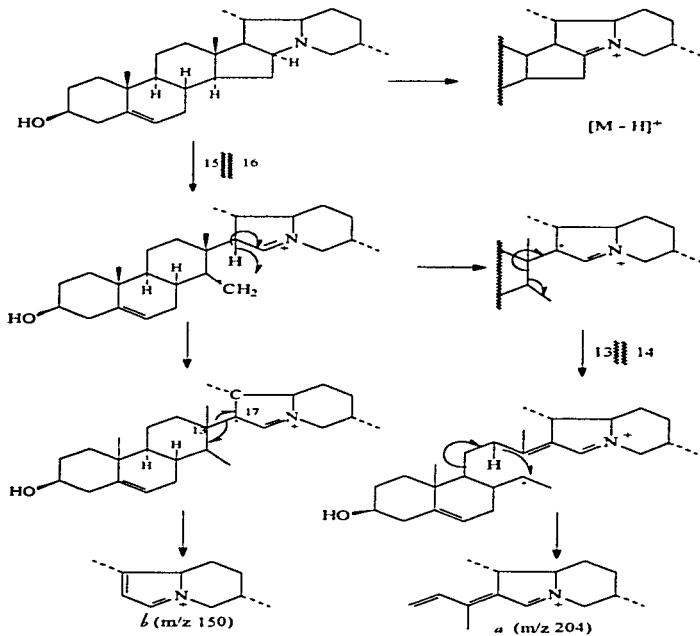


Esquema 8. Patrón de fragmentación de la región glucosídica de la α -solanina.

La formación de los fragmentos a y b en el patrón de fragmentación en estas moléculas, sirve para determinar el tipo de esqueleto base que presentan los alcaloides esteroidales.

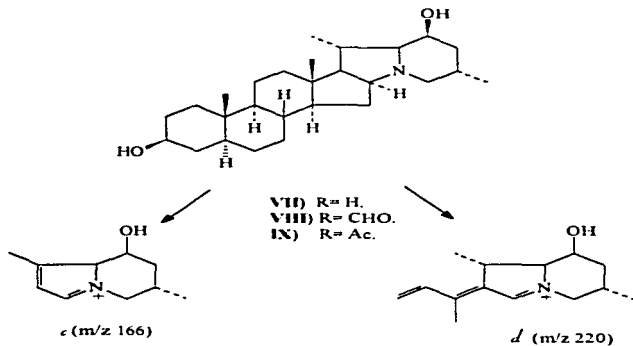
A continuación, se ejemplifica este tipo de fragmentación con los otros tipos de estructuras encontrados para alcaloides esteroidales, pudiéndose observar que las variaciones que presenta cada tipo de estructura en particular, redundan en la aparición de fragmentos que difieren de los normalmente encontrados en los esqueletos de los solanidanos.

a) En el caso de la solanopubamina (VII), la solanopubamida A (VIII) y la solanopubamida B (IX), las cuales son 3-amino análogos de solanidanos, la existencia de los



Esquema 9. Patrón de fragmentación de la solanidina, propuesto por Budzikiewicz⁶².

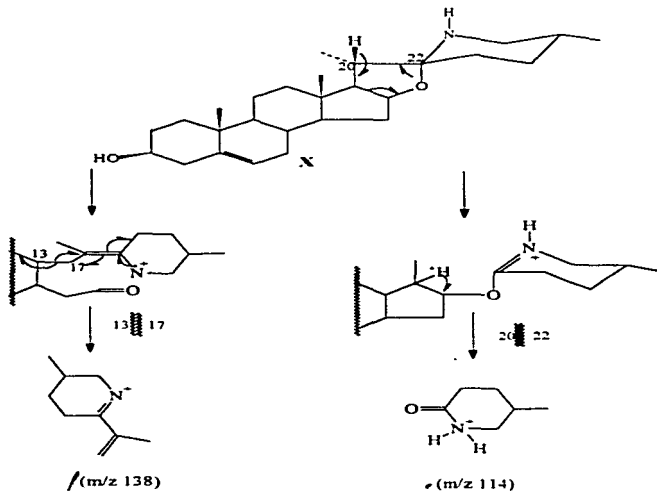
iones ϵ (m/z 166, 16 unidades mayor que b) y d (m/z 220, 16 unidades mayor que a), indican la presencia de oxígeno (grupo OH) en el anillo F¹⁴, como se demuestra en el esquema 10. Cabe señalar que la presencia de ϵ y d no se puede observar en alcaloides como I y III.



Esquema 10. Fragmentación parcial de alcaloides con esqueleto de solanidano hidroxilados en el anillo F.

b) Para alcaloides con esqueleto del tipo espirosolanano, como el Δ^5 -tomatiden-3 β -ol (IV)¹⁸⁻¹⁹ y la solasodina (X)^{19, 20}, ocurre la presencia de un ión muy característico en m/z 114 (ϵ); el cual es similar al de las sapogeninas esteroidales, tales como la diosgenina (sólo que en ésta última, aparece a m/z 115, por tener un átomo de oxígeno en lugar del nitrógeno), así como otro fragmento importante a m/z 138 (f); ambos son producto de la

ruptura del anillo tetrahidrofurano del alcaloide, como se ejemplifica en el esquema 11 para la solasodina (X)⁶⁶.



Esquema 11. Patrón de fragmentación de la solasodina (X).

Los fragmentos e y f sirven para diferenciar muy bien a los espirosolanos de los solanidanos, y variaciones en los valores de m/z de éstos fragmentos dan una idea de que la molécula presenta también importantes cambios en cuanto a los sustituyentes que soporta.

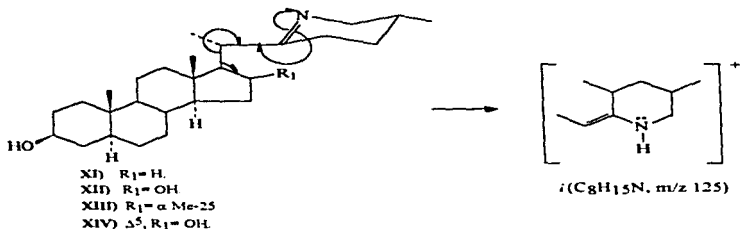
Cuando ocurre la introducción del grupo hidroxilo en el anillo F de un espirosolano, inequívocamente se obtienen los iones a m/z 154 ($g = f + 16$) y 130 ($h = e + 16$), como se ha observado para la (23S)-23-hidroxisolasodina¹² (ver figura 9).



Figura 9. Iones que se obtienen a partir de la fragmentación de un espirosolano, sustituido en el anillo F con un grupo hidroxilo.

c) Para los alcaloides esteroidales como la solacongostidina (XI)³⁵, solafloridina (XII)³⁵, 25-isosolafloridina (XIII)⁴¹ y etiolina (XIV)⁴⁴, el ión a m/z 125, es indicativo del anillo F tetrahidropiridinio, como se demuestra en el esquema 12.

Cuando en el C-23 o en el C-24 se encuentra un grupo carbonilo de cetona, como en la 23 o 24-oxosolacongostidina, ocurre la presencia de un pico intenso en m/z 139³⁵, representativo del ión j ($i + 14 m/z$), el cual se presenta en la figura 10.



Esquema 12. Patrón de fragmentación de alcaloides con anillo F tetrahidropiridinio.

Los dihidroderivados de la solacongestidina, dan como resultado la aparición del ión k (m/z 98), ya que la fragmentación ocurre de la manera que se muestra en el esquema 13.

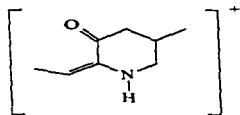
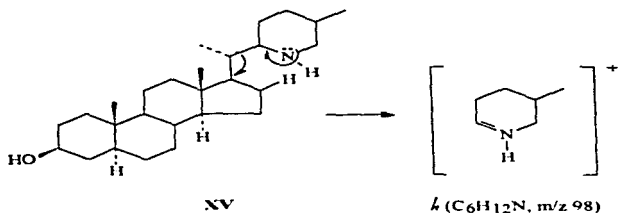


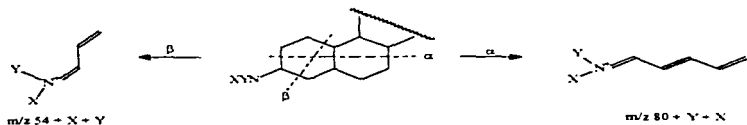
Figura 10. Estructura del ión k el cual se presenta cuando existe un grupo carbonilo en el anillo F de alcaloides esteroidales.

De igual forma que en los casos a y b, ya reseñados, los fragmentos propios de los análogos de la solacongestidina no se presentaron en los EM de las sustancias aisladas en el estudio.



Esquema 13. Fragmento principal en la ionización de la dihydrosolacongestidina (XV).

d) Para los derivados de los 3-aminoalcaloides, los fragmentos más importantes son los obtenidos para la ruptura de los anillos A y B¹⁶, ya que tales especies químicas dan idea de la sustitución que presenta el grupo amino en posición 3, y son, de nuevo, fragmentos diagnósticos no sólo para estos compuestos, sino también para los 3,20- diaminopregnanos⁶⁸ y 3-aminoconainas⁶⁸, que no se presentan en los solanidanos. Este tipo de fragmentos, se representa en el esquema 14.



Esquema 14. Patrón de fragmentación para los 3-aminopregnanes en los anillos A y B¹⁶.

Como resultado de lo anterior, se tiene para la solanocapsina (XVI)¹⁶, solacasina (XVII)¹⁶ y solanocastina (XVIII)⁷⁰, cuyas estructuras se representan en la figura 11, iones a

m/z 56 (f) y m/z 82 (m), propios de la sustitución en el carbono 3 por parte de una amina primaria. La sustitución en cualquiera de los carbonos 1-7 por otro grupo funcional, conlleva a las variaciones en m/z correspondientes a la adición para el peso del fragmento¹⁶.

La ausencia de los iones descritos en los incisos a-d en el espectro de los alcaloides aislados de *Solanum ehrenbergii*, junto con los datos de IR, apoyan de manera contundente que las sustancias en cuestión presentan como esqueleto base el de un solanidano. Así mismo, el análisis de los espectros de RMN-¹³C y RMN-¹H permite establecer totalmente la orientación y/o posición de los sustituyentes presentes en dichos compuestos.

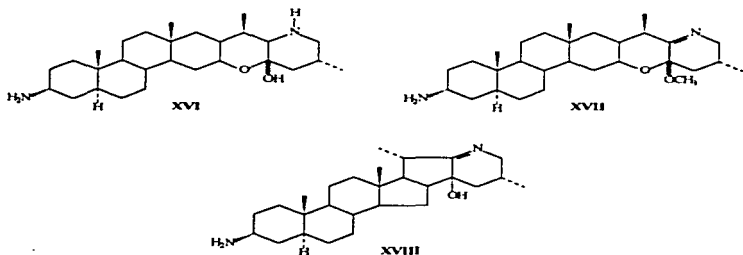


Figura 11. Estructuras de los alcaloides solanocapsina (XVI)¹⁶, solacasina (XVII)¹⁶ y solanocastrina (XVIII)⁷⁰.

9.3.3. Discusión del espectro de RMN-¹³C de la solanidina (III)^{66, 71}.

En la tabla 10, se enlistan los valores de desplazamientos químicos asignados para los 27 átomos de carbono de la solanidina (III) obtenida en este estudio. Así mismo, se enumeran los desplazamientos químicos de los alcaloides demissidina⁷⁰ (XIX),

Tabla 10.- Desplazamientos químicos (δ ppm, TMS, CDCl_3) para alcaloides esteroidales con esqueleto tipo solanidano y espirisolanolano

Carbono	III	XIX ⁷²	X ⁷²	XX ⁷²	XXI ⁷³	XXII ⁷⁴
1	37.26	37.1	37.3	37.0	37.9	35.8
2	31.64	31.6	31.5	31.5	32.5	34.1
3	71.78	71.3	71.7	71.0	51.5	109.3
4	42.29	38.3	42.3	38.2	39.4	124.0
5	140.82	45.0	140.9	44.9	45.7	171.0
6	121.68	28.8	121.3	28.6	29.6	32.9
7	32.05	32.3	32.1	32.3	32.5	32.2
8	31.64	35.4	31.5	35.0	35.3	35.3
9	50.22	54.6	50.2	54.4	54.7	53.9
10	36.60	35.6	36.7	35.5	35.8	38.8
11	20.90	21.1	20.4	21.1	21.4	21.0
12	39.93	40.2	40.0	40.2	40.5	39.9
13	40.28	40.6	40.5	40.9	41.1	40.8
14	57.61	57.4	56.6	55.8	56.0	55.8
15	33.36	33.5	32.1	32.6	33.0	32.3
16	61.03	69.0	79.0	78.5	78.8	79.0
17	63.04	63.3	62.9	62.0	62.4	62.9
18	16.84	17.1	16.4	16.9	17.2	16.6
19	19.48	12.4	19.3	12.3	12.5	17.5
20	36.60	36.7	41.3	43.0	43.0	41.4
21	18.25	18.3	15.2	15.8	16.2	15.4
22	74.65	74.7	98.4	99.3	99.4	98.4
23	29.28	29.3	34.1	26.6	27.6	34.1
24	31.07	31.1	30.3	28.6	29.0	30.3
25	31.33	31.3	31.5	31.0	31.4	31.3
26	60.23	60.2	47.6	50.2	50.6	47.7
27	19.37	19.5	19.3	19.3	19.8	19.4

solasodina⁷² (X), tomatidina⁷² (XX), soladunalinidina²⁷ (XXI) y solasodenona³⁰ (XXII), los cuales fueron asignados en los estudios químicos correspondientes a cada referencia.

Como se observa en la tabla 10, los valores de desplazamiento químico asignados para la solanidina (III) aislada en este estudio, son acordes con los informados para la misma⁷⁰. Los desplazamientos químicos de los diferentes átomos de carbono, se encuentran en los siguientes rangos aproximadamente: 16-20 ppm, para carbonos primarios de alcanos (C-18, C-19, C-21 y C-27); 20-42 ppm, carbonos secundarios (C-1, C-2, C-4, C-7, C-11, C-12, C-15, C-23 y C-24); 31-64 ppm, carbonos terciarios (C-8, C-9, C-14, C-17, C-20 y C-25); 36-40 ppm, para carbonos cuaternarios (C-10 y C-13); en 72 ppm para un carbono unido al grupo hidroxilo (C-3); 121-140 ppm para carbonos olefinicos (C-5 y C-6); así como de 60-75 ppm, para carbonos adyacentes a un átomo de nitrógeno de una amina terciaria (C-16, C-22 y C-26)⁶⁹.

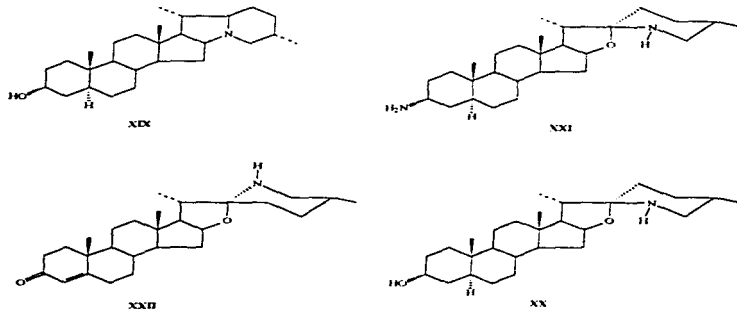


Figura 12. Estructuras de los alcaloides demissidina (XIX)⁷², tomatidina (XX)⁷², soladunalinidina (XXI)²⁷ y solasodenona (XXII)³⁰.

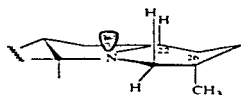
Ahora bien, al comparar el espectro de RMN-¹³C de la solanidina (III) con el de la demissidina (XIX), la cual es otro solanidano, se observa que los desplazamientos de los carbonos 5 y 6 en XX, se encuentran a campo más alto que los carbonos olefinicos 5 y 6 de III. Es notable el efecto de desprotección que se observa, para el carbono 4, en la solanidina y otros compuestos con insaturación entre los carbonos 5 y 6, el cual ya no aparece cuando se ha eliminado el doble enlace, como en el caso de la demissidina ($\Delta\delta = 4$ ppm).

Como se puede observar, por otro lado, hay un efecto de desprotección en los carbonos 8 y 9 cuando la insaturación en C-5 desaparece; esto es debido muy probablemente, a las diferencias que se presentan con respecto al denominado efecto β . En el caso de los alcanos ocurre una contracción de orbitales, debida al volumen de los sustituyentes en posición β (C-5 y C-6) con respecto a C-8 y C-9, lo que ocasiona aumentos en el desplazamiento químico de hasta 9.4 ppm⁻¹. Cuando está presente un alqueno, el efecto β es menor, ya que a través de un enlace σ adyacente a un doble enlace, se nota un aumento de 7.0 ppm⁻¹. Para los carbonos en discusión, la diferencia en desplazamiento químico es aproximadamente $\Delta\delta = 3.76$ para el C-8, y $\Delta\delta = 4.38$ ppm para el C-9.

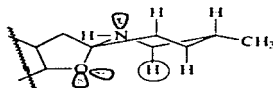
Para el carbono en la posición 22, hay un incremento en su desplazamiento químico de aproximadamente 24 ppm, ya que pasa de ser un átomo de carbono unido a nitrógeno de amina terciaria en los solanidanos, a formar parte del sistema espiroaminocetal de los espirosolanidanos; en estos últimos, el C-22 sufre desprotección por el efecto electroattractor de los átomos de oxígeno y nitrógeno en posición α al mismo, lo que ocasiona que se desplace a campo bajo, situación similar sufren los átomos de carbono en posición 20, 21 y 23; sin embargo, el efecto de desprotección es mucho menor.

Para el carbono 26, en los espirosolanos (XX, XXI y XXII), se observa que se encuentra desplazado a campo más alto, en comparación a los mostrados en el C-26 de los solanidanos; una explicación a ello podría consistir en que el protón en posición α unido a C-26 en los espirosolanos, sufre una repulsión en su nube electrónica, la cual es desplazada

al núcleo del átomo de carbono, por efecto de las interacciones de Van Der Waals que generan los pares de electrones libres del átomo de oxígeno unido al C-22 y C-16, lo cual se ilustra en el esquema 15.



Anillos E y F de solanidanos
no se observa interacción de H del C-26.



Anillos E y F de espirosolanos, en los
que se observa la interacción de H de C-26
con pares de electrones libres del oxígeno de C-22

Esquema 15. Interacción que presenta el protón axial en el C-26 con respecto a los electrones libres del oxígeno en los espirosolanos.

9.3.4. Análisis del espectro de RMN-¹H de la solanidina (III).

En el espectro de RMN-¹H de la solanidina (III), se observa en δ 5.34, una señal doble ($J = 4.8$ Hz) que integra para un protón, que corresponde al hidrógeno vinílico de la posición 6, ya que para las olefinas, los electrones sp^2 se acercan mas al átomo de carbono, con lo que dejan desprotegido al átomo de hidrógeno, y éste aparece a un campo mas bajo, como se ilustra en la figura 13. La posición de H-6 y su multiplicidad, se han reportado para otros alcaloides aislados de *Solanum*: para el Δ^3 -tomatiden-3 β -ol (IV') H-6 aparece a 5.33 ppm⁷³; para la solasodina (X) a 5.31 ppm⁴⁷; solasonina (XXIII), 5.23 ppm⁴⁷; khasianina (XXIV) multiplete en 5.23 ppm⁴⁷ y camtschatcanidina (XXV), un multiplete a 5.44 ppm⁷². En la Figura 13, se ilustra el sistema ABB' que forman H-6 y los dos protones de C-7.

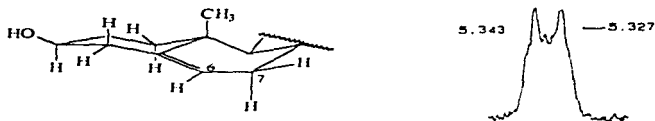


Figura 13.- Representación del anillo B de la solanidina, donde se observa la interacción entre H-6 y H-7.

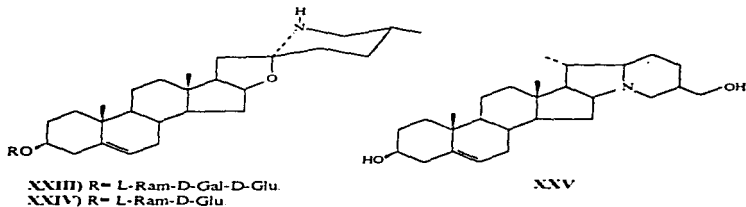


Figura 14.- Estructuras de la solasonina (XXIII), khasianina (XXIV)⁴⁷ y la camtschatcanidina (XXV)⁷².

En aproximadamente 3.5 ppm, se observa una señal múltiple, que corresponde al H-3_a pseudoecuatorial de alcaloides como la solasodina (X)⁴⁷ (δ 3.42), solasonina (XXIII)⁴⁷ (δ 3.50). Cabe aclarar aquí que la señal aparece como un multiplete, ya que el H-3_a se acopla con los protones del C-4 y del C-2, los cuales no son equivalentes. El singulete en 3.47 ppm, corresponde al protón del grupo hidroxilo de la posición 3, lo cual se demuestra en su espectro de RMN-¹H con D₂O, como se puede observar en el esquema 16.

La señal en 2.835 ppm, aparece como una señal doble de doble ($J = 10.2$ y 3.6 Hz), la cual integra para 2 protones que corresponden al H-26, por aparecer unidos a un átomo de

carbono que a su vez está enlazado a un átomo de nitrógeno; estos protones se ven desplazados a campo bajo por el efecto electrotractor del nitrógeno de la amina terciaria. El desplazamiento para H-26 en diferentes alcaloides, se asigna cercano a este valor: Δ^5 -tomatidien-3 β -ol (IV, $\delta = 2.74$)⁷³; tomatidina (XX, $\delta = 2.73$)⁷³; solasodina (X, $\delta = 2.58$ y 2.54, α y β respectivamente), solasonina (XXIII) (δ 2.52 y 2.38 ppm, α y β respectivamente).



Esquema 16. Reacción de intercambio de hidrógeno que ocurre entre el grupo hidroxilo de la solanidina (III) y el agua deuterada, la cual se manifiesta en el espectro de RMN-¹H de esta sustancia.

En δ 2.605 ppm, aparece un multiplete que integra para 2 protones, el cual puede asignarse a H-16 y a H-22, también desprotegidos por estar unidos al carbono cercano al átomo de nitrógeno.

Finalmente, se observa una señal múltiple entre 2.272 y 2.208 ppm, que integra para dos protones. Para la solasodina (X)⁴⁷, se asignó a los hidrógenos unidos a C-4 ($\delta = 2.24$ y 2.16) y para la solasonina (XXIII)⁴⁷, $\delta = 2.41$ y 2.18 ppm. El desplazamiento químico observado para estos núcleos, se debe a que son protones alílicos, que se ven afectados debido a que los electrones de enlace de los carbonos sp^2 se concentran en los núcleos de los C-5 y C-6, por lo que se genera un efecto electrotractor sobre los hidrógenos que se localizan en posición alílica y vinílica, provocando con ello un desplazamiento a campo bajo.

10. CONCLUSIONES.

Se llevó a cabo el estudio fitoquímico preliminar de la especie de papa silvestre mexicana *Solanum ehrenbergii* (Bitt) Rydb. A partir de este estudio, se conoce que los glicoalcaloides con esqueleto esteroidal, se encuentran mayoritariamente en extractos de polaridad muy alta (extracto ácido alcohólico), y en menor grado, en extractos tales como el clorofórmico, en el cual se podrían encontrar alcaloides en forma de aglicona. Esta distribución de alcaloides en los diferentes extractos, se logró conocer mediante la utilización de una serie de reacciones químicas con reactivos específicos para alcaloides. Además de lo anterior, se logró establecer la identidad de algunos de los alcaloides esteroidales presentes en los diferentes extractos, utilizando para ello la cromatografía de capa fina en diferentes sistemas de elución y empleando como reveladores químicos reactivos específicos, así como con la comparación de sus R_f con estándares de alcaloides esteroidales aislados previamente de otras especies de *Solanum*.

La utilización de diferentes técnicas de extracción (sólido-líquido y líquido-líquido), de cromatografía (placa fina, cromatografía en columna a vacío, etc), y la cristalización fraccionada, permitió la purificación de alcaloides esteroidales, como:

- α -solanina (Solanid-5-en-3 β -O-[α -L-ramnopiranosil-(1-2-gal)-O- β -D-glucopiranosil-(1-3 gal)- β -D-galactopiranosido]).
- α -chaconina (Solanid-5-en-3 β -O-[α -L-ramnopiranosil-(1-2-gal)-O- β -L-ramnopiranosil-(1-3 gal)- β -D-galactopiranosido]).
- Solanidina (solanid-5-en-3 β -ol).

Se logró identificar y caracterizar a la α -solanina y a la solanidina por medio de la comparación de sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas, así como por la discusión y comparación con datos informados previamente en la literatura.

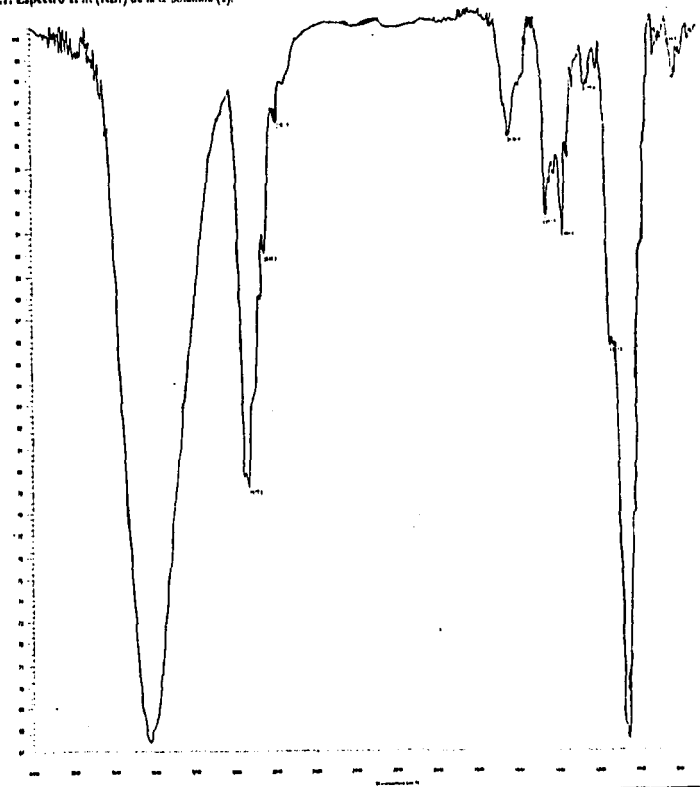
11. SUGERENCIAS.

1. Es necesario llevar a cabo el estudio del tubérculo de *Solanum ehrenbergii* de manera integral (cáscara y pulpa), con el fin de conocer la identidad y cantidad de los glicoalcaloides presentes en el mismo, y que pudieran interferir con sus propiedades alimenticias.
2. Se sugiere probar los diferentes métodos de extracción de alcaloides reportados en la literatura, para conocer la eficiencia que puedan brindar cuando sea necesario llevar a cabo una cuantificación de estos compuestos.
3. Debe desarrollarse una metodología para el aislamiento de otras sustancias consideradas como factores antinutricionales presentes en el género, tales como los fenilpropanoides y las saponinas esteroidales, con el fin de llevar a cabo una evaluación más precisa de la toxicidad potencial de esta especie de papa.
4. Es además importante, el desarrollar una metodología analítica que involucre técnicas experimentales precisas (HPLC, CG, etc), que permitan cuantificar e identificar los alcaloides obtenidos en este estudio y aquellos que se lleguen a encontrar en una menor concentración.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

12. Espectros de las sustancias aisladas.

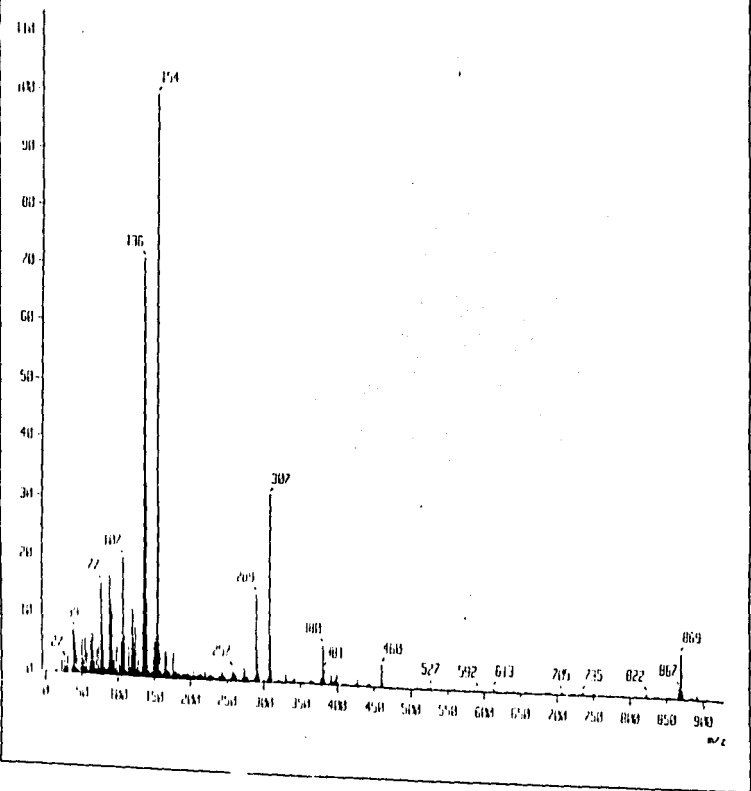
12.1. Espectro I. IR (KBr) de la α -solanina (I).



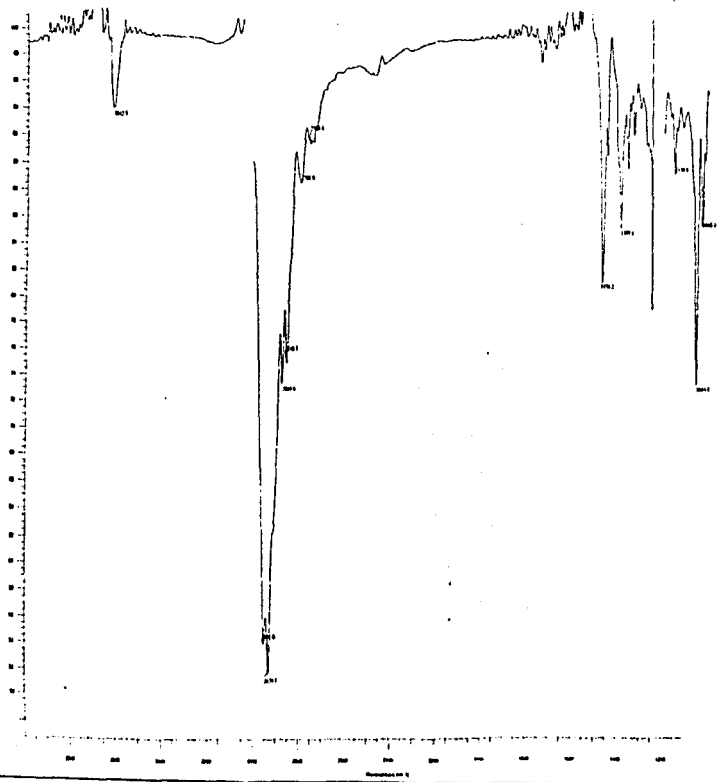
Espectros de las sustancias analizadas.

Estudio fitoquímico preliminar de *Solanum elaeagnifolium* 81

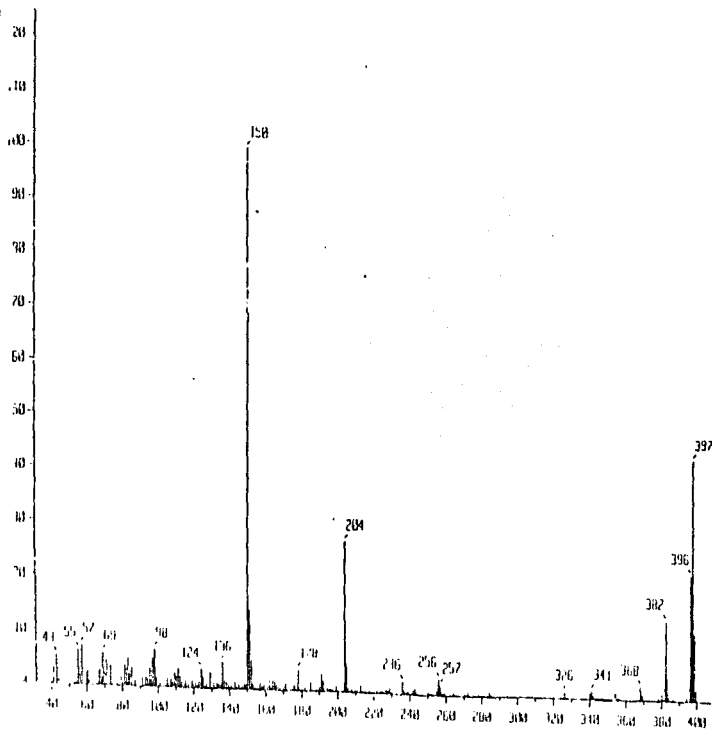
12.2. Espectro 2. EM (FAB, 3 KeV) de la α -solanina (I).



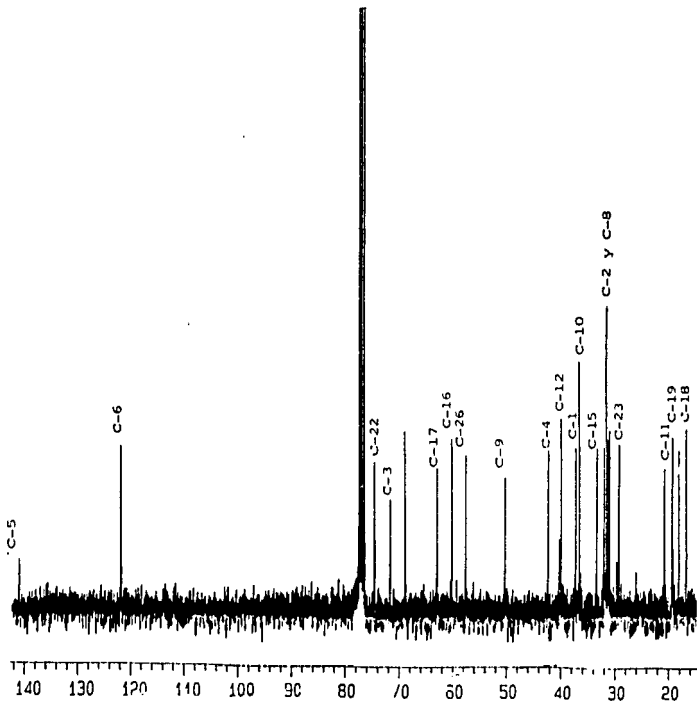
12.3. Espectro 3. IR (KBr) de la solanidina (III)



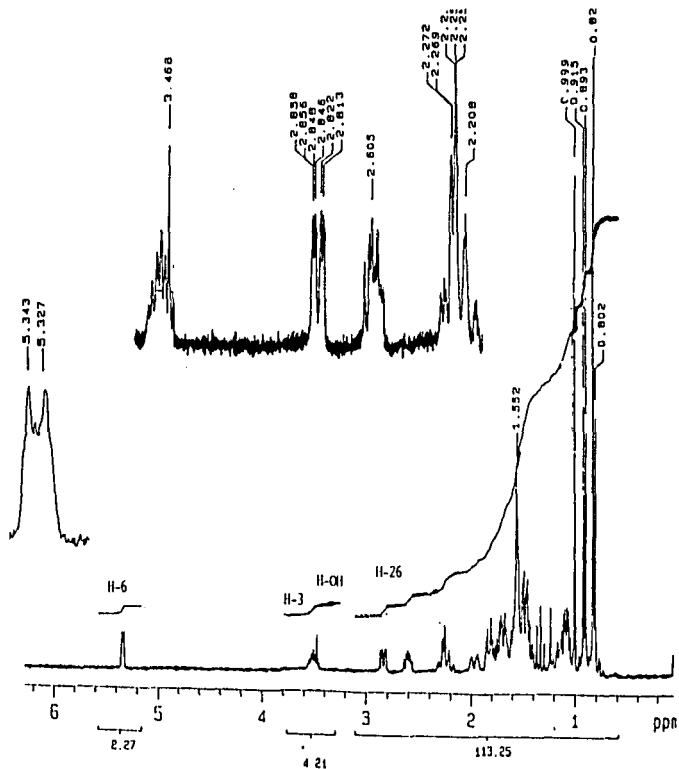
12.4. Espectro 4. EM (IE, 70 eV) de la solanidina (III):



12.5. Espectro ^13C (75 MHz, CDCl_3 , TMS) de la solanidina (III).



12.6. Espectro 6. RMN-¹H (300 MHz, CCl₄, TMS) de la solanidina (III).



13. BIBLIOGRAFÍA.

1. Macrae, R., Robinson, R. and Sadler, M (eds.): *Encyclopedia of Food Science and nutrition*, Vol. VI. Ed. Academic Press, Londres (1993) 3672-3686.
2. Trease, E., Evans, G.; *Farmacognosia*. Ed. Interamericana, México, 13ª ed. (1991) 590-595.
3. Luna Cavazos, M.; Estudio taxonómico de papas silvestres (*Solanum L.*) del altiplano Potosino-Zacatecano. Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Universidad Autónoma Chapingo, México (1977).
4. Macrae, R.; Robinson, R and Sadler, M (eds.): *Encyclopedia of Food Science and nutrition*, Vol. I. Ed. Academic Press, Londres (1993) 102-111.
5. Camacho, L.; Caracterización agronómica y morfológica de colectas de "papita güera" (*Solanum cardiophyllum* (Lindl.) y *Solanum ehrenbergii* (Bitt.) Rybd.). Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Universidad Autónoma Chapingo, México (1986).
6. Harborne, J.; *Phytochemical Methods*. 2ª ed, Ed. Chapman and Hall, U.S.A. (1984) 192-200.
7. Deahl, K., Young, R. and Sindens, S.; A study of the relationship of late blight resistance to glycoalkaloid content in fifteen potato clones. *Am. Potato J.* 50, 248-253 (1973).
8. Clemo, M., Morgan, W. and Raper, R.; The occurrence of Solanidine in potato sprouts. *J. Chem. Soc.* 1299-1300 (1936).

9. Jadhav, S. and Sharma, R.; Naturally occurring toxic alkaloids in Foods. *CRC. Crit. Rev. Toxicol.* 29-40 (1981).
10. Paseshnichenko, V. and Guseva, A.; Quantitative determination of Potato glycoalkaloids and their preparative separation. *Biochemistry* 21, 606-610 (1956).
11. Osman, S., Herb, S., Fitzpatrick, T. and Sinden, S.; Commersonine, a new glycoalkaloid from two *Solanum* species. *Phytochemistry* 15, 1065-67 (1976).
12. Kuhn, R. and Löw, Y.; Neve alkaloidglycoside in den blättern von *Solanum chacoense*. *Angew. Chem.* 69, 236 (1957).
13. Sinden, S., Sanford, L. and Osman, S.; Glycoalkaloids and resistance to the Colorado Beetle in *Solanum chacoense* Bitter. *Am. Potato J.* 57, 331-343 (1980).
14. Krishna-Kumari, G., Jagan Mohan Rao, L., Raja Rao, K., Pakrasa Rao, N., Kaneko, K. and Mitsushasi, H.; Solanopubamides A and B, two further steroidal alkaloids from *Solanum pubescens*. *Phytochemistry* 25, 8003-8004 (1986).
15. Barger, G. and Fraenkel-Conrat, H.; Alkaloids from *Solanum pseudocapsicum* L. *J. Chem. Soc.* 1537-1542 (1936).
16. Mitscher, L., Juvarkar, J. and Beal, J.; Solacanine, a new steroidal alkaloid from *Solanum pseudocapsicum* possessing antimicrobial activity. *Experientia* 32, 415-16 (1976).
17. Boll, P.; Alkaloidal glycosides from *Solanum dulcamara*. *Acta Chem. Scand.* 16, 1819-1830 (1962).

18. Coune, C. and Denoël, A.: Étude phytochimique des Solanaceae D'Afrique Centrale. *Planta Med.* **28**, 168-171 (1975).
19. Kessar, S., Gupta, Y., Singh, M. and Mahajan, R.: Synthetic studies in steroidal sapogenins and alkaloids- X: Syntheses of Tomatid-5-ene-3 β -ol and solasodine. *Tetrahedron* **27**, 2869-2875 (1971).
20. Schreiber, K. and Aurich, O.: Isolierung von nebenalkaloiden und 3 β -hydroxy-5 α -preg-16-en-20-on aus *Lycopersicon pimpinellifolium* Mill. *Phytochemistry* **5**, 707-12 (1966).
21. Zaitschek, D. and Segal, R.: The solasodine content of *solanum incaum*. *Lloydia* **35**, 192 (1972).
22. Schreiber, K., Walther, A. and Rönisch, H.: Solanum alkaloide- XLVI. Synthese von solasodin. *Tetrahedron* **20**, 1343-1345 (1964).
23. Kusano, G., Beisler, J. and Sato, Y.: Steroidal constituents of *Solanum xanthocarpum*. *Phytochemistry* **12**, 397-401 (1973).
24. Puri, R. and Bhatnagar, J.: Glycoalkaloids of *Solanum plataniifolium*. *Phytochemistry* **14**, 2096 (1975).
25. Urzúa, A. and Cassels, B.: Solanaceae. Solasodin glycosides and diosgenin from *Solanum pinnatum*. *Phytochemistry* **11**, 3548-3549 (1972).
26. Adam, G., Houng, H., Lischewski, M. and Khoi, N.: A new steroidal alkaloid from *Solanum hainanense*. *Phytochemistry* **17**, 1070-1071 (1978).

27. Bird, G., Collins, D., Eastwood, F. and Swan, J.; Soladunalinidine, a new dibasic analogue of tomatine extracted from *Solanum dunalianum*. *Aust. J. Chem.* **32**, 611-617 (1979).
28. Mahato, S., Sahu, P., Ganguly, A., Kasai, R. and Tanaka, O.; Steroidal alkaloids from *Solanum khasianum*: Application of ¹³C-NMR spectroscopy to their structural elucidation. *Aust. J. Chem.* **31**, 432-456 (1978).
29. Kaneko, K., Niitsu, K., Yoshida, W. and Mitsushasi, H.; Structure of solanaviol, a new steroidal alkaloid from *Solanum aviculare*. *Phytochemistry* **19**, 299-302 (1980).
30. Rowan, D., Macdonald, P. and Skipp, R.; Antifungal stress metabolites from *Solanum aviculare*. *Phytochemistry* **22**, 2101-2104 (1983).
31. Yamashita, T., Fujimura, N., Yahara, T., Kawanobu, S. and Fujieda, K.; Structures of three new steroidal alkaloid glycosides, solaverines I, II and III, from *Solanum verbascifolium*. *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 827-29 (1990).
32. Ripperger, H. and Porzel, A.; (23S)-23-hidroxisolasodine from two *Solanum* species. *Phytochemistry* **30**, 1299-1301 (1991).
33. Ripperger, H. and Porzel, A.; N-hidroxisolasodine from *Solanum robustum*. *Phytochemistry* **31**, 1837-1839 (1992).
34. Ripperger, H. and Himmelreich, U.; Anguivine and isoanguivine, steroidal alkaloid glycosides from *Solanum anguivi*. *Phytochemistry* **37**, 1725-27 (1994).
35. Sato, Y., Kaneko, H., Bianchi, E. and Kataoka, H.; Alkaloids from *Solanum congestiflorum*. *J. Org. Chem.* **34**, 1577-1582 (1969).

36. Ripperger, H., Sych, F. and Schreiber, K.; Solanum alkaloids- ScVI. Synthese von solaflofloridin und 25-isosolaflofloridin. *Tetrahedron* **28**, 1619-1627 (1972).
37. Usubillaga, A., Seelkopf, C., Karle, I., Daly, J. and Witkop, B.; The structure of solaphyllidine, a novel 4-ketosteroidal alkaloid. *J. Am. Chem. Soc.* **92**, 700-702 (1970).
38. Usubillaga, A., Paredes, A., Martinod, P. and Hidalgo, J.; Alkaloids of *Solanum ecuadorensis*. *Planta Med.* **23**, 286-289 (1973).
39. Usubillaga, A., De Castellano, G., Hidalgo, J., Guevara, C., Martinod, P. and Paredes, A.; Solaquidina, a new steroidal alkaloid from *Solanum pseudoquina*. *Phytochemistry* **16**, 1861-1862 (1977).
40. Usubillaga, A.; Estructura de la solamaladina, un nuevo alcaloide del *Solanum hypomalacophyllum* Bitter. *Rev. Latinoam. Quim.* **4**, 32-34 (1973).
41. Bird, G., Collins, D., Eastwood, F., Gatehouse, B., Jozsa, A. and Swan, J.; New steroidal alkaloids from *Solanum callium*. *J. L.S.* **40**, 3653-56 (1976).
42. Chakravarty, A., Das, B., Ali, E. and Pakrashi, S.; Studies on Indian medicinal plants part 77. Structure and stereochemistry of some new steroidal alkaloids from *Solanum pseudocapsicum* and *Solanum giganteum* by Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* 467-479 (1984).
43. Harrison, D.; Steroidal alkaloids. *Nat. Prod. Rep.* **3**, 443-449 (1986).
44. Lin, C., Chung, M. and Lin, S.; Steroidal alkaloids from *Solanum capsicastrum*. *Phytochemistry* **26**, 305-307 (1987).

45. Ali, E., Chakravarty, A. and Pakrashi, S.; Studies on Indian Medicinal plants- XLIV. Solanoforthine, a new steroidal alkaloid from *Solanum seaforthianum*. A note on the mass spectrum of solanocapsine. *Tetrahedron* **33**, 1371-1377 (1977).
46. Ali, E., Chakravarty, A., Dhar, T. and Pakrashi, S.; Solaseaforthine and isosolaseaforthine, two novel 3-amino-20-pyridyl pregnanes from *Solanum seaforthianum*. *Tet. Lett.* **40**, 3871-3874 (1978).
47. Puri, R. and Wong, T.; ¹H and ¹³C-NMR Assignments and structural determination of a novel glycoalkaloid from *Solanum planifolium*. *J. Nat. Prod.* **57**, 587-596 (1994).
48. Ripperger, H.; Steroid glycosides from *Solanum robustum*. *Phytochemistry* **39**, 1475-1477 (1995).
49. Lin, C., Chai-Ming, L.; Ming-Kung, C. and Kim-Hong, G.; The cytotoxic principles of *Solanum incanum*. *J. Nat. Prod.* **53**, 513-516 (1996).
50. Kim-Hong, G. and Chun-Nan, L.; Cytotoxic principles and their derivatives of formosan *Solanum* plants. *J. Nat. Prod.* **56**, 15-21 (1996).
51. Stanina, P.; Solanine (glycoalkaloids) in potatoes: Toxicological Evaluation. *J. Chem. Sociol.* **28**, 759-61 (1990).
52. Friedman, M., Rayburn, J. and Bantle, J.; Developmental toxicology of potato alkaloids in the frog embryo teratogenesis assay- *Xenopus (fetas)*. *J. Chem. Sociol.* **29**, 537-47 (1991).

53. Baker, D., Keeler, R. and Gaffield, W.; Lesions of potato sprout and extracted potato alkaloid toxicity in syrian hamsters. *Chm. Journal*. **25**, 199-208 (1987).
54. Nishie, K., Gumbmann, M. and Keyl, A.; Pharmacology of solanine. *Journal. Appl. Pharmacol.* **19**, 81-92 (1971).
55. Chaube, S. and Swinyard, C.; Teratological and toxicological studies of alkaloidal and phenolic compounds from *Solanum tuberosum* L. *Journal. Appl. Pharmacol.* **36**, 227-237 (1976).
56. Salunkhe, K (ed). Potato: Production, Processing and Products. Ed. CRC Press, Inc., U.S.A., (1991) 203-210.
57. Coxon, D.; Methodology for glycoalkaloid analysis. *Am. Potato J.* **61**, 169-183 (1984).
58. Bushway, A., Bushway, A., Belyea, P. and Bushway, R.; The proximate composition and glycoalkaloid content of three potato meals. *Am. Potato J.* **57**, 167-169 (1980).
59. Ikenaga, T., Kikuta, S., Nakashima, K. and Matsubara, T.; Growth and production of steroid saponin in *Solanum aculeatissimum* during one vegetation period. *Planta Med.* **47**, 140-142 (1988).
60. Beisler J. and Sato, Y.; The chemistry of carpesterol, a novel sterol from *Solanum xanthocarpum*. *J. Org. Chem.* **36**, 3946-3950 (1971).
61. Martello, R. and Farnsworth, N.; Observations on the sensitivity of several common alkaloid precipitating reagents. *Sloydia* **25**, 176-185 (1962).

62. Jork, H., Funk, W., Fischer, W. and Wimmer, H.; Thin-layer chromatography- reagents and detection methods, Vol. I^o. Ed. VCH, Weinheim, Germany (1990) 187, 206-209
63. Porter, W.; A note on the melting point of α -solanine. *Am. Potato J.* **49**, 403-406 (1972).
64. Feigl, F.; *Pruebas a la gota en análisis orgánico*. Ed. El Manual Moderno, México (1978) 131, 138-140, 195-198.
65. Nakanishi, K. and Solomon, P.; *Infrared absorption spectroscopy*. 2^o ed., Ed. Holden-Day Inc., Sn. Francisco, U.S.A. (1977) 211.
66. Lambert, J., Shurvel, H., Verbit, L.; Cooks, R. and Stoot, G.; *Organic Structural Analysis*. Ed. Macmillan Publishing Co. Inc., New York (1976).
67. Silverstein, R., Bassler, G. and Morrill, T.; *Spectrometric identification of organic compounds*. 4^o ed., Ed. John Wiley and Sons, New York, U.S.A. (1981) 95-179.
68. Budzikiewicz, H.; Zum Massenspektroskopischen fragmentierungsverhalten von steroidalkaloiden. *Tetrahedron* **20**, 2267-2278 (1964).
69. Bird, G., Collins, D., Eastwood, F. and Exner, R.; Assignment of the ¹³C N.M.R. spectra of some 22,26-epiminocholestanes. 22,26-epiminocholest-22(N)-enes and some 3 β -aminosteroidalkaloids. *Aust. J. Chem.* **32**, 796-816 (1979).
70. Chakravarty, A. and Pakrashi, S.; Solanocastriene, a unique 16,23-cyclo-22,26-epiminocholestane from *Solanum capsicastrum*. *Tet. Lett.* **28**, 4753-4756 (1987).
71. Breitmeier, E. and Voelter, W. *Carbon-13 NMR Spectroscopy*. 3a. ed., Ed. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Federal Republic of Germany, (1987) 515 p.

72. Radeaglia, R., Adam, G. and Ripperger, H.; ^{13}C NMR Spectroscopy of *Solanum* steroid alkaloids. *Int. Lett.* **17**, 903-906 (1977).
73. Boll, P.; NMR studies and absolute configuration of *Solanum* alkaloids (spiroaminoketal alkaloids). *Acta Chem. Scand.* **19**, 1365-1370 (1965).
74. Kaneko, K., and Tanaka, M.; Camtschatcanidine, an alkaloid from *Fritillaria camtschatcensis*. *Phytochemistry* **20**, 327-329 (1981).
75. Agrawal, P.; NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. *Phytochemistry* **31**, 3307-3330 (1992).