



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

13  
2 ej.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

ANALISIS QUIMICO PRELIMINAR DE *Solanum stoloniferum* Y EVALUACION BIOLOGICA DE ESPECIES SILVESTRES MEXICANAS DE PAPA.

**T E S I S**

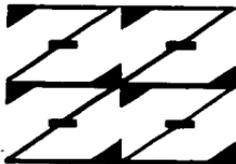
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**

**P R E S E N T A**

**MYRNA DECIGA CAMPOS**

DIRECTOR: O. ARTURO E. CANO FLORES



MEXICO, D. F.

1997

**TESIS CON FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

---

Este trabajo se desarrolló en el  
**Laboratorio de Química de Productos Naturales L-314**  
de la **Facultad de Estudios Superiores Zaragoza**  
bajo la asesoría de  
**Q. Arturo Eduardo Cano Flores**

El presente trabajo forma parte del proyecto:  
**"Estudio químico y nutricional de las variedades de papa.  
Desarrollo de productos instantáneos de alto valor nutritivo".**  
Financiado por la DGAPA. Proyecto IN-214394

---

## **DEDICATORIA**

**A mis padres Josefina Campos y Carlos Déciga,**  
porque gracias a su cariño, apoyo, dedicación y  
confianza he culminado mis estudios profesionales.

**A mis hermanos: Yalé, Carlos, Julio, Guillermo y Sonia.**

**A José Luis por su apoyo incondicional.**

**Con mucho respeto al M. en C. Alejandro Ruiz  
Cancino, quien inició este proyecto y dedicó su vida a  
la UNIVERSIDAD.**

---

## **DEDICATORIA**

**A mis padres Josefina Campos y Carlos Déciga, porque gracias a su cariño, apoyo, dedicación y confianza he culminado mis estudios profesionales.**

**A mis hermanos: Yalú, Carlos, Julio, Guillermo y Sonia.**

**A José Luis por su apoyo incondicional.**

**Con mucho respeto al M. en C. Alejandro Ruiz Cancino, quien inició este proyecto y dedicó su vida a la UNIVERSIDAD.**

---

## **AGRADECIMIENTOS**

**Se agradece a la M. en C. Angelia Setelo López de la Facultad de Química, UNAM, y al personal técnico académico del Instituto de Química de la UNAM, en especial al Dr. Federico García Jiménez por las facilidades brindadas en la realización de este trabajo.**

---

Los resultados derivados del presente trabajo se presentarán en el  
**XXX Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas.**  
A celebrarse en Cancún, Quintana Roo, en diciembre de 1997.

---

*El libro acceso a la ciencia está permitido,  
se solo a quienes ignoran el proyecto,  
mazaron los dibujos, prepararon los materiales,  
colocaron los ladrillos; sino, también a  
todos aquellos que están nacidos por  
conocer incrementalmente el plan y se desean  
vivir en sus cripas.*



*Planta de papa silvestre.*

---

## INDICE

<b>Indice.</b>	i
<b>Notaciones empleadas.</b>	v
<b>I. Resumen.</b>	1
<b>II. Introducción.</b>	3
<b>III. Fundamentación teórica.</b>	6
A. Generalidades de la familia <i>Solanaceae</i> .	7
B. Generalidades de la papa.	7
B.1 Cultivo.	9
B.2 Papas silvestres.	10
B.3 Características de distribución.	13
B.4 Importancia económica.	15
C. Glicoalcaloides.	18
C.1 Alcaloides.	18
C.2 Glicoalcaloides del género <i>Solanum</i> .	19
C.2.1 Distribución en la planta.	32
C.3 Importancia del estudio de los glicoalcaloides de especies de <i>Solanum</i> .	35
D. Generalidades de los ensayos biológicos.	36
D.1 Bioensayo de <i>Artemia salina</i> L.	39
D.2 Ensayo antimicrobiano para extractos de plantas.	40
<b>IV. Planteamiento del problema.</b>	44
<b>V. Objetivos.</b>	46
A. Objetivo general.	47
B. Objetivos específicos.	47
<b>VI. Hipótesis de trabajo.</b>	49
<b>VII. Metodología.</b>	51
1. Material.	52
2. Procedimiento.	56

A. Recolección y preparación del material vegetal.	56
B. Estudio químico de <i>Solanum stoloniferum</i> originaria del estado de San Luis Potosí.	56
B.1 Determinación cualitativa de alcaloides empleando reactivos específicos — pruebas a la gota —	58
B.2 Estudio químico diferenciado de <i>Solanum stoloniferum</i> .	59
C. Estudio químico de la cáscara de <i>Solanum stoloniferum</i> originaria del estado de Tlaxcala	73
D. Estudio químico de los sólidos cafés obtenidos de <i>Solanum stoloniferum</i> .	75
E. Determinación cualitativa de alcaloides en cuatro especies silvestres mexicanas de papa por CLAR	75
F. Estudio biológico de cuatro especies silvestres mexicanas de papa.	76
<b>VIII. Resultados.</b>	<b>82</b>
A. Resultados de pruebas a la gota con reactivos específicos para la detección de alcaloides	83
B. Cromatografía en capa fina para la detección de alcaloides en <i>Solanum stoloniferum</i> .	86
C. Características de los sólidos aislados de <i>Solanum stoloniferum</i>	91
D. Datos espectroscópicos y espectrométricos de las sustancias aisladas	92
E. Ensayos biológicos	94
F. Identificación de $\alpha$ -solanina y $\alpha$ -chaconina por CLAR.	96
<b>IX. Discusión de resultados.</b>	<b>97</b>
A. Determinación cualitativa de alcaloides con reactivos específicos	98
B. Identificación de $\alpha$ -solanina y $\alpha$ -chaconina en las partes aéreas (hojas-tallo) del extracto AcOH/EtOH/H <sub>2</sub> O	99
C. Detección de alcaloides en el extracto AcOH/EtOH/H <sub>2</sub> O en cascara.	111

D. Identificación de alcaloides en el extracto AcOH/EtOH/H <sub>2</sub> O en pulpa.	115
E. Estudio químico realizado al extracto metanólico de la raíz de <i>Solanum stoloniferum</i> .	117
F. Análisis de los sólidos café obtenidos durante el estudio químico.	122
G. Determinación cualitativa de alcaloides en cuatro especies silvestres mexicanas de papa por CLAR.	124
H. Ensayo biológico.	129
<b>X. Conclusiones.</b>	140
<b>XI. Sugerencias.</b>	142
<b>XII. Espectros de las sustancias.</b>	144
Espectro I. Espectro de IR (CHCl <sub>3</sub> ) de la solanidina (I).	145
Espectro II. Espectro de EM (IE) de la solanidina (I).	146
Espectro III. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (300 MHz CDCl <sub>3</sub> , TMS) de la solanidina (I).	147
Espectro IV. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz CDCl <sub>3</sub> , TMS) de la solanidina (I).	148
Espectro V. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz CDCl <sub>3</sub> , TMS) del triacilglicerol (II).	149
Espectro VI. Espectro de IR (CHCl <sub>3</sub> ) del triacilglicerol (II).	150
Espectro VII. Espectro de IR (KBr) del sólido "D" aislado de la pulpa de <i>Solanum stoloniferum</i> .	151
Espectro VIII. Espectro de IR (KBr) de la $\alpha$ -solanina aislada de las partes aéreas de <i>Solanum ehrenbergii</i> .	152
Espectro IX. Espectro de IR (CHCl <sub>3</sub> ) de la sustancia aislada del extracto metanólico de la raíz.	153
Espectro X. Espectro de IR (CHCl <sub>3</sub> ) del octacetil- $\beta$ -D-fructofuranosil $\alpha$ -D-glucopiranosido (III).	154
Espectro XI. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (300 MHz CDCl <sub>3</sub> , TMS) de octacetil- $\beta$ -D-fructofuranosil- $\alpha$ -D-glucopiranosido (III).	155

Espectro XII. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz CDCl <sub>3</sub> , TMS) del octacetil-β-D-fructofuranosil-α-D-glucopiranosido (III).	156
Espectro XIII. Espectro COSY (300 MHz CDCl <sub>3</sub> , TMS) del octacetil β-D-fructofuranosil-α-D-glucopiranosido (III).	157
Espectro XIV. Espectro de EM (IE) del octacetil-β-D-fructofuranosil α-D-glucopiranosido (III).	158
Espectro XV. Espectro de IR (KBr) del sólido café (1) aislado de <i>Solanum stoloniferum</i> .	159
Espectro XVI. Espectro de IR (CHCl <sub>3</sub> ) del sólido café (1) metilado aislado de <i>Solanum stoloniferum</i> .	160
<b>XIII. Bibliografía.</b>	161

---

## NOTACIONES EMPLEADAS.

Ac	CH <sub>3</sub> CO-
AcOH	ácido acético
AcOET	acetato de etilo
AST	agar soya tripticascina
ATCC	American Type Culture Collection
C	grados centigrados
C-n, C <sub>n</sub>	carbono número n
CCF	comatografía en capa fina
CPP	comatografía en placa preparativa
CCV	comatografía en columna por elución a vacío
CHCl <sub>3</sub>	cloroformo
CH <sub>2</sub> N <sub>2</sub>	diazometano
CH <sub>3</sub> -	metilo
-CH <sub>2</sub> -	metileno
CLAR	comatografía líquida de alta resolución
CL <sub>50</sub>	concentración letal media
COSY	correlación espectroscópica bidimensional
CST	caldo de soya tripticascina
<i>d</i>	doble
<i>dd</i>	doble de doble
D-Glu	D-Glucosa
D-Gal	D-Galactosa
D-Xil	D-Xilosa
DMSO	dimetilsulfóxido
EM(IE)	espectrometría de masas por impacto electrónico
EM(FAB)	espectrometría de masas por bombardeo rápido de átomos
EtOH	etanol
EtOEt	éter etílico
Ext.	extracción

h	horas
Hex.	hexano
Hz	Hertz
H <sub>2</sub> O	agua
H-n, H <sub>n</sub>	hidrógeno unido al carbono número n
IE	impacto electrónico
IR	espectroscopia de infrarrojo
J (Hz)	constante de acoplamiento
L-Ram	L-Ramnosa
m	multiplete
msnm	metros sobre el nivel del mar
Me <sub>2</sub> CO	acetona
MeOH	metanol
m/z	relación masa/carga
M <sup>+</sup>	ión molecular
ppm	partes por millón
Py	piridina
RMN <sup>13</sup> C	espectroscopia de resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN <sup>1</sup> H	espectroscopia de resonancia magnética nuclear de hidrógeno
R <sub>r</sub>	$= \frac{\text{distancia recorrida por la muestra}}{\text{distancia recorrida por el disolvente}} \times 100$
s	singlete
spp.	subspecie
SbCl <sub>3</sub>	tricloruro de antimonio
t	tripleto
Tm	tonelada métrica = 1000 Kg
t <sub>R</sub>	tiempo de retención
UV	ultravioleta
VIH	virus de inmunodeficiencia humana
ABC <sup>(n)</sup>	notas de pie de página
ABC <sup>o</sup>	referencias bibliográficas
δ	desplazamiento químico

---

$\Omega$	número de insaturaciones
$\lambda_1$	longitud de onda corta 254 nm
$\lambda_2$	longitud de onda larga 365 nm
$\nu_{max}$	número de onda donde se observa un máximo de absorción
$\uparrow\downarrow$	Reflujo

---

## I. RESUMEN

En el presente trabajo se dan a conocer los resultados obtenidos del estudio químico diferenciado de *Solanum stoloniferum*, — especie de papa silvestre mexicana — de la cual se aisló e identificó  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, como metabolitos secundarios mayoritarios. Por otro lado, la hidrólisis ácida de una mezcla de dichos compuestos permitió la obtención de la solanidina.

Esta investigación demostró de manera cualitativa la presencia de otros glicoalcaloides como constituyentes minoritarios, además de los fenilpropanoides e indiosidos, de los cuales no existe información química abundante sobre la presencia de dichas sustancias dentro de este género.

La evaluación biológica de ésta y otras tres especies de papa silvestre mexicana (*S. cardiophyllum*, *S. polytrichon* y *S. michoacanum*) reveló la toxicidad frente *Artemia salina* L. y la actividad antimicrobiana presente en los extractos — hexánico, acetato de etilo y metanólico — de las partes aéreas y raíz, los resultados obtenidos son discutidos con base a su posible aprovechamiento.

## **II. INTRODUCCION**

México ocupa un lugar privilegiado en el panorama mundial de la diversidad biológica. Con una superficie de apenas 1.5 % del área total de la masa continental, en su territorio se encuentran casi todos los biomas existentes en el planeta y en él viven cerca del 10% de las especies de plantas y animales terrestres que se conocen actualmente.

Su ubicación geográfica es un área de interacción de la región boreal y la región tropical, sus extensos litorales y su accidentada topografía han dado lugar a una gran diversidad de climas, suelos y comunidades vegetales que conforman un mosaico de bosques de coníferas, bosques de encino, bosques de niebla, selvas altas siempre verde, selvas que pierden sus hojas parte del año, matorrales, manglares, dunas costeras y una gran cantidad de asociaciones vegetales de gran interés biológico.

A la posición geográfica de México se debe también que su territorio haya sido a lo largo de las diferentes eras geológicas un sitio de tránsito de animales y plantas.

Muchas especies de plantas y animales dieron origen, por la acción de procesos evolutivos, a nuevas especies, lo que explica en parte el alto número de especies endémicas que hay en nuestro territorio. Casi la mitad de las especies de plantas superiores (43-63%), se encuentran únicamente en México.

A esta gran riqueza biológica que hace que México, sea considerado entre los países llamados de megadiversidad, se añade otra de igual valor, que es producto de la interacción de las sociedades humanas que poblaron el área mesoamericana, la cual es una de las pocas en el mundo en que coinciden con una gran diversidad biológica.

Los antiguos pueblos mesoamericanos dieron al mundo cerca de 80% de especies de plantas cultivadas: maíz, frijol, chile, aguacate, jitomate, amaranto, calabaza, cacao, tabaco y vainilla, las cuales son algunas de las plantas domesticadas aquí, y que hoy en día son consumidas por millones de personas en el mundo.

Son los pueblos indígenas los que siguen actualmente preservando y acrecentando la gran variedad de especies cultivadas que les heredaron sus antepasados. Sin embargo, la gran crisis económica, política y social que padecemos los mexicanos tiene su mayor expresión en el sistema alimentario. En los últimos 18 meses el consumo de alimentos básicos ha disminuido en 29%. Uno de cada 2 mexicanos no tiene acceso al mínimo de alimentación diario establecido por la FAO y OMS (2340 calorías)

Según informes oficiales, 158 mil niños mueren cada año antes de cumplir los 5 años por enfermedades relacionadas con la desnutrición, en las zonas rurales, el 50% de la población padece desnutrición en alguno de sus grados, la cual se agudiza en 13 zonas críticas del país — en algunas comunidades de Oaxaca, Chiapas y Guerrero 80% de los niños sufren desnutrición —.

Con base en lo anterior, el presente trabajo forma parte del estudio químico de *Solanum stoloniferum*, una especie de papa silvestre mexicana.

Cabe señalar que nuestro país es el segundo centro de variabilidad a nivel mundial con 33 especies silvestres de papa. Por otro lado la familia *Solanaceae* tiene una gran importancia económica, donde destaca el género *Solanum*, ya que de él se deriva una gran cantidad de especies vegetales que forman parte de la dieta diaria de cualquier persona. Sin embargo, se ha informado, que el género *Solanum* se caracteriza por poseer sustancias tóxicas para el ser humano, razón por la cual, en el presente proyecto se ha propuesto como objetivo, aislar y caracterizar los glicoalcaloides mayoritarios presentes en *Solanum stoloniferum* con la finalidad de determinar su potencialidad como una fuente alterna de alimentación para los mexicanos, y a su vez contribuir al conocimiento de dicha especie para poder valorar su utilidad y planear mejor su aprovechamiento.

---

### **III. FUNDAMENTACION TEORICA**

---

## A. GENERALIDADES DE LA FAMILIA *Solanaceae*.

La familia *Solanaceae*, comprende cerca de 75 géneros y 2000 especies distribuidas ampliamente por todo el mundo, se han caracterizado por su importancia alimenticia (tomate, chile, pimiento), farmacológica (belladona, tabaco, naranjillo)<sup>1</sup> y química, ya que contienen alcaloides como metabolitos secundarios. En la tabla 1 se muestran algunos géneros de la familia *Solanaceae*, dentro de los que destaca el género *Solanum*, porque en éste se encuentran especies básicas para la alimentación humana como el pepino, la berenjena, la hierba mora y la papa. Las especies de *Solanum* se encuentran distribuidas en ambos hemisferios, principalmente en el Centro y Sur de América, así como en Australia.

## B. GENERALIDADES DE LA PAPA.

La papa es una dicotiledónea, perteneciente al género *Solanum*. Es un cultivo importante que compite a nivel mundial, en cuanto a su producción, con el trigo y el arroz como fuente de carbohidratos (principalmente almidón).

La hierba mide cerca de 0.5-1 metro de altura, los frutos son verdes y globosos (bayas), no son comestibles y las semillas se emplean sólo en la siembra. Su sistema fibroso de raíces se extiende superficialmente y se desarrollan rizomas múltiples que terminan en los tubérculos<sup>1</sup> que son las papas que comemos<sup>11</sup>. Las hojas están divididas en 7 hojuelas, las flores tienen forma de campana, color azul violáceo y aparecen agrupadas.

---

<sup>11</sup> Además de ser comestible en Oaxaca y Tlaxcala, se usa para evitar la caída del cabello, infecciones del cuero cabelludo y la caspa. Se dice que puede ser útil contra las paperas, irritación de los ojos, quemaduras, hinchazones, escorbuto, hemorroides, reumas y trastornos hepáticos<sup>1</sup>.

FAMILIA <i>Solanaceae</i>		
GENERO	ESPECIE	NOMBRE COMUN
<i>Atropa</i>	<i>A. belladonna</i>	Belladona
<i>Capicum</i>	<i>C. annum</i>	Pimiento
	<i>C. frutescens</i>	Chiltepin
	<i>C. minimum</i>	Chile pequin
<i>Cyphomandra</i>	<i>C. betacea</i>	Tomate de árbol amarillo
		Tomatillo
<i>Hyoscyamus</i>	<i>H. albus L.</i>	Beleño blanco
	<i>H. niger L.</i>	Beleño negro Hierba loca
<i>Lycium</i>	<i>L. intricatum</i>	Cambronera Espina santa
<i>Lycopersicon</i>	<i>L. esculentum</i>	Tomate
	<i>L. pimpinellifolium</i>	Grosella roja
<i>Mandragora</i>	<i>M. autumnalis</i>	Mandragora
<i>Nicotina</i>	<i>N. tabacum</i>	Tabaco
<i>Physalis</i>	<i>P. ixocarpa</i>	Tomatillo
	<i>P. peruviana</i>	Fresa dorada
	<i>P. peruviana</i>	Tomate de cáscara
<i>Solanum</i>	<i>S. dulcamara</i>	Uvas del diablo
	<i>S. melongena</i>	Berengena
	<i>S. nigrum</i>	Arándano
	<i>S. muricatum</i>	Pepino
	<i>S. quitoense</i>	Naranjillo
<i>Withania</i>	<i>S. tuberosum</i>	Papa
	<i>W. frutescens</i>	Paternostera

Tabla 1. Algunos géneros y especies de la familia *Solanaceae*.

Originaria de América, África y los Andes Sudamericanos, habita en clima cálido, semicálido y templado desde el nivel del mar hasta los 2440 m de altitud. La planta esta asociada a vegetación perturbada de bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio, subperennifolio y perennifolio, bosques de encino, de pino y mixto de pino-encino<sup>1</sup>.

### **B.1 Cultivo.**

Las papas se clasifican basándose a su ciclo vegetativo, existen variedades tempranas, semitempranas y tardías. Para la producción de consumo alimenticio tienen importancia las papas tempranas y semitempranas. Las tardías son variedades para almacenamiento y con ellas se siembran nuevos cultivos. En casos normales se requieren de 4-6 semanas desde la siembra hasta el nacimiento debido a que el suelo alcanza lentamente la temperatura germinativa de 8-10 C en sitios frescos. La pregerminación es recomendada si se requiere sembrar algo más tarde y obtener un cultivo más temprano, además la simiente pregerminada origina más yemas que las normales. Las raíces se forman entre 2 y 4 días y el nacimiento se adelanta entre 12 y 15 días con la ventaja de obtener matas con más vigor y fuerza.

Entre los cuidados para la siembra se encuentra la rotación de la tierra. El cultivo debe alternarse con cereales como cebada, avena y tal vez remolacha azucarera, maíz forrajero para evitar la principal infección (el nemátodo de la papa). La rotación es ideal si después de la papa se siembra durante dos años una mezcla de tréboles y gramíneas. También es importante utilizar los fertilizantes adecuados, dependiendo del tipo de tierra, para evitar las enfermedades más comunes que afectan los cultivos, entre las que destacan las que son producidas por virus (propagada principalmente por el pulgón chupador *Mizus persicases*), hongos (*Phitophora inestus*) y otros enemigos de la papa como el gusano gris, gusano blanco y diversas orugas, entre otros.

La madurez de la papa se manifiesta por el marchitamiento de la mata, la cual es eliminada de 8 a 15 días antes de la recolección, después se llevan a un almacenamiento con un sistema de ventilación adecuado para esperar que siga madurando.

## B.2 Papas silvestres.

Dentro del género *Solanum* se agrupan todas las especies de papa, las cuales se clasifican en cultivables y silvestres; en las primeras, se encuentran ocho especies: *S. tuberosum*, *S. ajanhuiri*, *S. goniocalyx*, *S. phureja*, *S. stenotomum*, *S. curtilobum*, *S. juzepczukii* y *S. chaucha*. De las silvestres se encuentran aproximadamente 160 especies, todas ellas comprendidas en la sección *Petota* Dumort<sup>7</sup>. La papa se encuentra clasificada taxonómicamente como:

<b>Género:</b>	<i>Solanum</i>
<b>Subgénero:</b>	<i>Potatoe</i>
<b>Sección:</b>	<i>Petota</i>

La sección *Petota* está confinada al continente Americano, se distribuye desde el Suroeste de Nebraska, Colorado, Utah, Sur de Arizona, Nuevo México y Oeste de Texas en Estados Unidos de América, continuando por México y Centro América y llegando hasta Sudamérica al Archipiélago de Cronos del Centro Sur de Chile y la región de la Patagonia en la zona meridional de Argentina. Esta amplitud longitudinal va de 42° norte a 47° sur<sup>7</sup>.

En América se ha estimado que existen dos centros de diversidad de especies tuberíferas; siendo México uno de los más importantes por tener 33 especies, de las cuales 20 son cultivables; el otro, está ubicado en los Andes de Perú, Bolivia y Noroeste de

Argentina, incluyendo a Ecuador que comprenden 64, 31, 27 y 13 especies de papas silvestres respectivamente. En la tabla 2, se muestra la distribución de especies tuberíferas en América.

<b>DISTRIBUCION DE ESPECIES SILVESTRES TUBERIFERAS EN AMERICA</b>	
ESPECIES	LOCALIZACION
<i>S. oxycarpum</i>	Desde el centro de Mexico hasta Panamá
<i>S. commersoni</i>	Costas de Argentina, Uruguay, Brasil y Paraguay
<i>S. angimontifolium</i>	Sur de México y Guatemala
<i>S. brevicaulis</i>	Sur de Perú y Norte de Bolivia
<i>S. jamesii</i>	Estados Unidos y Noreste de México
<i>S. clarum</i>	Noreste de Guatemala
<i>S. jeansii</i>	Norte de Perú
<i>S. coelestipetalum</i>	Norte y Sur de Perú

Tabla 2. Especies silvestres de papa en América.

En México se han establecido los límites geográficos que comprenden una amplia distribución de papas: desde la región montañosa de Chihuahua hasta la frontera de Estados Unidos de Norteamérica; al Sur por la región de Chiapas hasta la frontera con Guatemala; al Este por la Sierra Madre Oriental y al Oeste por la Sierra Madre Occidental (tabla 3); además, se señala la existencia de *S. fendleri* en la Región Meridional de Baja California Sur.

DISTRIBUCION DE ESPECIES TUBERIFERAS EN MEXICO											
ESTADO	ESPECIES										
	DISTRIBUCION AMPLIA				DISTRIBUCION RESTRINGIDA						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Aguascalientes		✓									
Coahuila		✓									
Chiapas	✓			✓							
Chihuahua		✓			✓						
D.F.	✓	✓	✓								
Guanajuato		✓		✓			✓				
Guerrero	✓			✓							
Hidalgo	✓	✓	✓	✓							
Jalisco	✓	✓					✓		✓		
México	✓	✓	✓	✓		✓					
Michoacán	✓	✓	✓	✓					✓		
Morcles	✓	✓	✓	✓							✓
Oaxaca	✓	✓	✓	✓							
Puebla	✓	✓	✓	✓							
Querétaro		✓		✓							
San Luis Potosí		✓	✓	✓						✓	
Sinaloa		✓									
Sonora					✓						
Tlaxcala			✓	✓							✓
Veracruz	✓										
Zacatecas		✓	✓	✓							

Especies

- |                               |                            |
|-------------------------------|----------------------------|
| 1. <i>S. bulbocastanum</i>    | 2. <i>S. cardiophyllum</i> |
| 3. <i>S. demissum</i>         | 4. <i>S. stoloniferum</i>  |
| 5. <i>S. brachistotrichum</i> | 6. <i>S. hintonii</i>      |
| 7. <i>S. wrightianum</i>      | 8. <i>S. michoacanum</i>   |
| 9. <i>S. trifidum</i>         | 10. <i>S. ehrenbergii</i>  |
| 11. <i>S. polytrichon</i>     |                            |

Tabla 3. Distribución de algunas especies silvestres de papa en México <sup>7</sup>.

Las regiones con mayor cantidad y variación de especies son los estados de Michoacán, Jalisco, México, Hidalgo, Oaxaca, Veracruz y Puebla. Los estados en los que se han reportado pocas especies son: Baja California, Campeche, Quintana Roo, Tabasco y Yucatán.

### **B.3 Características de distribución.**

La razón más importante de que la papa silvestre tenga una amplia distribución en América y el mundo, es su alta adaptabilidad a las diferentes condiciones físicas. La variedad de vegetación permite que ésta pueda crecer en diferentes ecosistemas. En la tabla 4, se presenta la relación que guardan algunas especies de papa en América con el medio en el que se desarrollan. En México, se encuentran en bosques húmedos, bosque de coníferas, chaparrales, entre matorrales y plantas espinosas, bosque de pino, con hábito ruderal y en terrenos que fueron de cultivo. Ejemplos de otras condiciones en las cuales se les puede encontrar se enlistan a continuación.

- Se les ha encontrado en altitudes de 3200 a 4000 m.
- Se pueden encontrar en diferentes substratos:
  - suelos pedregosos,
  - suelos profundos, húmidos de color negro,
  - en aluviones,
  - sitios pantanosos,
  - laderas rocosas,
  - en altiplanicies,
  - en arroyos y orillas de río.

Una misma especie puede adaptarse a diferentes condiciones ambientales, por ejemplo, *S. cardiophyllum*, *S. stoloniferum* y *S. polytrichon* se han encontrado en altitudes de 2000-3000 msnm. Son consideradas también como arvenses, ya que se encuentran

asociadas a cultivos de maíz y frijol. Estas especies se consideran de hábito ruderal y frecuentemente se encuentran en matorrales espinosos (*Agave*, *Mimosa*, *Acacia*). *S. stoloniferum* y *S. polytrichon* es común encontrarlas en chaparrales y a orillas de carreteras y caminos. Las tres especies mencionadas se encuentran comúnmente en terrenos de cultivo abandonados.

CLASIFICACION DE ALGUNAS ESPECIES SILVESTRES DE PAPA DE ACUERDO A SU TIPO DE VEGETACION		
ESPECIE	LUGAR DE ORIGEN	TIPO DE VEGETACION EN LA QUE SE ENCUENTRA
<i>S. oxycarpum</i> <i>S. chucoense</i>	México Sur de América	Bosques húmedos templados
<i>S. fendleri</i>	Noroeste de México y Suroeste de Estados Unidos de América	Bosques de coníferas
<i>S. maglia</i>	Argentina	Asociada a otras especies que le ofrecen protección, formaciones arbustivas de <i>Mayerenus boaria</i>
<i>S. macolae</i>	Argentina	Asociado con <i>Bougainvillea</i> y <i>Liciumyren</i>
<i>S. kurtzianum</i>	Argentina	Bajo "jarrillas"
<i>S. taniyense</i> <i>S. capsicibacatum</i> <i>S. polytrichon</i> <i>S. stenophyllidium</i> <i>S. stoloniferum</i>	Bolivia y Argentina  México	En chaparrales
<i>S. commersonii</i> <i>S. infundibuliforme</i> <i>S. cardiophyllum</i> <i>S. ehrenbergii</i> <i>S. polytrichon</i> <i>S. demissum</i> <i>S. xedinense</i>	Bolivia, Argentina, Chile, Uruguay y Brasil México	Entre matorrales y plantas espinosas

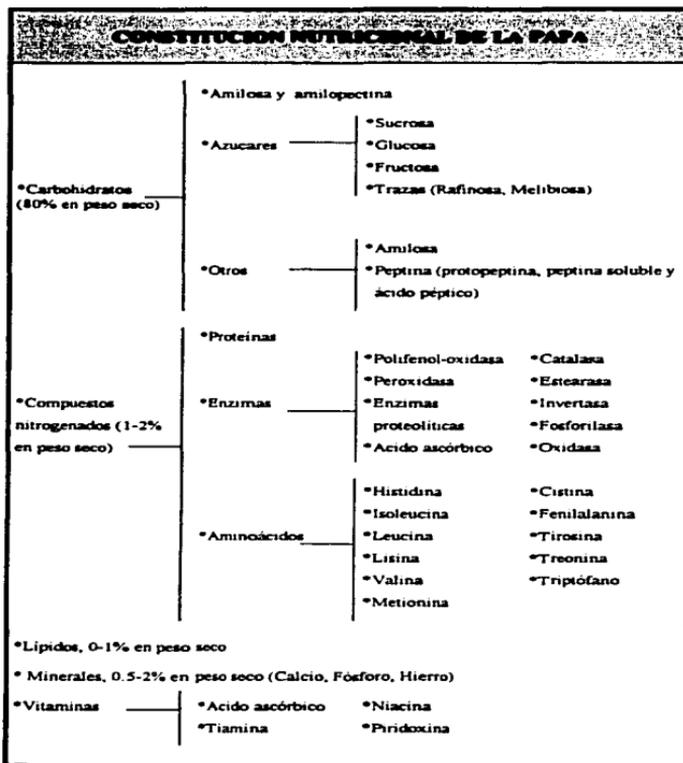
Tabla 4. Clasificación de algunas especies de papa silvestre de acuerdo a su tipo de vegetación.

ESPECIE	LUGAR DE ORIGEN	TIPO DE VEGETACION EN LA QUE SE ENCUENTRA
<i>S. megistacrolobum</i> <i>S. raphanifolium</i>	Perú	Entre los pastos y praderas
<i>S. demissum</i> <i>S. ropetalum</i> <i>S. verrucosum</i>	México	Bosques de pino
<i>S. acule</i> <i>S. sancraerosae</i> <i>S. bukasovii</i>	Bolivia, Perú y Argentina	Pastizal de alta montaña
<i>S. cardiophyllum</i> <i>S. xendinense</i> <i>S. ehrenbergii</i> <i>S. stoloniferum</i> <i>S. trifidum</i>	México	Especies con hábito ruderal (comúnmente se encuentran en orillas de carreteras y caminos)
<i>S. bulbocastanum</i> <i>S. pinnatisectum</i> <i>S. ehrenbergii</i> <i>S. stoloniferum</i>	México	En terrenos abandonados que probablemente fueron campos de cultivo

Tabla 4. ( Continuación ).

#### B.4 Importancia económica de la papa.

La papa es ampliamente comercializada, son pocas las especies cultivadas y la más conocida en el mundo es *Solanum tuberosum*, la cual ha sido estudiada ampliamente por su alto valor alimenticio. Está constituida por carbohidratos, materia nitrogenada, lípidos y cenizas (cuadro 1), por lo que es un excelente alimento de calidad nutricional baja en fibra y rica en energía neta por unidad de peso. Por ello se ha seleccionado como un alimento básico en el consumo humano, de tal forma que compite con el trigo, arroz y maíz a nivel mundial <sup>1</sup>. Las especies silvestres no son ampliamente comercializadas en las ciudades, sin embargo, en México por sus condiciones socioeconómicas-culturales, los indígenas colectan estas papas y las implementan dentro de su alimentación.

Cuadro 1. Constitución nutricional de la papa<sup>1,2</sup>.

Se tienen indicios de que este alimento fue consumido por los indígenas nómadas americanos; así como por las tribus Hopi y Navajo, quienes utilizaban las papas silvestres. Después de ser introducida la papa en Europa por los españoles, tuvo tal aceptación que actualmente es empleada con fines industriales, sobre todo para la producción de almidón<sup>1</sup>

La papa también es utilizada como forraje, para alimento de cabras, ovejas, ganado mayor y de algunos animales silvestres, los frutos son consumidos por pájaros y roedores, y los tubérculos por cerdos y animales que habitan en madrigueras<sup>7</sup>. También es útil en la rotación de la tierra en cultivos de cereales como la cebada, avena, remolacha azucarera y maíz forrajero<sup>8</sup>.

De acuerdo a una estimación de la FAO (1994), se producen aproximadamente 1,562,881 Tm mundialmente, siendo los principales productores Ecuador (425,000 Tm), República de Corea (420,000 Tm) y Armenia (415,000 Tm). México ocupa el vigesimonoveno lugar, con una producción de 1,260 Tm al año<sup>10</sup>. Toda la producción es totalmente utilizada, desde su venta en mercados hasta su industrialización, en donde los desechos de pelado son empleados para la recuperación de proteínas y preparación de medios de cultivo (para levaduras)<sup>1</sup>. Comparada con otros cultivos, ocupa el cuarto lugar de producción a nivel mundial después del trigo, maíz y arroz, ver tabla 5.

<b>PRODUCCION DE LOS PRINCIPALES CULTIVOS A NIVEL MUNDIAL</b>			
<b>CULTIVO</b>	<b>AREA COSECHADA x 10<sup>3</sup> Hectáreas</b>	<b>RENDIMIENTO kg/Hectárea</b>	<b>PRODUCCION x 10<sup>3</sup> toneladas</b>
Trigo	231,548	2,570	595,149
Arroz	145,776	3,557	518,508
Maíz	129,116	3,682	475,429
Papa	17,854	15,098	269,561
Camote	11,910	11,058	131,707

**Tabla 5.** Comparación de la papa con otros cultivos de interés mundial<sup>1</sup>.

## C. GLICOALCALOIDES.

Además de los constituyentes nutricionales de la papa, se ha informado que *S. tuberosum* y otras especies del género *Solanum*, contienen sustancias conocidas como alcaloides, que son tóxicas al ser humano y que a la planta le sirven para sobrevivir al ataque de insectos y microorganismos<sup>8</sup>.

### C.1 Alcaloides.

Se conocen cerca de 6.000 alcaloides, esta gran cantidad de productos permite una diversidad de estructuras químicas que aunado a sus actividades farmacológicas<sup>12</sup>, hacen de ellos junto con los antibióticos, uno de los grupos más importantes entre las sustancias naturales de interés terapéutico<sup>11-12</sup>.

Es difícil dar una definición exacta del término alcaloide, debido a que no se presenta un grupo homogéneo de compuestos. Desde el punto de vista químico, bioquímico o fisiológico, en general, se entiende por alcaloide a los compuestos de origen vegetal que tienen propiedades alcalinas. En todos estos compuestos, su naturaleza básica se origina por la presencia de nitrógeno amínico. Los alcaloides<sup>11</sup> contienen uno o más átomos de nitrógeno, generalmente formando parte de un anillo heterocíclico<sup>13</sup>.

Estos compuestos se presentan en las hojas, semillas, raíces y corteza de las plantas perteneciente a ciertas familias; por ejemplo, en las dicotiledóneas (*Leguminosae*, *Papaveraceae*, *Rubiaceae*, *Rutaceae*, *Solanaceae* entre otras) y monocotiledóneas

<sup>[1]</sup> Actúan como anestésicos y narcóticos (morfina, codeína), como midriáticos (atropina, homotropina), provocan aumento de la presión sanguínea (efedrina) entre otros, teniendo una actividad fisiológica variada<sup>11</sup>.

<sup>[2]</sup> Algunos autores proponen dividir a los alcaloides en tres grupos, verdaderos, protoalcaloides y pseudoalcaloides diferenciándose por su procedencia de aminoácidos<sup>11</sup>.

(*Amaryllidaceae*, *Liliaceae*) existe una gran variedad de familias que se caracterizan por poseer alcaloides como metabolitos secundarios, por lo que éstos no están distribuidos ampliamente en grandes grupos vegetales<sup>11,14</sup>

Los alcaloides comparten diversas propiedades físicas y químicas, de las cuales sobresale la poca solubilidad en agua, su solubilidad en disolventes orgánicos poco polares y su alta solubilidad en alcoholes. Debido a su basicidad forman sales con ácidos minerales y ácidos orgánicos<sup>12</sup>, las cuales estabilizan la molécula. Esta propiedad es la más importante para un análisis rápido de identificación, en donde se emplean reactivos característicos (Mayer, Wagner, Clark, Schreiber's, entre otros<sup>15-17</sup>), estas reacciones se fundamentan en la capacidad que tienen los alcaloides de combinarse con metales pesados como el bismuto, wolframio, mercurio o yodo para formar complejos coloridos solubles e insolubles<sup>16</sup>.

Su clasificación se basa en sus estructuras moleculares y sus nombres son designados según el género de la planta que los contiene y de la cual fueron aislados inicialmente. Los alcaloides de la familia *Solanaceae* tienen estructuras del tipo tropano y esteroidal<sup>14</sup>. En el género *Solanum* se han identificado alcaloides de tipo esteroidal, los cuales tienen un esqueleto de 27 átomos de carbono, existen en forma heterocíclica y pueden estar unidos a uno o más carbohidratos<sup>18</sup>.

### C.2 Glicoalcaloides del género *Solanum*.

La papa cultivada, *Solanum tuberosum*, contiene cantidades insignificantes de alcaloides (120-150 mg / kg en peso seco)<sup>19-20</sup>. Los estudios de la papa comenzaron desde 1899, encontrando una sustancia a la que denominaron solanina<sup>9</sup>, subsecuentes estudios demostraron que la solanina es un alcaloide de tipo esteroidal. Cuando dichos alcaloides se encuentran combinados con azúcares se denominan **glicoalcaloides**<sup>19</sup>, los cuales están

<sup>[4]</sup> Los alcaloides se han clasificado a partir de su núcleo estructural en diez grupos: 1- derivados de la piridina y piperidina, 2- derivados del tropano, 3- quinolínicos, 4- isoquinolínicos, 5- indólicos, 6- imidazólicos, 7- esteroides, 8-lupinánicos, 9-aminados y 10-derivados de las purinas<sup>11</sup>.

relacionados biogenéticamente con las saponinas<sup>131</sup>. Los glicoalcaloides de la papa contienen nitrógeno en la estructura base denominada **aglicona**, que posee un esqueleto similar al colesterol (figura 1).

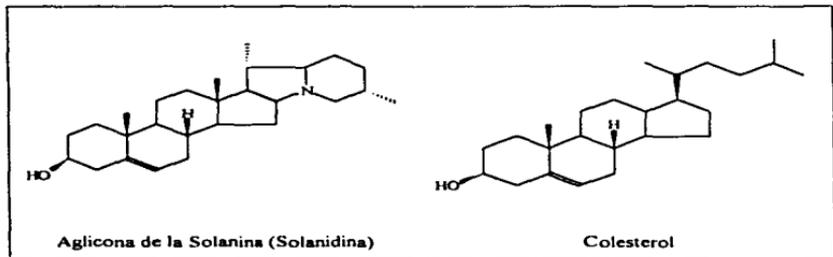


Figura 1. Estructura base de los alcaloides (Solanidina) y estructura del colesterol.

Las especies de *Solanum* han sido ampliamente estudiadas, y en ellas se han encontrado una gran variedad de alcaloides, los cuales se han clasificado según su esqueleto base: **solanidano**, caracterizado por un sistema indolizidina ( $\alpha$ -chaconina, leptinidina, demissina); **espirosolano**, caracterizado por un sistema oxa-azaspirodecano (anguivina, solasodina, solamarina) y **secosolanidano** (solacongostidina, solanofortina, solaquinidina). Dichos esqueletos base se muestran en la figura 2. Estas estructuras son las más conocidas por su amplia distribución en un gran número de especies de *Solanum*. En la tabla 6 se enlistan las estructuras de los alcaloides hasta hoy identificados dentro de especies del género *Solanum*, así como sus respectivas especies de donde fueron aislados.

<sup>131</sup> Las saponinas son glucósidos formados por la sapogenina y diversos azúcares, la sapogenina tiene una estructura esteroidal y su principal acción fisiológica es lisar los eritrocitos<sup>14</sup>.

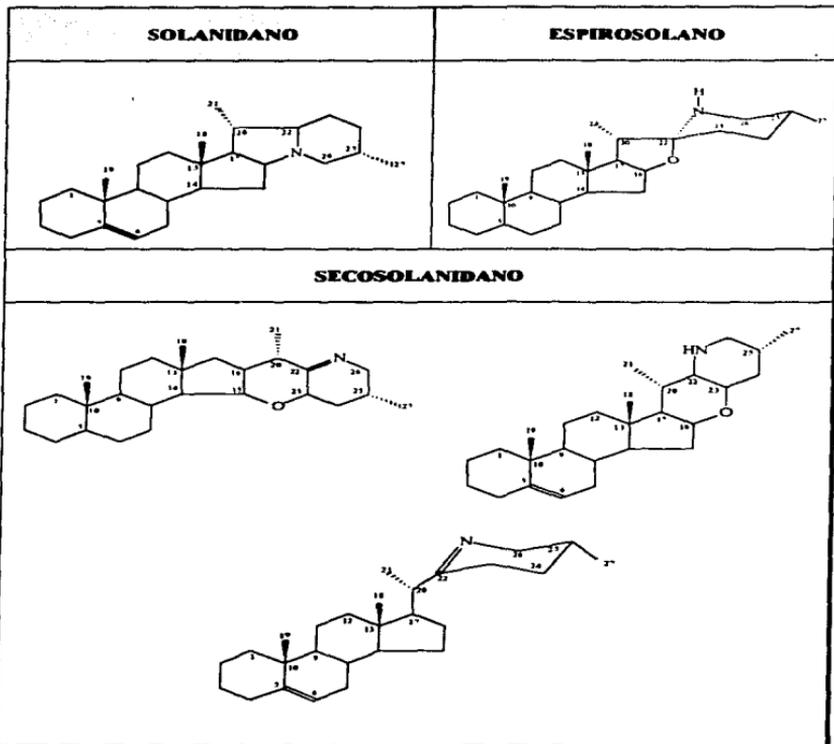


Figura 3 Esqueleto base de los tres tipos de esqueleto esteroideal para especies de *Solanum*<sup>21</sup>.

ALCALOIDES AISLADOS DE DIVERSAS ESPECIES DE <i>Solanum</i>			
ESPECIE	SUSTANCIA	ESTRUCTURA	REFERENCIA
<i>S. anguivi</i>	Anguivina	1	22
	Isoanguivina	2	22
<i>S. aviculare</i>	Solanaviol	3	23
	5 $\beta$ -Solasodan-3-ona	4	24
<i>S. calium</i>	Isoalafloindina	5	25
	Solacallindina	6	25
<i>S. capsicastrum</i>	Capicastrina	7	26
	Etiolina	8	26
	Isofernemina	9	26
<i>S. chacoense</i>	Solanidina	10	27,28
	$\alpha$ -Chaconina	11	27,29
	$\beta$ -Chaconina	12	27,29
	$\gamma$ -Chaconina	13	27,29
	Leptinidina	14	27,30,31
	Leptina I	15	28
	Leptina II	16	28
	$\Delta^3$ -Tomatidenol-3 $\beta$	17	32-34
<i>S. commersoni</i>	Commersonina	18	35
	Demissina	19	35
	Demissidina	20	35
<i>S. congestiflorum</i>	Solacongestidina	21	36
	Solafloindina	22	36,37
	23-Oxosolacongestidina	23	36
	24-Oxosolacongestidina	24	36
<i>S. demissum</i>	Comersonina	18	35
	Demissina	19	35
	Demissidina	20	35
<i>S. dulcamara</i>	Soladulcamarina	25	32
	$\alpha$ -Solamarina	26	32
	$\beta$ -Solamarina	27	32
	$\gamma$ -Solamarina	28	32
	$\Delta^3$ -Tomatidieno	29	32
	$\Delta^3$ -Tomatidenol-3- $\beta$	17	32-34
	Tomatidina	30	32,38
	Solasodina	31	32,34,39,40
	Soladulcidina	32	32
<i>S. donatianum</i>	Soladulnalindina	33	41
<i>S. ecuadorense</i>	Solafilidina	34	42-43
	Desacetilsolafilidina	35	42-43

Tabla 6. Glicocalcoides encontrados en algunas especies del género *Solanum*.

ESPECIE	SUSTANCIA	ESTRUCTURA	REFERENCIA
<i>S. giganteum</i>	Isosolacapina	36	44
	Solacapina	37	44
	Episolacapina	38	44
<i>S. halnanense</i>	Solasodenona	39	45
<i>S. havanense</i>	Havanina	40	46
<i>S. hypomalacophyllum</i>	Solamaladina	41	47
<i>S. incaum</i>	Solasodina	31	32,34,39-40
<i>S. khasianum</i>	Khasianina	42	48
<i>S. pinnatum</i>	$\beta$ -Solamargina	43	49
<i>S. platanifolium</i>	Solamargina	44	49,51
<i>S. pseudocapsium</i>	Solanocapina	45	52-53
	Solacasina	46	53
	Episolacapina	38	44
	Solaquinidina	47	54
<i>S. pubescens</i>	Solanopubamina	48	55
	Solanopubamida A	49	55
	Solanopubamida B	50	55
<i>S. robustum</i>	N-hidroxisolasodina	51	56
<i>S. seaforthium</i>	Solaseafortina	52	57
	Solanofortina	53	57
<i>S. toxicarium</i>	Solaverina I	54	58
	Solaverina II	55	58
	Solaverina III	56	58
<i>S. tuberosum</i>	Solanidina	10	27-28
	$\alpha$ -Chaconina	11	27-29
	$\beta$ -Chaconina	12	27-29
	$\alpha$ -Solanina	57	29
	$\beta$ -Solanina	58	29
	$\gamma$ -Solanina	59	29
	$\Delta^8$ -Tomatidenol-3- $\beta$	17	32,34
<i>S. verbascifolium</i>	Solaverina III	56	58
<i>S. xanthocarpum</i>	Solamargina	44	49
	$\beta$ -Solamargina	43	49

Tabla 6. (Continuación).

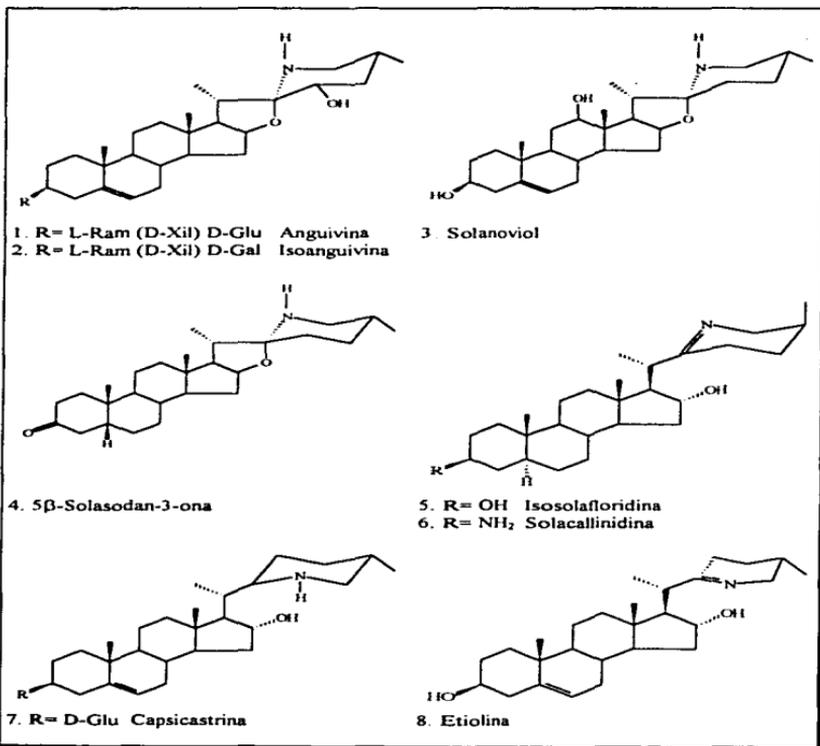


Figura 3. (Continuación).

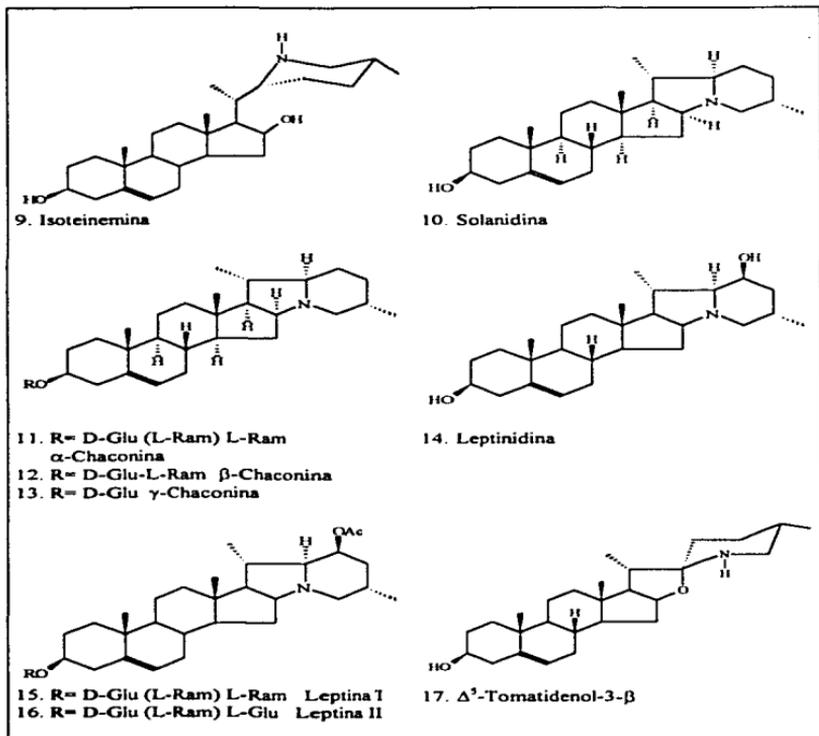
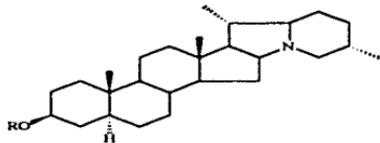
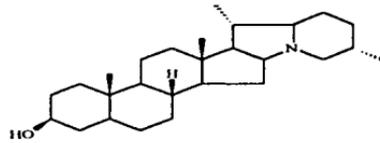


Figura 3. (Continuación).

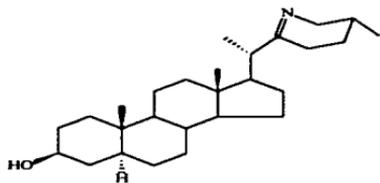


18. R= D-Gal (D-Glu (D-Glu) D-Glu)  
Commersonina

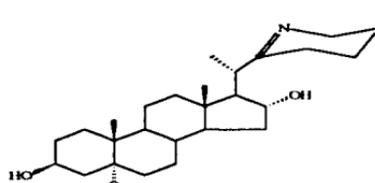
19. R= D-Gal (D-Glu (D-Glu) D-Xil)  
Demissina



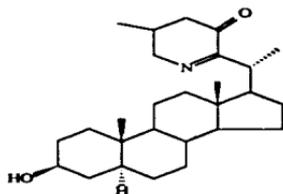
20. Demissina



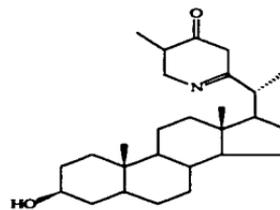
21. Solacongostidina



22. Solafloridina



23. 23-Oxosolacongostidina



24. 24-Oxosolacongostidina

Figura 3. (Continuación).

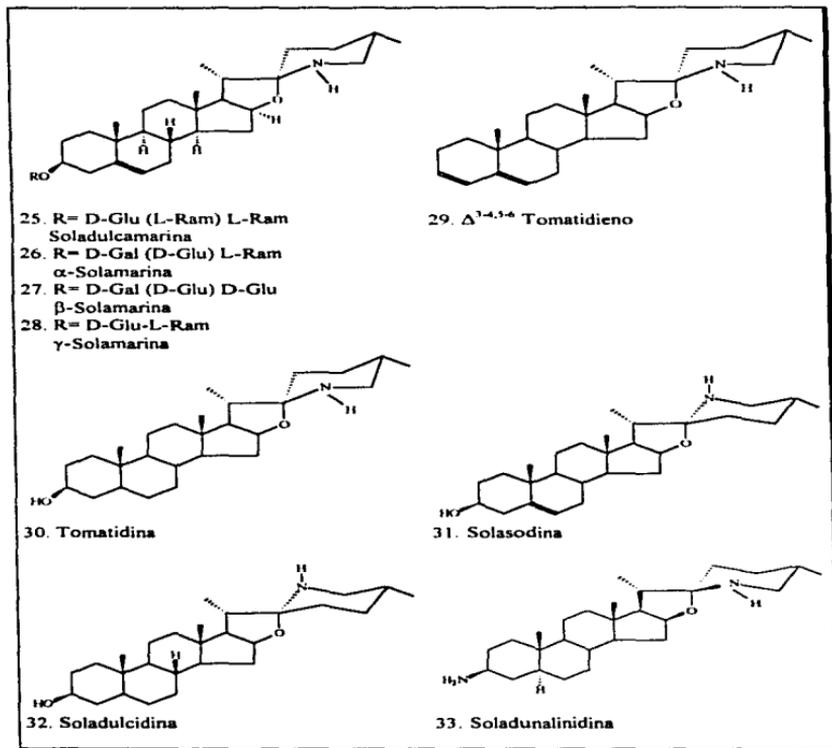


Figura 3. (Continuación).

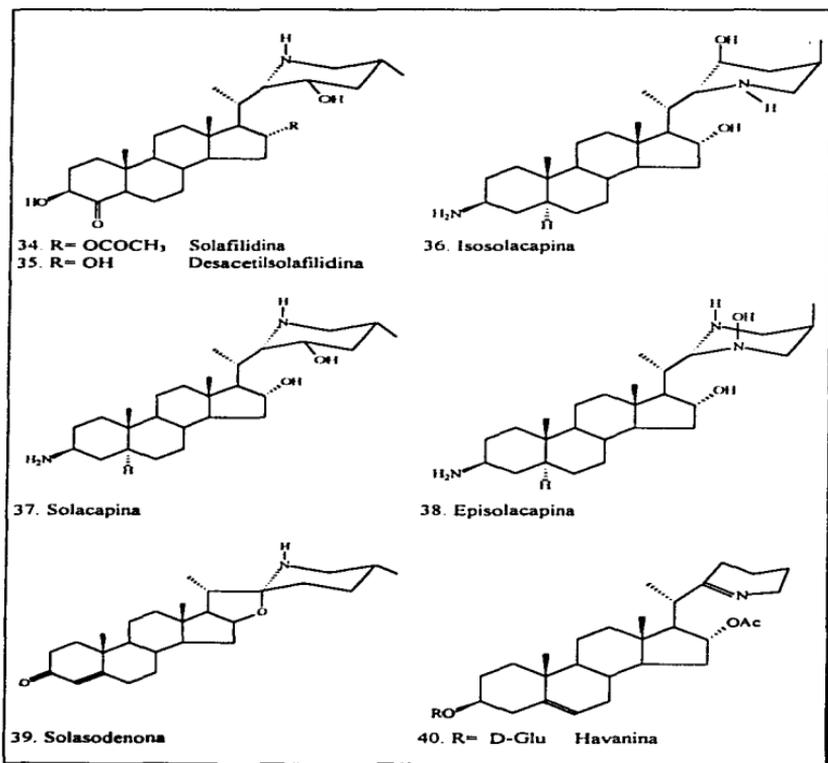


Figura 3. (Continuación).

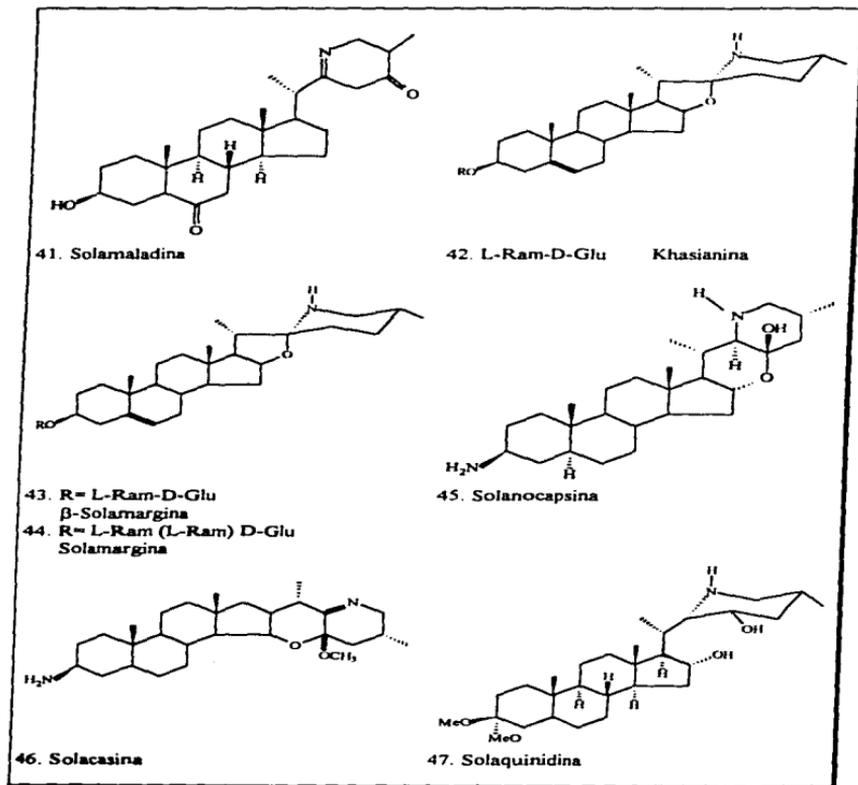


Figura 3. (Continuación).

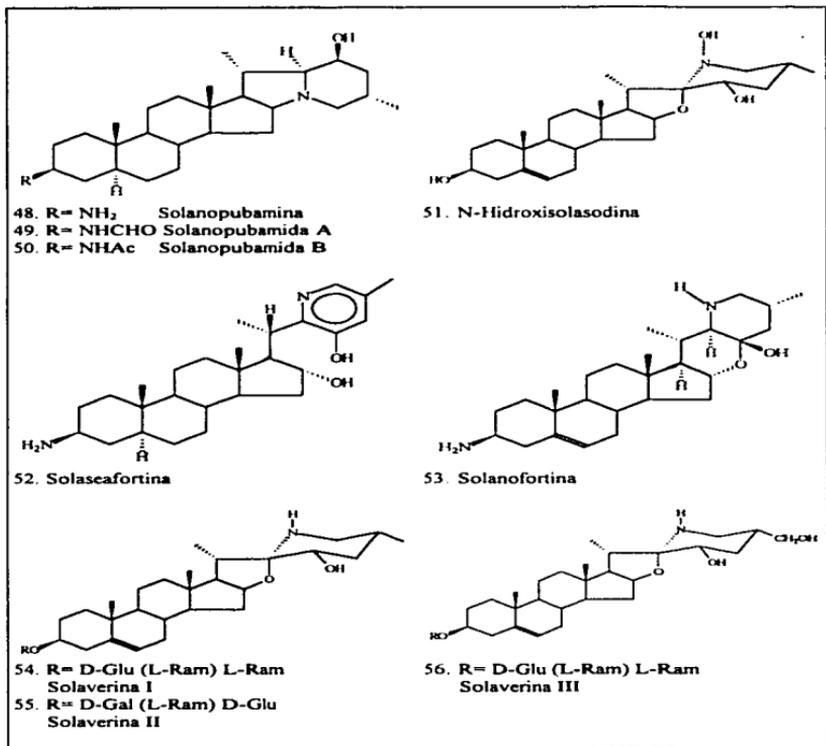
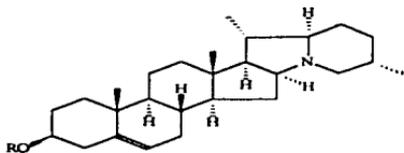


Figura 3. (Continuación).



- |                            |                    |
|----------------------------|--------------------|
| 57. R= D-Gal (D-Glu) L-Ram | $\alpha$ -Solanina |
| 58. R= D-Gal- D-Glu        | $\beta$ -Solanina  |
| 59. R= D-Gal               | $\gamma$ -Solanina |

Figura 3. (Continuación).

### C.2.1 Distribución en la planta.

Se han realizado varias investigaciones sobre la distribución de los glicoalcaloides en el tubérculo de la planta<sup>8-9,11</sup>, en las cuales se ha encontrado mayor proporción en los brotes y cáscara del tubérculo verde (tabla 7). Se ha informado que en el tallo, se presenta un 60% de  $\alpha$ -chaconina y el 40% a  $\alpha$ -solanina<sup>9</sup>. Para la determinación del contenido total se han diseñado varios métodos cualitativos<sup>16-17</sup> y cuantitativos<sup>10-12</sup>. De éstos últimos, el trabajo más destacado es el de Fitzpatrick y Osman (1974), quienes utilizan una titulación óxido-reducción empleando azul de bromofenol como agente titulante e indicador<sup>19</sup>.

<b>DISTRIBUCION DE GLICOALCALOIDES TOTALES EN LA PAPA</b>	
<b>PARTE DE LA PAPA</b>	<b>GLICOALCALOIDES TOTALES (mg/100g)</b>
Planta	200-400
Brote	300-500
Flores	3
Tallo	40-100
Tejido normal del tubérculo:	
Cáscara superficial (2-3% del tubérculo)	30-60
Cáscara profunda (10-15% del tubérculo)	15-30
Cáscara y parte de la pulpa	30-50
Cáscara de tubérculo verde	150-220
Pulpa	1.2-5
Tubérculo verde	25-80

Tabla 7. Distribución de glicoalcaloides totales en la papa, sin secado previo<sup>9</sup>.

Debido al alto contenido de alcaloides presentes en la papa comestible, se han llevado a cabo investigaciones en otras variedades cultivables como Russet-Burbank, Kennebec, Katabdin, Green Mountain, Superior y Russet, de las cuales, la que tiene mayor contenido de alcaloides en cáscara es la Kennebec (tabla 8).

<b>CONTENIDO TOTAL DE GLICOALCALOIDES EN PAPA Y CÁSCARA DE PAPAS COMESTIBLES COMERCIALES</b>		
<b>VARIEDAD</b>	<b>PULPA (mg/kg)</b>	<b>CÁSCARA (mg/kg)</b>
Russet-Burbank	16-45	350-700
Kennebec	13-42	830-1070
Katabdin	3-6	310-730
Green Mountain	1-5	220-260
Superior	1-3	210-260
Russet	0.4-2	40-70

Tabla 8. Contenido total de glicoalcaloides en variedades de papas comestibles<sup>a</sup>.

Se ha propuesto que algunos factores pueden determinar la distribución y el contenido de glicoalcaloides en la papa. Entre éstos, la fotoinducción es la más importante, ya que la producción de clorofila induce el color verde, el cual ha sido asociado con la presencia de alcaloides. Estas papas se caracterizan por su sabor amargo y por su alta toxicidad. En el cuadro 2, se enlistan otros factores que influyen en la formación de alcaloides.

<b>FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CONTENIDO DE GLICOALCALOIDES EN LA PAPA</b>	
<b>FACTOR</b>	<b>OBSERVACION</b>
Localización, clima y ambiente	Debido a que pueden crecer en varias regiones (tabla 4), estos factores contribuyen en mayor o menor grado en la concentración de glicoalcaloides.
Fotoinducción	La clorofila ocasiona el color verde de la papa y este ha sido asociado al contenido de glicoalcaloides, pero se ha demostrado que la concentración de éstos es independiente de la formación de la clorofila.
Madurez	Las papas pequeñas tienen mayor contenido de glicoalcaloides.
Almacenaje y temperatura	Las condiciones de almacenamiento pueden ocasionar que los glicoalcaloides se descompongan.

Cuadro 2. Factores que afectan el contenido de glicoalcaloides en la papa<sup>1-3</sup>.

### C.3 Importancia del estudio de los glicoalcaloides en especies de *Solanum*.

En las especies de *Solanum* se han aislado un gran número de compuestos de tipo esterooidal, los cuales han sido estudiados farmacológicamente y a nivel de fitomejoramiento, con la finalidad de encontrar una utilidad, ya sea medicinal o a nivel industrial; así como para el mejoramiento de zonas de cultivo.

El estudio de las sustancias caracterizadas como glicoalcaloides abarcan tres aspectos de interés: toxicológico, industrial y farmacológico. La  $\alpha$ -solanina ha sido considerada como una sustancia tóxica<sup>61-64</sup>, por los síntomas característicos que produce al ser ingerida como son: dolor de cabeza, vómito, convulsiones, disturbios respiratorios, actividad cardíaca, diarrea, apatía, alucinaciones, confusión mental y disturbios visuales. A esta sustancia junto con la  $\alpha$ -chaconina, se les han atribuido los siguientes efectos tóxicos y farmacológicos:

- Inhiben la acetilcolinesterasa *in vitro* e *in vivo*<sup>63</sup>.
- Actividad similar a las saponinas, causando lisis celular<sup>9</sup>.
- Causa necrosis de la mucosa intestinal<sup>61</sup>.
- La solanina se absorbe muy poco por vía oral<sup>65</sup>.
- La solanina se acumula en tejido en 12 horas<sup>65</sup>.
- Los órganos en donde se muestra mayor acumulación de solanina son hígado, riñón, pulmón y corazón<sup>9</sup>.
- La  $\alpha$ -solanina presenta propiedades anestésicas locales<sup>22</sup>.
- La  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina tienen actividad antifúngica contra *Ascobolus crenulatus*, *Alternaria brassicicola*, *Phoma medicaginis* y *Rhizoctonia solani*<sup>66</sup>.
- La  $\beta$ -solamarina se ha probado contra células tumorales<sup>67</sup>.
- La solanidina muestra actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium smegmatis* 607B y *Candida albicans*<sup>68</sup>.
- *S. pseudocapsicum* tiene actividad contra *Mycobacterium tuberculosis*<sup>65</sup>.

En la industria para la obtención de corticosteroides se recurre a la hecogenina, fuente de diosgenina y a la utilización de alcaloides esteroidales de especies de *Solanum*. La solasodina, análogo nitrogenado de la diosgenina, está adquiriendo gran importancia como materia prima para la producción de hormonas esteroidales, en parte debido a los problemas relacionados con el abastecimiento de diosgenina. Se ha informado que la solasodina obtenida de *S. laciniatum*, es la única fuente para la producción de cortisona y progesterona. Existen además numerosos informes provenientes de Australia, Bulgaria, China, Hungría, Nueva Zelanda, y Polonia que informan sobre estudios preliminares dirigidos a la obtención de solasodina, en escala industrial de otras especies de *Solanum*<sup>69</sup>.

Por otro lado se han estudiado los factores genéticos y ambientales que puedan producir medidas dirigidas al fitomejoramiento así como técnicas de procesamiento para mantener bajos niveles de glicoalcaloides en especies de *Solanum* comestibles, principalmente la papa<sup>70</sup>.

Los glicoalcaloides de la papa, tienen propiedades antimicrobianas y pesticidas, estos elementos fitoquímicos han sido incorporados en las especies de *Solanum*, como factores naturales de resistencia al escarabajo de la papa — *Leptinotarsa decemlineata* Say — y la cigarrita verde — *Empoasca fabae* —<sup>67</sup>.

#### **D. GENERALIDADES DE LOS ENSAYOS BIOLÓGICOS.**

El reino vegetal representa una extraordinaria reserva de moléculas, se ha estimado que de 250 000 a 500 000 especies de plantas alrededor del mundo existen, solo un pequeño porcentaje ha sido investigado fitoquímicamente y la fracción sujeta a ensayos biológicos o farmacológicos es muy baja.

La parte crucial de una investigación de plantas con actividades biológicas y la disponibilidad de bioensayos para el monitoreo biodirigido<sup>66,71</sup> se encuentra en la capacidad de manejar una gran cantidad de muestras con sistemas de prueba que deben ser idealmente simples, rápidos, reproducibles y baratos. Si los principios activos están solo presentes en bajas concentraciones en el extracto crudo, el bioensayo tiene que ser de alta sensibilidad para su detección. Al mismo tiempo, el número de falsos positivos debe ser minimizado. Otro factor de especial relevancia para los extractos de plantas es la solubilidad de la muestra - para lo cual se debe emplear un disolvente que no interfiera en los resultados-.

Cuando se decide realizar un ensayo biológico en una investigación de los constituyentes de una planta, el primer paso es escoger los organismos blanco. Ellos pueden ser organismos inferiores (microorganismos, insectos, crustáceos o moluscos), sistemas subcelulares (enzimas, receptores u organelos), cultivos de células de origen humano o animal, organismos aislados de vertebrados o animales integros<sup>72</sup>.

La complejidad de los bioensayos esta en función de las facilidades, fuentes y personal disponible, la mayoría de los laboratorios fitoquímicos encargados de la investigación de plantas medicinales bioactivas, no tienen las facilidades para utilizar animales especializados (ratas, conejos, cobayos etc.); consecuentemente, se han hecho esfuerzos para introducir bioensayos simples y baratos para el monitoreo de extractos de plantas y fracciones. Una selección de esos bioensayos se muestra en la tabla 9, la lista cubre una variedad de blancos que van desde la prueba de toxicidad general con *Artemia salina* L., hasta la actividad moluscocida con *Bromphalaria glabrata*, de esta manera diferentes propiedades y tipos de enfermedades, incluyendo afecciones microbianas y enfermedades parasitarias pueden ser investigadas<sup>72</sup>.

<sup>66</sup> Un estudio biodirigido tiene como finalidad seguir la actividad biológica durante la fraccionación de extractos. La actividad biológica a través de un ensayo permite conocer la naturaleza, constitución o potencia de un material o sustancia a través de la dosis empleada<sup>11</sup>.

TIPOS DE ENSAYOS BIOLÓGICOS	
ACTIVIDAD	BLANCO
Antibacterial	Bacterias patógenas ( <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Erwinia spp.</i> )
Antifúngica	Hongos y levaduras patógenas ( <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Cladosporium spp.</i> )
Toxicidad del camarón de mar	<i>Artemia salina</i> L.
Inhibición del desarrollo de tumores (ensayo de discos de papa)	Celulas de papa ( <i>Solanum tuberosum</i> ) tuberculo transformado por <i>Agrobacterium tumefaciens</i>
Actividad antimitótica	Erizo de mar ( <i>Strongylocentrotus spp.</i> ) huevecillos
Actividad insecticida	<i>Spodoptera spp.</i> (gusano africano), <i>Epilachna varivestis</i> (escarabajo de haba mexicano)
Actividad larvicida	<i>Aedes aegypti</i> (mosquito vector de la fiebre amarilla)
Actividad moluscocida	Catacol transmisor de la esquistosomiasis ( <i>Biomphalaria glabrata</i> )

Tabla 9. Tipos de ensayos biológicos utilizados en una investigación biotecnológica<sup>2</sup>.

Los bioensayos en las primeras etapas de una investigación biodirigida no son específicos, sólo nos refieren toxicidad o inhibición de microorganismos. El bioensayo de toxicidad en *Artemia salina* L. de Meyer<sup>71</sup> y el ensayo antimicrobiano de Mistcher<sup>68</sup>, que son los utilizados en el presente trabajo se describirán a continuación de manera sucinta.

#### **D.1 Bioensayo de *Artemia salina* L.**

Los organismos invertebrados especialmente los artrópodos acuáticos, han adquirido gran interés en los bioensayos de toxicidad<sup>74</sup>. Dentro de la subclase *Branchiopoda* - los filopodos- encontramos a *Anastrocan crustaceans*, conocida como *Artemia salina* L. Sus características físicas dependen en gran medida de las condiciones en las que se encuentre, por ejemplo se ha determinado que sus dimensiones varían con la temperatura de 10-12 mm, en tanto que el color varía de rojo claro en un medio con poco oxígeno, y con alta oxigenación tiene color rojo o rosa pálido<sup>75</sup>.

Las características por las cuales es usado este crustáceo son las siguientes<sup>73</sup>:

- Los huevecillos son de bajo costo y se mantienen viables por varios años en estado seco.
- Proporcionan una prueba de toxicidad a corto plazo debido a su rápido crecimiento.
- Se obtienen poblaciones homogéneas sincronizadas en diferentes estadios de desarrollo.

El bioensayo de *Artemia salina* L. determina la toxicidad -  $CL_{50}$  - tanto en extractos como en productos aislados<sup>73</sup>. Esta concentración ha sido determinada para algunos alcaloides como se observa en la tabla 10 y se ha demostrado que este método es de gran utilidad en análisis de residuos de pesticidas, micotoxinas, anestésicos, compuestos como la morfina entre otros.

ALCALOIDE	Cl <sub>50</sub> (µg/ml)
Cloruro de berberina	22.5
Digitalina	151
Sulfato de efedrina	215
Cafeína	306
Sulfato de atropina	686

Tabla 10. Bioensayo de *Artemia salina* L. de alcaloides conocidos<sup>73</sup>.

#### D.2 Ensayo antimicrobiano para extractos de plantas

Los antibióticos y análogos sintéticos siguen siendo fuente de estudio dentro del área clínica, las investigaciones de éstos están encaminadas a encontrar la actividad que presentan contra agentes infecciosos. De esta idea surge el hecho de probar extractos y sustancias puras obtenidas de productos naturales, para lo cual se han ideado una gran variedad de métodos antimicrobianos, los cuales permiten la visualización rápida de la utilidad farmacológica, debido a que los microorganismos empleados son representativos agentes etiológicos de enfermedades humanas que afectan piel, ojos, aparato respiratorio, digestivo, nervioso, urinario, genital entre otros.

Los métodos antimicrobianos pueden clasificarse en aquellos que requieren o no esterilización. En los primeros se puede emplear esterilización por filtración con membrana o por medio de radiación; si no se requiere de esterilización, entonces se preparan todas las muestras en un medio aséptico (empleando material de vidrio estéril, campana de flujo laminar etc.)<sup>74</sup>.

De los métodos antimicrobianos se conocen los de difusión, dilución y bioautográficos<sup>76</sup>.

- **Método de difusión:** Este método fue originalmente desarrollado para monitorear cantidades de antibióticos, sustancias de fermentación y elaboración de antibiogramas. En la técnica de difusión se emplean discos de papel, cilindros de porcelana u oradaciones en el medio, se coloca el extracto de la planta en éstos y se pone en contacto con un medio de agar inoculado de microorganismos. Después de la incubación, la respuesta se mide por el diámetro de la zona de inhibición del desarrollo microbiano. Este método tiene la ventaja de no requerir esterilización, se pueden probar varios extractos al mismo tiempo con un mismo organismo, ya que se requieren cantidades mínimas de la muestra y el resultado de la prueba es lineal (el diámetro de inhibición está inversamente relacionado con la concentración mínima inhibitoria).
- **Método de dilución.** En el método de dilución las muestras probadas son mezcladas en el medio, el cual previamente ha sido inoculado con microorganismos. Después de la incubación, el desarrollo de microorganismos es determinado por observación directa o comparación turbidimétrica con respecto a una muestra control. Se realiza una serie de diluciones de la muestra original y después de la incubación se determina en cual de ellas se presenta la concentración mínima inhibitoria. La ventaja de éste método es que no requiere esterilización del extracto, ya que los microorganismos aerobicos no se desarrollan bien en el medio solidificado, además los extractos no polares, esencialmente los aceites, suspensiones sólidas o emulsiones (las cuales no pueden ser probadas fácilmente), pueden ser probadas como las acuosas. A diferencia del método de difusión, en el método de dilución se pueden probar muchos microorganismos en la misma dilución.
- **Método bioautográfico.** La bioautografía es un método que identifica la actividad antimicrobiana en un cromatograma, se encuentra dentro de las aplicaciones de la investigación de antibióticos. Muchos procedimientos se basan en la técnica de difusión en agar, los agentes antimicrobianos son transferidos de una cromatografía en capa fina o papel a una placa inoculada con microorganismos. Las zonas de inhibición son visualizadas y para

diferenciar bien la difusión se emplea la bioautografía directa. Este método requiere de equipo microbiológico especial debido a que las muestras son susceptibles de contaminación.

La selección del método dependerá de las condiciones del laboratorio donde se realice y de las características de sensibilidad requeridas. En la tabla 11, se presentan las propiedades y limitaciones de los métodos antimicrobianos.

<b>PROPIEDADES Y LIMITACIONES DE LOS METODOS ANTIMICROBIANOS</b>				
Método	REQUERIMIENTOS DE LOS EXTRACTOS DE PLANTAS		DETECCION DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA	
	Esterilización	Dispersión homogénea en agua	Evaluación bacteriostática o bactericida	Detección de potencia baja o alta
<b>Difusión en agar</b>				
*discos y cilindros	No	Si	Bacteriostático	Alta y baja
*oradaciones	No	No	Bacteriostático	Alta y baja
<b>Dilución en agar</b>	No	No	Bacteriostático	Alta y baja
<b>Dilución líquida</b>	Si	No	Bacteriostático Bactericida	Alta y baja
<b>Bioautografía</b>				
*contacto	No	No	Bacteriostático	Solo alta
*directa	Si	No	Bacteriostático	Solo alta

**Tabla 11.** Propiedades y limitaciones de los métodos antimicrobianos <sup>10</sup>.

De los ensayos más sobresalientes se encuentra el de Carlson y Douglas (1948) y Mitscher (1972)<sup>68</sup>. El método de Mitscher se basa en la inhibición del crecimiento de diversos microorganismos, cuando son expuestos a un medio de cultivo que contiene el extracto o las sustancias puras a probar, este método es conocido como estria y dilución en agar en donde la concentración empleada para los extractos crudos de plantas es de 1000 µg/ml

El estudio en géneros de la familia *Solanaceae* ha sido probada por este método (tabla 12), además se ha evaluado la solanidina, siendo los siguientes microorganismos sensibles a esta sustancia pura: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella gallinarum*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium smegmatis* 607 B y *Candida albicans*<sup>68</sup>.

ESPECIES DE LA FAMILIA <i>Solanaceae</i> PROBADAS CON EL METODO DE MITSCHER							
VEGETAL	PARTE	CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (µg/ml)					
		1	2	3	4	5	6
<i>Capsicum frutescens</i> <i>Physalis franchetta</i> <i>Physalis minima L.</i> <i>Solanum carolinense L.</i> <i>Solanum pseudocapsicum L.</i>	Fruta					1000	
	Partes aéreas					1000	
	Partes aéreas					1000	
	Partes aéreas						1000
	Fruta, cascara de fruta y raíz.					1000	

1 - *Staphylococcus aureus*

2 - *Escherichia coli*

3 - *Salmonella gallinarum*

4 - *Klebsiella pneumoniae*

5 - *Mycobacterium smegmatis* 607 B

6 - *Candida albicans*

**Tabla 12.** Extractos etanólicos de algunas especies de la familia *Solanaceae* probadas con el método de Mitscher<sup>68</sup>.

#### **IV.-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Debido a su gran riqueza biológica, México es considerado entre los países de megadiversidad, donde destacan las plantas cultivadas, cabe señalar que los antiguos pueblos mesoamericanos dieron al mundo cerca de 80 especies de plantas cultivadas, entre las que destacan: maíz, frijol, chile, aguacate, jitomate, amaranto, entre otros. Actualmente los indígenas de nuestro país poseen todavía un considerable conocimiento de su entorno natural, son ellos los que siguen preservando y aumentando la gran cantidad de especies cultivadas que le brindaron sus antepasados. Adaptados a muy diversas condiciones climáticas, altitudes, relieves, y suelos, estas variedades constituyen una gigantesca reserva de géneros. Además, estos grupos indígenas emplean para su subsistencia una gran cantidad de hongos, plantas y animales silvestres. Se estima que más del 25% del total de especies de plantas que hay en el país posee algún uso, lo que constituye un universo vegetal de una enorme potencialidad, que puede proveer de una basta cantidad de materias primas.

Con base en lo anterior, y debido a que nuestro país constituye un centro de variabilidad importante de especies silvestres de papa — 33 especies diferentes —, se ha planteado el estudio químico preliminar de *S. stoloniferum*, especie silvestre originaria del Altiplano Potosino-Zacatecano, con el objeto de determinar e identificar los glicoalcaloides mayoritarios. Así como el estudio biológico preliminar de cuatro especies silvestres (*S. stoloniferum*, *S. cardiophyllum*, *S. polytrichon* y *S. michoacanum*) con la finalidad de evaluar su toxicidad y actividad antimicrobiana. Para que posteriormente sea valorada como una fuente alterna de consumo o bien como fuente de materias primas, que pueda servir para el desarrollo de nuevas sustancias, las cuales puedan tener interés desde diversos puntos de vista — químico, farmacológico, toxicológico, agronómico entre otros —.

---

## **V.- OBJETIVOS**

## A. OBJETIVO GENERAL

Realizar el estudio químico preliminar de las partes aéreas, cáscara, pulpa y raíz de *Solanum stoloniferum*; con la finalidad de aislar, purificar y caracterizar los glicoalcaloides mayoritarios u otros metabolitos secundarios presentes en dicha especie vegetal. Así mismo, se realizará la evaluación biológica preliminar de los extractos hexánico, acetato de etilo y metanólico de las partes aéreas de *S. stoloniferum*, *S. cardiophyllum*, *S. polytrichon* y *S. michoacanum*, para determinar sus propiedades toxicológicas y antimicrobianas.

## B. OBJETIVOS ESPECIFICOS

### A) ESTUDIO QUIMICO DE *S. stoloniferum*.

1. Recolectar y clasificar el material vegetal, de acuerdo con lo sugerido por un especialista en botánica.
2. Obtener los diferentes extractos a partir del material vegetal seco — partes aéreas, cáscara, pulpa y raíz —, mediante técnicas de extracción sólido-líquido y líquido-líquido con disolventes de polaridad creciente.
3. Determinar cualitativamente la presencia de alcaloides en el extracto etanólico de la ruda (*Ruta graveolens*) y en el extracto etanólico de las semillas de colorín (*Erythrina americana*), por medio de reactivos específicos y siguiendo la metodología descrita en la literatura.
4. Determinar cualitativamente la presencia de alcaloides en el extracto hexánico y clorofórmico obtenidos de las partes aéreas, cáscara y pulpa de *S. stoloniferum* por medio de reactivos específicos de acuerdo con la metodología descrita en la literatura.

5. Determinar los glicoalcaloides más comunes ( $\alpha$ -solanina,  $\alpha$ -chaconina, demissina y solanidina) aislados de otras especies de papas silvestres, por comparación en ~~000~~, empleando reveladores específicos.
6. Aislar y purificar los glicoalcaloides u otros metabolitos secundarios, empleando las diferentes técnicas de extracción y purificación entre otras.
7. Caracterizar e identificar los glicoalcaloides obtenidos de los diferentes extractos con base en sus propiedades físicas y constantes espectroscópicas y espectrométricas; así como por transformaciones químicas que confirmen la estructura propuesta.

#### B) ESTUDIO BIOLÓGICO.

1. Obtener los diferentes extractos a partir del material vegetal seco —partes aéreas y raíz —, mediante técnicas de extracción sólido-líquido con disolventes de polaridad creciente.
2. Evaluar la toxicidad ( $CL_{50}$ ) de los extractos obtenidos (hexánico, acetato de etilo y metanólico) frente *Artemia salina* L.
3. Evaluar las propiedades antimicrobianas de cada uno de los extractos crudos obtenidos empleando el método de dilución.

## **VI. HIPOTESIS DE TRABAJO**

Existen una gran variedad de especies de papa en el mundo, las cuales pueden clasificarse en domesticadas y silvestres. Las primeras, las cuales son la minoría, son utilizadas como alimento y fuente de materia prima; mientras que las silvestres debido a sus propiedades físicas y características organolépticas son escasamente utilizadas y generalmente desechadas.

Estudios químicos realizados a diferentes especies de papa tanto domesticada como silvestre han demostrado que éstas contienen pequeñas cantidades de alcaloides de tipo esteroidal y se cree que existen en mayor proporción en las especies silvestres, razón por la cual son poco aprovechadas. Sin embargo, en México debido a sus condiciones socioeconómico-culturales algunas de las papas silvestres son consumidas

Así al evaluar su toxicidad frente *Artemia Salina* L. y su actividad antimicrobiana de los diferentes extractos crudos de las partes aéreas y raíces de cuatro especies, se podrá determinar su actividad como agente citotóxico, antibacteriano y antifúngico. Mientras que el estudio químico diferenciado de *S. stoloniferum* permitirá aislar y caracterizar los glicoalcaloides u otros metabolitos presentes en las partes aéreas, raíz y tubérculo de dicha especie vegetal.

## VII. METODOLOGIA

## I. MATERIAL

### A) Material vegetal.

- *Solanum cardiophyllum*, FEZA-4115
- *Solanum ehrenbergii*, FEZA-4116
- *Solanum michoacanum*, FEZA-4117
- *Solanum polytrichon*, FEZA-4118
- *Solanum stoloniferum* FEZA-4119

### B) Material para la extracción, aislamiento, purificación, caracterización e identificación de los metabolitos secundarios.

- Material de vidrio.
  - Cámaras de elución para cromatofolios de diferentes tamaños.
  - Capilares.
  - Columnas cromatográficas de diferentes tamaños.
  - Embudo Hirsh de porcelana.
  - Embudos de tallo corto.
  - Equipo para la destilación fraccionada.
  - Frascos viales de 5 y 10 ml.
  - Matraces bola de 100, 250, 500 y 1000 ml.
  - Matraces Erlenmeyer de 50 y 125 ml.
  - Placa de toque de porcelana.
  - Probetas graduadas de 10, 50, 100, 500 y 1000 ml.
- Sustancias.
  - Acido (+)- tartárico (Técnica química).
  - Acido acético glacial (Baker).
  - Acido clorhídrico (Baker).
  - Acido fosfomolibdico (Baker).
  - Acido fosfórico (Baker).
  - Acido picrico (Baker).
  - Acido sulfúrico (Baker).
  - Acido tánico (Baker).
  - Carbón activado vegetal (Lab. Laitz).
  - Celite 545 (Merck).
  - Cloruro mercúrico (Baker).
  - Colchicina (Aldrich).

- Demissina (Aldrich).
  - Formaldehído (Baker).
  - Hidróxido de potasio (Baker).
  - Oxinitrato de bismuto (Baker).
  - Paraformaldehído (Baker).
  - Silica gel 60 G para ~~60~~ (Merck).
  - Sulfato amónico (Baker).
  - Sulfato de sodio anhidro (Aldrich).
  - Solanidina (Aldrich).
  - Tricloruro de Antimonio (Merck).
  - Trinitrofenol (Merck).
  - Yodo (Baker).
  - Yoduro de potasio (Baker).
  - $\alpha$ -Solanina (Aldrich).
  - $\alpha$ -Chaconina (Aldrich).
- Disolventes<sup>7)</sup>
- Acetato de etilo, grado técnico (Merck).
  - Acetona, grado técnico (Merck).
  - Cloroformo, grado analítico (Monterrey).
  - Dimetilsulfoxido (Baker).
  - Etanol, grado técnico (Merck).
  - Eter etílico, grado analítico (Monterrey).
  - Eter isopropílico, grado analítico (Baker).
  - Hexano, grado técnico (Merck).
  - Metanol, grado técnico (Merck).
- Material especial
- Cromatofolios A1 TLC de Silica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck).
  - Cromatofolios de Silica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck).
  - Cromatofolios de Silica gel de 60 Å.
- Equipo.
- Aparato Fisher Johns.
  - Balanza analítica Ainsworth 100 A.
  - Balanza granataria OHAUS 700-800.
  - Balanza semianalítica OHAUS E 400.
  - Baño de agua Yamato BM-42.
  - Espectrofotómetro de IR Perkin-Elmer, modelo 283 y 681.
  - Espectrometro de masas Hewlett Packard 5985 GC/MS System 70 V.

<sup>7)</sup> Todos los disolventes grado técnico fueron purificados por destilación fraccionada.

- Espectrofotómetro de RMN Varian FT-80A.
- Espectrofotómetro de RMN Varian VXR-300 S.
- Cromatografo Powermate 386/25, S1045-772.
- Lámpara UV 254/366 nm mineralight.
- Rotavapor Büchi R-124.
- Rotavapor Yamato RE47.

### C) Material para los ensayos biológicos.

- Material de vidrio.
  - Cajas Petri de 11 cm de diámetro.
  - Frascos viales de fondo plano de 20 ml.
  - Matraces Erlenmeyer de 500 ml.
  - Microjeringas de 25, 50 y 500 µl.
  - Pecera de 12x12x20 cm.
  - Pecera especial para la selección de *Artemia salina* L.<sup>6</sup>
  - Pipetas Pasteur.
  - Pipetas volumétricas de 1, 5 y 10 ml.
  - Tubos de ensaye de 13 x 150 con tapa de bakelita.
  - Tubos de ensaye de 13 x 150.
- Otros materiales.
  - Asa bacteriológica con porta asa.
  - Mechero Bunsen.
  - Espátula de acero inoxidable.
  - Guantes de asbesto.
- Equipo.
  - Balanza analítica Ainsworth 100 a.
  - Balanza semianalítica OHAUSE 400.
  - Estufa de incubación.
  - Autoclave.

<sup>6</sup> construida y equipada de acuerdo a la literatura<sup>73</sup>.

- **Material biológico.**

- Huevecillos deshidratados de *Artemia salina* L. (Sera).

- Cepas de:

<i>Bacillus subtilis</i>	Patógena
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	DM-93-10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 25619
<i>Sarcina lutea</i>	Patógena
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25922
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Patógena
<i>Streptococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Streptococcus mutans</i>	ATCC 25175

- **Sustancias.**

- Agar de soya tripticaseína (Oxoid).
  - Agar nutritivo (Oxoid).
  - Agua destilada
  - Caldo de soya tripticaseína (Oxoid).
  - Cloruro de sodio (Merck).
  - Cloruro de benzalconio.
  - Removedor de cloro y buffer de pH (Care).
  - Sal marina.
  - Sulfato de estreptomina.

---

## II. PROCEDIMIENTO

### A. RECOLECCION Y PREPARACION DEL MATERIAL VEGETAL.

Las cuatro especies de papas silvestres objeto del presente estudio, fueron colectadas por los maestros Alejandro Ruiz Cancino y Mario Luna Cavazos en 1994 en seis estados de la República Mexicana, como se indica en la tabla 13. Todas las especies fueron clasificadas por el M. en C. Luna Cavazos y un ejemplar de cada una de ellas fue depositado en el herbario FEZA de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza (UNAM).

Las partes aéreas (hojas-tallo) y raíz de cada una de las especies se secaron a la sombra a temperatura ambiente para evitar la descomposición química del material vegetal, y posteriormente someterlo a un proceso de molienda.

Por otro lado, el tubérculo fue tratado con calor húmedo (120 C y 15 lb de presión durante 15 minutos) para detener la degradación enzimática y la descomposición microbiana — proceso de esterilización —. Posteriormente se separó la cáscara de la pulpa, y ambas se secaron en una estufa a 60 C; finalmente el material orgánico seco se trituroó en un molino eléctrico.

### B. ESTUDIO QUIMICO DEL MATERIAL VEGETAL DE *Solanum stoloniferum* ORIGINARIA DEL ESTADO DE SAN LUIS POTOSI.

El estudio químico de *S. stoloniferum* se inició con la determinación cualitativa de alcaloides esteroideos, empleando reactivos específicos por medio de pruebas a la gota. Como testigos para determinar la presencia de glicoalcaloides en los diferentes extractos obtenidos de *S. stoloniferum*, se emplearon los extractos etanólicos de la ruda

<b>ESPECIES SILVESTRES MEXICANAS DE PAPA. OBJETO DEL PRESENTE ESTUDIO</b>			
<b>ESPECIE</b>	<b>FECHA DE COLECTA</b>	<b>LUGAR DE COLECTA</b>	<b>CLAVE DEL HERBARIO</b>
<i>S. cardiophyllum</i> Lindl.	10-septiembre-1994	Ojuelos, Dolores Hidalgo, Guanajuato	FEZA-4115
<i>S. ehrenbergii</i> (Bitt) Rydb	1-octubre-1994	Campo de cultivo San Angel del Rio, municipio de Salinas, San Luis Potosí.	FEZA-4116
<i>S. michoacanum</i>	9-septiembre-1994	Campo de cultivo, Michoacán.	FEZA-4117
<i>S. polytrichon</i> Rydb.	11-septiembre-1994 30-septiembre-1994	Campo de cultivo la Tesorera, municipio Pánfilo Nateras, Zacatecas.	FEZA-4118
<i>S. stoloniferum</i> Schlechtld.	16-septiembre-1994  23-septiembre-1994	Campo de cultivo Ejido Escalerillas, municipio la Amapola, San Luis Potosí.  Campo de cultivo Nanacamitla, municipio de Apizaco Tlaxcala.	FEZA-4119

**Tabla 13.** Especies silvestres mexicanas de papa, objeto del presente estudio.

-*Ruta graveolens*-<sup>[9]</sup> y las semillas de colorín<sup>[10]</sup> -*Erythrina americana*-<sup>[11]</sup>, así como la colchicina<sup>[12]</sup>. Una vez concluida la determinación de glicoalcaloides en los diferentes extractos, se procedió a la extracción, separación y purificación de dichas sustancias

### B.1 Determinación cualitativa de alcaloides empleando reactivos específicos

— pruebas a la gota — .

#### Preparación del extracto etanólico de *Ruta graveolens*.

Se colocaron 40 g de material seco y molido de *Ruta graveolens* en un extractor Soxhlet -durante 24 h- empleando n-hexano, de donde se obtuvieron 830 mg de extracto. Una vez desengrasado el residuo vegetal, se sometió a las mismas condiciones de extracción con EtOH, recuperándose 4.283 g de extracto crudo (10.7%)

#### Preparación del extracto etanólico de *Erythrina americana*.

Las semillas de *Erythrina americana* se identificaron como semillas de colorín macho y semillas de colorín hembra<sup>[13]</sup>. Se colocaron 45 g de colorín macho y 25 g de colorín hembra en un extractor Soxhlet con n-hexano durante 24 h, obteniéndose 3.9 g y 48 mg de extracto respectivamente. Después al residuo vegetal, se le realizó una extracción

[9] La ruda pertenece a la familia *Rutaceae* y contiene alcaloides derivados de la tirosina, ácido antranílico, del triptófano y derivados del tipo quinolínicos. Se han caracterizado para esta planta el graverindiolacetato, graverindonol, graverindonol y la rutacridona.

[10] El colorín también se conoce como patol, en Guanajuato, chocolín, en Hidalgo, madre chontal, en Tabasco y chak-mool-ché, en Veracruz.<sup>8</sup>

[11] Para las semillas de colorín se han identificado alcaloides como la entralina, entramina y entratina, todos ellos tienen esqueleto base de la entrina.<sup>8</sup>

[12] La colchicina -SIGMA-.

[13] Las semillas colorín macho tienen la forma de un frijol, miden de 1-1.5 cm y tienen una coloración roja. Las semillas colorín hembra tienen el tamaño de una lenteja y son completamente redondas, se caracterizan porque además de ser rojas presentan en la parte superior una mancha negra.

sólido-líquido con EtOH durante 15 h, la cantidad de extracto crudo fue de 261 mg (0.58%) para el colorín macho y 627 mg (2.5%) para el colorín hembra.

#### **Determinación de los glicoalcaloides por medio de pruebas a la gota.**

Se colocaron en 9 viales por duplicado 3 mg de los diferentes extractos crudos a cada uno de ellos, se le adicionó gota a gota cada uno de los reactivos con una pipeta Pasteur, en la tabla 14 se describe la composición de cada reactivo utilizado y la observación teórica que se espera obtener según la literatura química<sup>15-17</sup>. La determinación de los alcaloides se realizó en el siguiente orden: extracto etanólico de la ruda, extracto etanólico del colorín macho, extracto etanólico del colorín hembra y la colchicina como alcaloide puro, con la finalidad de familiarizarse con los cambios producidos en los diferentes medios de reacción después de la adición de cada uno de los reactivos. Se aplicó esta metodología en la detección de los glicoalcaloides en los diferentes extractos crudos obtenidos — partes aéreas, cáscara y pulpa — de *S. stoloniferum*.

#### **B.2 Estudio químico diferenciado de *Solanum stoloniferum*.**

##### **Metodología seguida en el análisis químico de las partes aéreas (hojas-tallo).**

Se colocaron 288 g de material seco (hojas y tallo) a extracción sólido-líquido con n-hexano. Al residuo vegetal posteriormente se le realizó una extracción sólido-líquido con AcOH al 10% en EtOH-H<sub>2</sub>O (1:1), la fase acuosa obtenida se sometió a una extracción líquido-líquido con CHCl<sub>3</sub>, de acuerdo con el diagrama 1. A los extractos hexánico y clorofórmico se les realizaron pruebas de detección de alcaloides, empleando para ello reactivos característicos.

**PREPARACION DE REACTIVOS ESPECIFICOS PARA LA  
DETECCION DE ALCALOIDES**

REACTIVO	COMPOSICION POR CADA 100 ml DE AGUA	RESULTADO POSITIVO
Ácido tánico	Acido tánico (55 g)	Precipitado coposo blanco
Clark	Solucion de ácido fosfónico al 85% y paraformaldehído al 1% (1:1)	Coloración rojo-violetaca
Dragendorff	Oxinitrato de bismuto (1.7 g) y ácido (+)-tartárico (20 g/40 ml) de H <sub>2</sub> O. Se adicionan 16 g de KI /40 ml de H <sub>2</sub> O.*	Precipitado café-rojizo
Hager	Trinitrofenol y ácido picrico (1 g)	Precipitado amarillo o presencia de cristales
Marquis	Acido sulfúrico (1 ml) y Formaldehído (1 ml)**	Coloración violetaca-rojiza.
Mayer	Cloruro mercurico (1.36 g) Yoduro de potasio (5 g)***	Precipitado amarillo-crema
Scheibler's	Acido fosfomolibdico (2.5 g)	Precipitado blanco
Tricloruro de antimonio	Tricloruro de antimonio (21 g) en 100 ml de ácido acético glacial	Coloración rosa
Wagner	Yodo (2 g) y Yoduro de potasio (6 g)	Precipitado café-rojizo

- \* La solución se filtra y antes de usar se colocan 5 ml por cada 15 ml de H<sub>2</sub>O. Para la realización de la prueba primero se adiciona una solución ácida (pH = 2) al extracto y después el reactivo de Dragendorff.
- \*\* Al extracto se adiciona 1 ml de formaldehído y después 1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.
- \*\*\* Llevar a pH neutro o ligeramente alcalino [pH = 6-7.5] con solución de fosfatos antes de adicionar el reactivo.

**Tabla 14.** Metodología seguida en la preparación de reactivos para determinar la presencia de glicoalcaloides en los diferentes extractos de *S. stoloniferum*<sup>13-17</sup>.

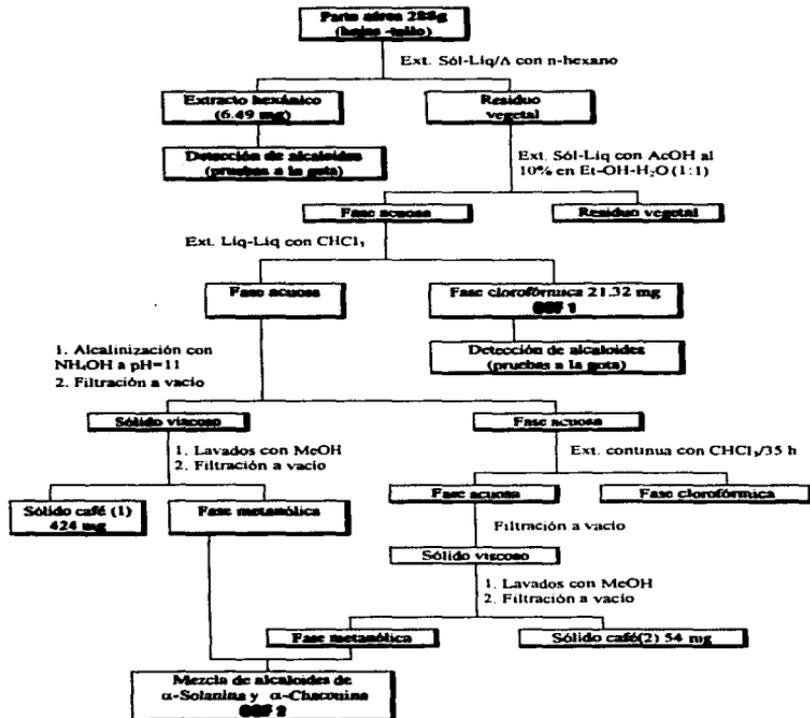


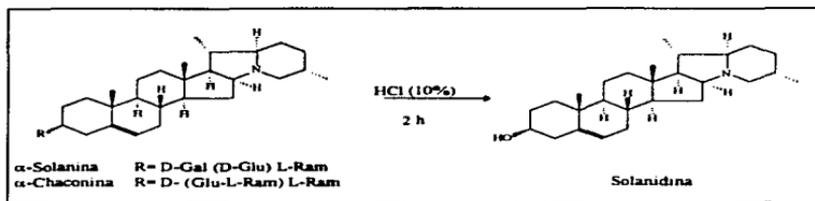
Diagrama 1. Metodología seguida en el análisis químico de las partes aéreas de *S. stoloniferum*.

- Por otro lado la fase acuosa de la extracción líquido-líquido con  $\text{CHCl}_3$ , fue alcalinizada con  $\text{NH}_4\text{OH}$  hasta  $\text{pH}=11$ , el precipitado formado se filtró a vacío. El residuo obtenido fue sometido a una extracción líquido-líquido con  $\text{CHCl}_3$  durante 35 h, donde se presentó un precipitado que se eliminó por filtración a vacío (diagrama 1). Ambos sólidos de aspecto viscoso fueron lavados continuamente con  $\text{MeOH}$  y filtrados a vacío, el residuo final es un sólido café para cada uno de los sólidos obtenidos, y a los cuales se les realizó espectroscopia de IR. En la fase metanólica se encontró una mezcla de alcaloides constituida por  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, los cuales fueron identificados por comparación con muestras auténticas<sup>[14]</sup> en cromatografía (RFL 2)<sup>[15]</sup>. La mezcla de alcaloides cristalizó en forma de agujas al emplear una mezcla constituida por  $\text{MeOH-EtOH-CHCl}_3\text{-H}_2\text{O}$  (8 0 1 0 0 8 0 2), de donde se obtuvieron al reunir ambas muestras 40 mg de dicha mezcla de alcaloides.
- Obtención de la solanidina a partir de  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina.

Se tomaron 28 mg de la mezcla constituida de  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina que se hidrolizaron mediante un reflujo con  $\text{HCl}$  al 10%, después se neutralizó con  $\text{NH}_4\text{OH}$  concentrado, y posteriormente se realizó una extracción con  $\text{CHCl}_3$ , para obtener la solanidina como único producto de reacción (esquema 1), la cual se identificó mediante sus constantes espectroscópicas y espectrométricas.

[14] Las muestras fueron obtenidas de Aldrich.

[15] Las cromatoplaques se eluyeron con  $\text{MeOH-NH}_4\text{OH}$  200:4 (1 vez) y se revelaron con  $\text{SbCl}_5/\text{CHCl}_3$ , reactivo con el cual la sustancia toma una coloración rosa intenso.



Esquema I. Hidrólisis de la mezcla de  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, aisladas de las partes aéreas de *S. stoloniferum*.

- A partir de 20 g de material seco de parte aérea (hojas-tallo), se obtuvo el extracto metanólico y cloroformico mediante sucesivas extracciones sólido-líquido con MeOH-CHCl<sub>3</sub> (2:1), posteriormente la fase orgánica se saturó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10% y se dejó reposar por 24 horas, hasta la separación total de las fases (ver diagrama 2), de acuerdo con lo informado por Fitzpatrick y Osman<sup>79</sup> (1974), quienes propusieron esta metodología como una vía de cuantificación de glicoalcaloides.
- Al extracto MeOH disuelto se le adicionó NH<sub>4</sub>OH hasta pH=11, se obtuvo un sólido viscoso, el cual fue disuelto en varios disolventes en orden de polaridad creciente Me<sub>2</sub>CO, EtOH, MeOH y H<sub>2</sub>O. En todas las fases excepto en la acuosa, se detectó por cromatografía (R<sub>F</sub> 4) la presencia de 6 sustancias de tipo esteroidal, empleando como revelador SbCl<sub>5</sub>/CHCl<sub>3</sub>. En dicha mezcla se identificó a la  $\alpha$ -chaconina por comparación con muestra auténtica. Al residuo obtenido y al filtrado se le realizó una extracción con CHCl<sub>3</sub>, encontrándose en ambas la mezcla de alcaloides  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina.

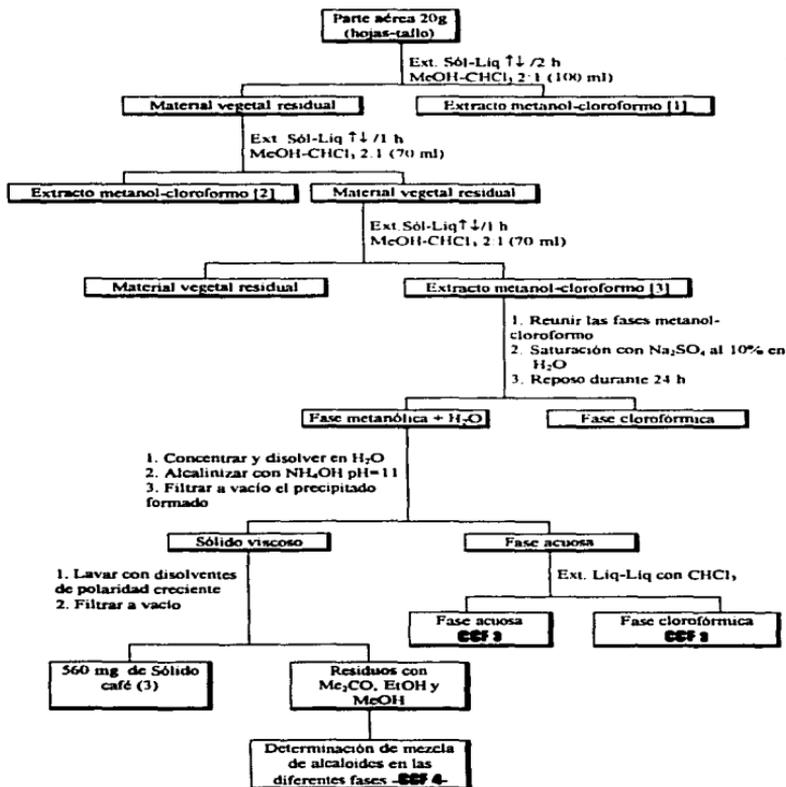


Diagrama 2. Metodología seguida en el análisis químico de las partes aéreas de *S. stoloniferum*.

### Metodología seguida en el análisis químico de la cáscara.

- Se sometieron 7 g de material seco (cáscara) a extracción sólido-líquido con n-hexano. Al residuo vegetal se le realizó una extracción sólido-líquido con AcOH al 10% en EtOH-H<sub>2</sub>O (1:1), el extracto obtenido se sometió a una extracción líquido-líquido con CHCl<sub>3</sub> (ver diagrama 3), ambos extractos se les realizaron pruebas de detección de alcaloides, empleando los reactivos específicos descritos anteriormente.
- En la fase acuosa de la extracción líquido-líquido con CHCl<sub>3</sub> (diagrama 3), se presentó un precipitado que se filtró a vacío, obteniendo un sólido café (4), al cual se le realizó espectroscopia de IR. Así mismo, en el filtrado se obtuvo un sólido amarillo (A) que reveló rosa intenso con SbCl<sub>5</sub>/CHCl<sub>3</sub>. Dicho sólido se disolvió en agua y se le agregó NH<sub>4</sub>OH hasta pH=11, posteriormente se filtró, obteniéndose un sólido viscoso, que se lavó con MeOH. El residuo fue un sólido café (5), que debido a su rendimiento no pudo ser identificado, mientras que de la fase metanólica se obtuvieron 4.7 mg de una mezcla de dos alcaloides con R<sub>f</sub> = 11.5 y 28.9 — los valores de R<sub>f</sub> se indican multiplicados por 100 con la finalidad de no hacer referencia a números fraccionarios, además en todas las cromatografías realizadas se emplearon cromatofolios de silicagel 60 F<sub>254</sub> y como revelador SbCl<sub>5</sub>/CHCl<sub>3</sub> — que no corresponden a los alcaloides comúnmente encontrados en dichas especies vegetales, (8878).
- En la fase acuosa obtenida del tratamiento del sólido amarillo, se le realizó después una extracción con cloroformo y se obtuvo un sólido cristalino, que por medio de sus datos de IR y RMN<sup>1</sup>H se caracterizó como un triacilglicerol (página 112).

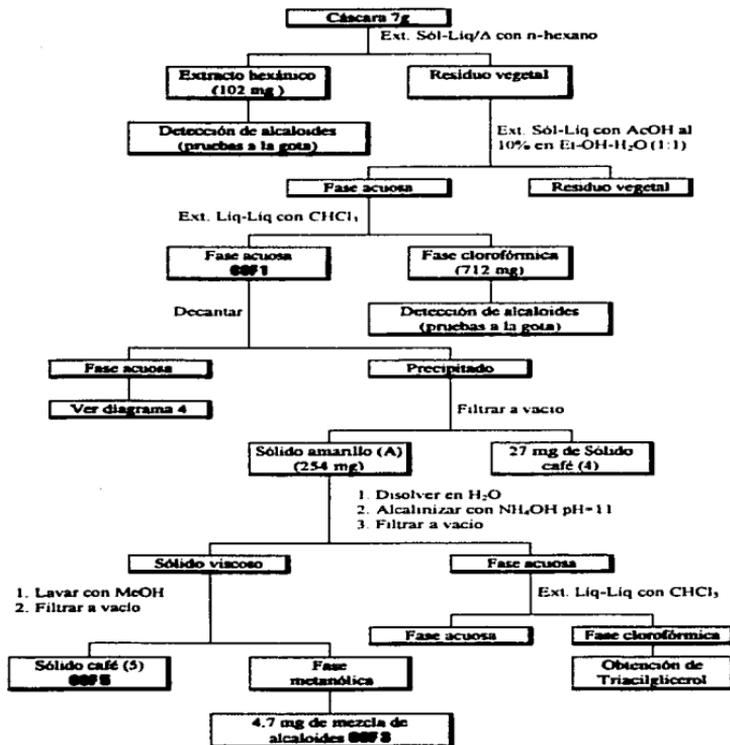


Diagrama 3. Metodología seguida en el estudio químico de la cáscara de *S. stoloniferum*.

- En la fase acuosa de donde se obtuvo el precipitado (ver diagrama 4), se observó la presencia de una sustancia esteroideal con  $n_D^{20} = 53$  ( $\alpha$ -solanina  $n_D^{20} = 47$ ,  $\alpha$ -chaconina  $n_D^{20} = 72$  y la solanidina  $n_D^{20} = 84$ ) empleando como mezcla de elución MeOH-NH<sub>4</sub>OH (200:3) y como revelador SbCl<sub>5</sub>/CHCl<sub>3</sub>. Se tomó una alícuota que fue destilada a presión reducida, en el residuo se obtuvieron 104 mg de sólido cristalino (B), los cuales cristalizaron con MeOH durante cuatro semanas en refrigeración, en su espectro de IR se observa una banda ancha en 3448 cm<sup>-1</sup> que corresponde a un grupo hidroxilo y otra banda en 1759 cm<sup>-1</sup> característica de un grupo carbonilo, de acuerdo a estos resultados se procedió a la obtención de su derivado acetilado<sup>1161</sup>. El producto de la reacción resultó ser una mezcla de dos sustancias, una de ellas es soluble en metanol, la cual en su espectro de IR sugiere la presencia de un éster (1720 y 1261 cm<sup>-1</sup>), así como bandas que corresponden a la  $\nu$  (C-H) sp<sup>3</sup> en 2927 y 2856 cm<sup>-1</sup>; por otro lado en su espectro de masas por impacto electrónico se observan los siguientes picos: 41(42.85), 43(62.58), 44(100), 55(53.06), 57(73.46), 69(53.06), 71(45.57), 83(36.73), 97(29.93), 149(41.49). La otra sustancia es insoluble en metanol pero debido a la mínima cantidad obtenida no se pudo caracterizar.
- La fase acuosa se alcalinizó y filtró a vacío para eliminar el sólido viscoso obtenido, el cual fue lavado con metanol, la fase metanólica (~~000~~) mostró estar constituida por una mezcla de alcaloides que presentan  $n_D^{20} = 41$  y 71.2 respectivamente, los cuales no corresponden a las referencias empleadas, mientras que en el residuo se obtuvo un sólido café, que por su bajo rendimiento no pudo ser identificado.

<sup>1161</sup> Se colocaron 40 mg, 1 ml de anhídrido acético y 0.5 ml de piridina en un matraz Erlenmeyer, la reacción se mantuvo en agitación durante 14 horas, tiempo en el cual se realizó ~~000~~. La muestra acetilada revela con sulfato cérico eluyendo la ~~000~~ con una mezcla de AcOEt-Hex (9:1), cabe señalar que la muestra sin acetilar no se observa con ningún revelador.

- Otra alícuota de la fase acuosa de donde se obtuvo el precipitado (diagrama 4), se alcalinizó con  $\text{NH}_4\text{OH}$  ( $\text{pH}=11$ ) y se realizó una extracción continua con  $\text{CHCl}_3$  durante 30 h. Una alícuota de 30 mg en peso seco del extracto clorofórmico se sometió a una diferenciación cromatográfica en columna por elución a vacío (807), obteniéndose 112 fracciones de 1 ml cada una. En las fracciones 86-100 eluidas con  $\text{Me}_2\text{CO}$ , se identificó por 807 la mezcla de  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina al comparar dicho residuo con una muestra auténtica de dichas sustancias en 807.
- De la extracción continua con  $\text{CHCl}_3$  (diagrama 4), la fase acuosa fue sometida a una hidrólisis con  $\text{HCl}$  al 20% a reflujo durante 12 h. Posteriormente se alcalinizó con  $\text{NH}_4\text{OH}$  ( $\text{pH}=11$ ) y se realizó una extracción con  $\text{CHCl}_3$ , obteniéndose un sólido blanco (C), el cual fue cristalizado con  $\text{MeOH}$  — p. f.  $240^\circ\text{C}$  — Esta sustancia aún está en proceso de caracterización, pero el espectro de IR muestra las siguientes bandas 3435, 3016, 2810, 750,  $1405\text{ cm}^{-1}$  y su espectro de masas (FAB<sup>+</sup>) presenta los siguientes picos: 307(33), 172(61.68), 154(100), 155(32.2), 136(64.5), 137(58.7), 138(31.4), 107(19).

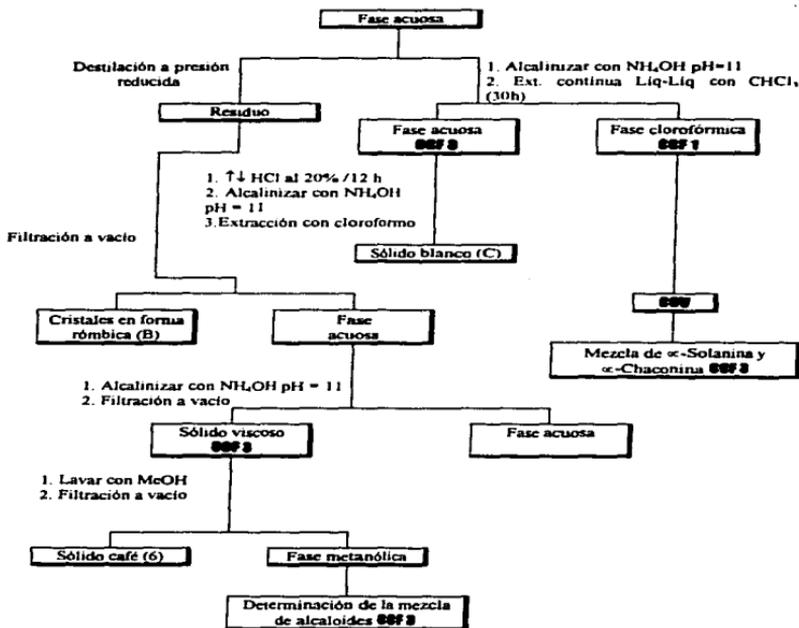
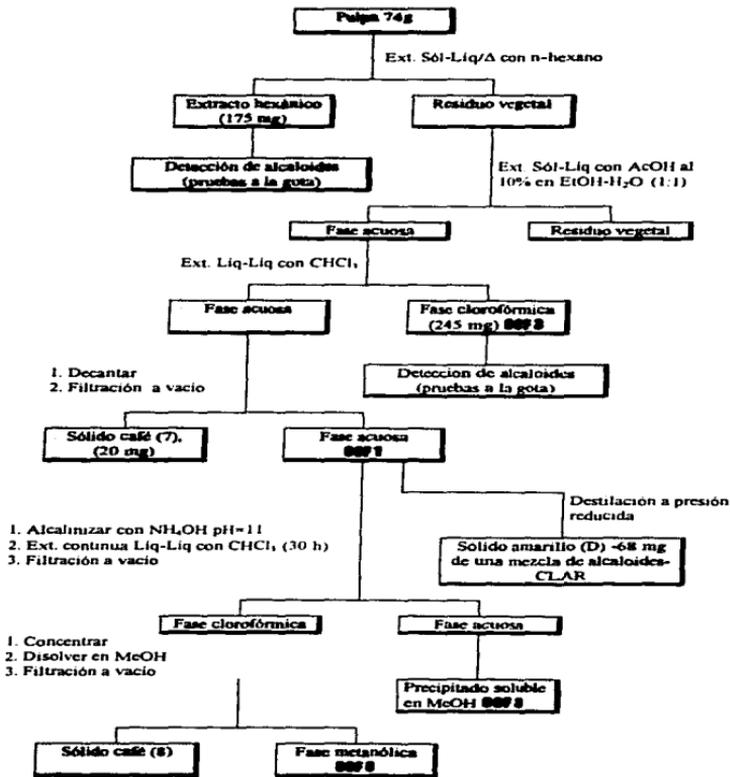


Diagrama 4. Metodología seguida en el estudio químico de la cáscara de *S. stoloniferum*.

### Metodología seguida en el análisis químico de la pulpa.

- Se colocaron 74 g de material seco (pulpa) en un extractor Soxhlet, con n-hexano. Al residuo vegetal se le realizó posteriormente una extracción sólido-líquido con AcOH al 10% en EtOH-H<sub>2</sub>O (1:1), el residuo se trató con CHCl<sub>3</sub>, como se indica en el diagrama 5. A los extractos hexánico y cloroformico se les determinó por medio de reactivos específicos la presencia de alcaloides esteroidales.
- En la fase acuosa resultante de la extracción líquido-líquido con CHCl<sub>3</sub> (diagrama 5), se precipitó un sólido, el cual se filtró a vacío obteniéndose un sólido café (7), éste es idéntico a los sólidos cafés hasta ahora descritos. Una alícuota de la fase acuosa del filtrado anterior se destiló a presión reducida, quedando 68 mg de un sólido amarillo (D), conformado por una mezcla de alcaloides de  $\mu = 26, 35$  y  $75$  ( $\alpha$ -solanina  $\mu = 25$ ,  $\alpha$ -chaconina  $\mu = 33$  y solanidina  $\mu = 51.5$ ) identificados por **CCF** empleando una mezcla de elución de MeOH-NH<sub>4</sub>OH (200:1) y revelador de SbCl<sub>5</sub>. El sólido anterior mostró estar conformado por  $\alpha$ -solanina,  $\alpha$ -chaconina y un tercer componente ( $\mu = 78$ ) la resolución de dicho sólido se logró por medio de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR). Para ello, se pesaron 5 mg de sólido y se realizaron diluciones (5 mg/10 ml, 1 ml/10 ml, 1 ml/10 ml) para obtener finalmente una concentración de 5  $\mu$ g/ml, las condiciones fijadas para la separación de alcaloides por la técnica de CLAR se describen en la página 75.
- Otra alícuota de la fase acuosa después del filtrado, se alcalinizó con NH<sub>4</sub>OH hasta pH=11 y se extrajo con CHCl<sub>3</sub> 30 h. El extracto cloroformico se disolvió en metanol, precipitando un sólido el cual fue removido por filtración a vacío — sólido café (8) — que no pudo ser identificado por espectroscopia de IR debido a la mínima cantidad obtenida, mientras en la fase metanólica se detectó la presencia de un alcaloide (**CCF6**).



**Diagrama 5.** Metodología seguida en el estudio químico de la pulpa de *S. stoloniferum*.

### Metodología seguida en el análisis químico de la raíz.

A partir de 30 g de raíz seca se obtuvo el extracto metanólico por medio de una extracción sólido-líquido (diagrama 6). En dicho extracto se presentó un precipitado, que se eliminó por filtración a vacío, mientras que el sólido recuperado se cristalizó con metanol (p.f. 170 C), sus datos de IR se describen en la página 115 y basándose en ellos se procedió a la obtención de su derivado acetilado. Para lo cual se colocaron 15 mg, 1 ml de anhídrido acético y 0.5 ml de piridina en un matraz Erlenmeyer, la reacción se mantuvo en agitación durante 14 h, tiempo en el cual se siguió la reacción por **CCF**. La muestra acetilada revela con sulfato cérico, la **CCF** se eluyó con una mezcla de AcOEt-Hex (9:1), cabe señalar que la muestra sin acetilar no se observa con ningún revelador.

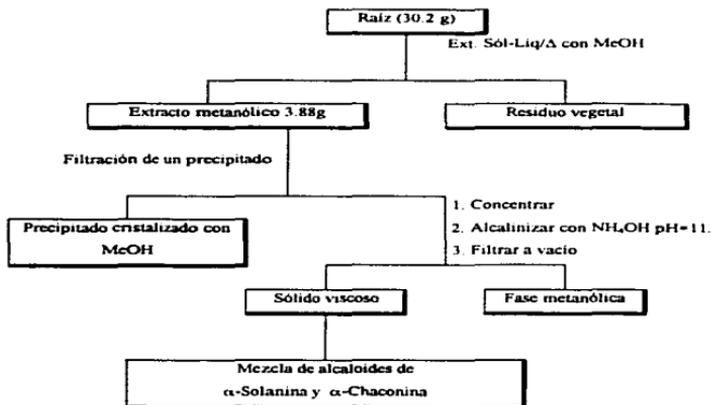


Diagrama 6. Metodología seguida en el estudio químico de la raíz de *S. stoloniferum*.

- ◆ Otra alícuota del extracto metanólico crudo, se disolvió en agua, a la solución obtenida se le adicionó  $\text{NH}_4\text{OH}$  hasta  $\text{pH} \approx 11$ , el sólido precipitado fue removido por filtración a vacío. El residuo resultante fue un sólido viscoso (diagrama 6), el cual esta constituido por  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, para resolver esta mezcla se aplicaron 20 mg en una cromatoplaqa de 20 x 20 cm, la cual se eluyó con  $\text{MeOH-NH}_4\text{OH}$  (50:1), debido a que no hubo una buena resolución de los componentes de dicha mezcla se procedió a la recuperación de la muestra empleando una mezcla de  $\text{MeOH-CHCl}_3$  (8:2)

### **C. ESTUDIO QUIMICO DE LA CASCARA DE *Solanum stoloniferum* ORIGINARIA DEL ESTADO DE TLAXCALA.**

- ◆ Se realizó una extracción sólido-líquido con  $\text{EtOH}$  caliente a la cáscara de *S. stoloniferum*, el extracto obtenido se disolvió en agua y se alcalinizó hasta  $\text{pH} = 11$  con  $\text{NH}_4\text{OH}$ , formándose un precipitado blanco que se filtró y lavó con metanol, el cual nuevamente se filtró a vacío, para remover el sólido café (9), mientras que en la fase metanólica se determinó la presencia de alcaloides que presentan un  $R_f$  diferente al de los estándares empleados.
- ◆ A la fase acuosa del filtrado, en la cual se obtuvo el precipitado blanco, se le realizó una extracción con  $\text{CHCl}_3$ , en la fase clorofórmica resultante se detectó una mezcla de sustancias que revelan con  $\text{SbCl}_5/\text{CHCl}_3$  y otras que se observan en luz UV ( $\lambda_2$ ). Una alícuota de 399 mg de este extracto en peso seco, se resolvió por cromatografía en columna a baja presión (800), de donde se obtuvieron 227 fracciones de 10 ml cada una. En las fracciones 120-138 obtenidas al eluir la columna con una mezcla de  $\text{Hex-AcOEt}$  (1:1), y en la fracción 140-213  $\text{Hex-AcOEt}$  (45:55) y (35:65), se determinó la presencia de alcaloides esteroidales, que poseen un  $R_f$  mayor a los estándares empleados.

- Obtención de la aglicona diferente a la solanidina a partir de una mezcla de alcaloides diferentes a  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina.

Se tomaron 77 mg de la fracción 120-138 de la **CCW** del extracto etanólico, los cuales se hidrolizaron mediante un reflujo con HCl al 10%, después se neutralizó con  $\text{NH}_4\text{OH}$  y posteriormente se realizó una extracción con  $\text{CHCl}_3$ , para así obtener 51 mg de una sustancia ( $\text{R} = 86$ ) con aglicona diferente a la solanidina ( $\text{R} = 50$ ) Esta sustancia se encuentra en proceso de caracterización e identificación.

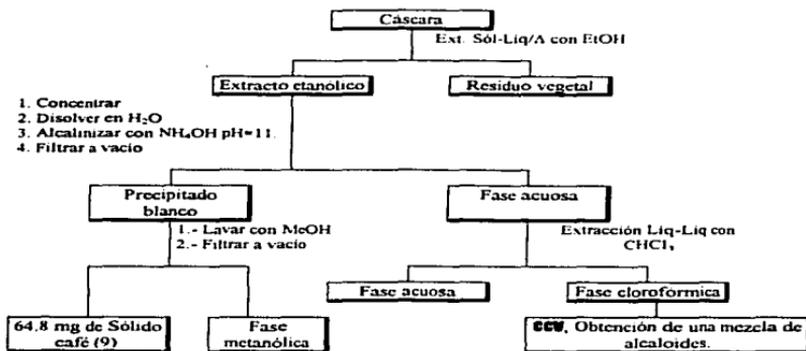


Diagrama 7. Metodología seguida en el estudio químico de la cascara de *S. stoloniferum* de Tlaxcala.

#### D. ESTUDIO QUÍMICO DE LOS SÓLIDOS CAFÉS OBTENIDOS DE *Solanum stoloniferum*.

Los sólidos cafés 1-4, 7 y 9 obtenidos de la metodología antes descrita presentaron prueba positiva de Marquis<sup>117)</sup>. En sus espectros de IR presentan como bandas características a un ácido carboxílico, razón por la cual se sometieron a una reacción de metilación con  $\text{CH}_3\text{N}_2\text{-Et}_2\text{O}$ <sup>118)</sup>, el producto de reacción es una mezcla de tres sustancias, de las cuales una de ellas se observa en luz UV ( $\lambda_2$ ) y las otras dos corresponden a la  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina identificados en ~~687~~ por comparación con muestras auténticas

#### E. DETERMINACION CUALITATIVA DE ALCALOIDES EN CUATRO ESPECIES SILVESTRES MEXICANAS DE PAPA POR CLAR.

- Se pesaron 100 mg de pulpa de papa liofilizada, por triplicado de cada una de las diferentes especies, las cuales fueron sometidas a una extracción sólido-líquido, con 20 ml de una solución de AcOH al 5%, el residuo vegetal fue eliminado por filtración a gravedad -papel Watman # 42- el proceso se repitió tres veces. Al volumen total de la fase acuosa acidificada se le adicionó  $\text{NH}_4\text{OH}$  hasta  $\text{pH}=11$ , para posteriormente realizar

<sup>117)</sup> Lo anterior se debe a que dichos reactivos pueden provocar la condensación de compuestos aromáticos con el formaldehído, y luego oxidar a los compuestos dianilmetílicos a productos coloridos (Prueba de Le Rosen). Dicha reacción positiva, podría deberse a la presencia de derivados del fenilpropano — ácido caféico, cumárico, cinámico, ferúlico entre otros —<sup>80</sup>.

<sup>118)</sup> Para la preparación del diazometano se pesaron 11 g de diazald (N-metil-N-nitroso-p-toluensulfonamida) y se disolvieron en 100 ml de éter etílico absoluto, esta solución se agregó lentamente, por medio de un embudo de adición, al matraz balón del equipo, montado especialmente para la preparación del reactivo, que contenía una mezcla de 5 g de hidróxido de potasio y 100 ml de éter etílico-agua-etanol (10:10:30) con calentamiento ligero. Se colectó el diazometano generado en un matraz balón que contenía 100 ml de éter etílico sumergido en hielo<sup>81</sup>.

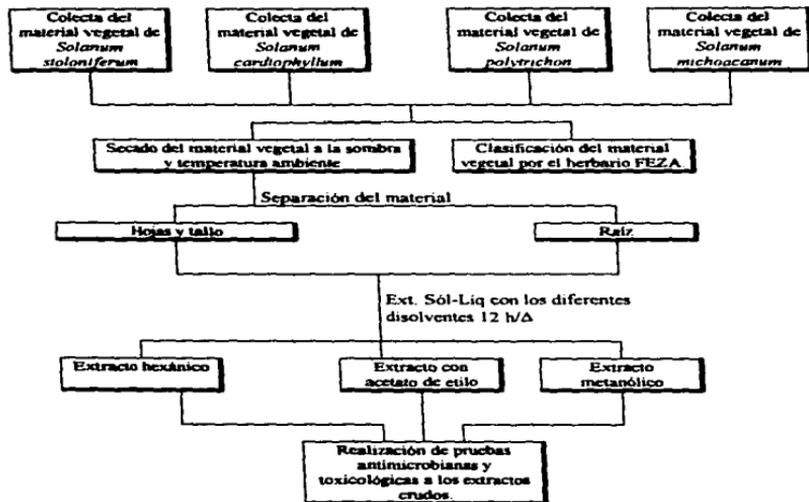
4 extracciones de 10 ml con n-butanol, el cual fue removido por destilación a presión reducida hasta sequedad total<sup>92</sup>.

- El residuo obtenido se disolvió en 1 ml de una solución amortiguadora de fosfatos y se filtraron en una membrana millipore, se inyectaron 5 µl al cromatografo. Para la determinación de las muestras se utilizó una columna de octadecilsilano (C-18) de 15 cm x 2.1 mm de diámetro interno, como mezcla de elución acetonitrilo-metanol-agua (35:10:55), empleando un detector de UV= 254 nm, a una temperatura de 25 C con una velocidad de flujo de 1.5 ml/min. Previamente se determinaron los tiempos de retención de la  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina como referencia.

## F. ESTUDIO BIOLÓGICO DE CUATRO ESPECIES SILVESTRES DE PAPA MEXICANA.

### Preparación de los extractos

Para la realización de las pruebas biológicas se emplearon las siguientes especies silvestres mexicanas de papa: *Solanum stoloniferum* (originaria de San Luis Potosi), *Solanum cardiophyllum*, *Solanum polytrichon* y *Solanum michoacanum*; la preparación de los diferentes extractos — hexánico, acetato de etilo y metanólico — se llevo a cabo mediante una extracción sólido-líquido en un equipo Soxhlet (12 h cada uno) como se muestra en el diagrama 8, las cantidades empleadas de material vegetal se encuentran especificadas en la tabla 15.



**Diagrama 8.** Forma de obtención de los diferentes extractos, empleados en el estudio biológico de especies silvestres de papa.

<b>PESO DEL MATERIAL SECO Y LOS EXTRACTOS DE ESPECIES SILVESTRES MEXICANAS DE PAPA</b>						
MATERIAL VEGETAL	DISOLVENTES					
	HEXANO		AcOEt		MeOH	
	-A-	-B-	-A-	-B-	-A-	-B-
H O J A S Y T A L L O						
<i>S. polytrichon</i>	25 g	400 mg	25 g	802 mg	25 g	4.017 g
<i>S. cardiophyllum</i>	25 g	577 mg	25 g	1.041 g	25 g	4 g
<i>S. michoacanum</i>	14 g	247 mg	14 g	524 mg	14 g	2.261 g
H O J A S						
<i>S. stoloniferum</i>	25 g	521 mg	24 g	1.173 g	25 g	3.856 g
R A I Z						
<i>S. polytrichon</i>	6 g	100 mg	6 g	110 mg	6 g	690 mg
<i>S. cardiophyllum</i>	17 g	550 mg	17 g	248 mg	17g	1.630 g
<i>S. stoloniferum</i>	30 g	175 mg	30 g	326 mg	30 g	3.884 g

A= Peso del material vegetal seco y molido colocado a extracción.

B= Peso del extracto obtenido

**Tabla 15.** Cantidades correspondientes al material vegetal seco y a los diferentes extractos crudos, de las cuatro especies de papa silvestre mexicana.

### Toxicidad frente *Artemia salina* L.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

● Obtención de las larvas de *Artemia salina* L.

Se construyó una pecera conformada de un área oscura y otra iluminada, la cual contenía 600 ml de agua de mar artificial<sup>[19]</sup>. Se depositaron 50 mg de huevecillos en la zona oscura, se mantuvo con una aereación ligera y continua, a una temperatura de 28 C durante 48 h, después de la incubación se colectaron sólo las larvas fototrópicas

● Preparación de las muestras.

Se disolvieron 20 mg de extracto en 2 ml de disolvente con el que fue preparado cada uno de los extractos. A partir de esta dilución se colocaron en tres viales 5, 50 y 500 µl respectivamente, para obtener una concentración final de 10, 100 y 1000 µg/ml. Se preparó un blanco con 500 µl del disolvente empleado; las muestras se prepararon con 48 h de anticipación a la realización del bioensayo con la finalidad de eliminar el disolvente<sup>[20]</sup>.

● Realización del bioensayo.

Se colocaron 200 µl de DMSO<sup>[21]</sup> y 1.5 ml de agua de mar artificial a cada uno de los viales, incluyendo el vial que sirvió de blanco. Después se depositaron 10 larvas viables previamente seleccionadas, y se aforó a un volumen de 5 ml con agua de mar. Las muestras

<sup>[19]</sup> Se colocaron 38 g de sal marina artificial por cada litro de agua, una vez disuelta se le adicionaron 5 gotas de anticloro.

<sup>[20]</sup> Las muestras para cada extracto fueron preparadas por triplicado, por lo cual se requirieron 60 mg de extracto total.

<sup>[21]</sup> Se empleó DMSO para disolver completamente el extracto, debido a que se ha informado que es un disolvente menos tóxico para la *Artemia salina* L.<sup>14</sup>.

se incubaron bajo iluminación en la pecera durante 24 h; tiempo después, se procedió a contar las larvas viables y se calculó  $CL_{50}$  con un programa de cómputo que utiliza el análisis de probitas de Finney<sup>82</sup>.

#### **Ensayo microbiológico.**

##### ◆ Preparación de la muestra.

Se pesaron 40 mg de extracto seco, los cuales se disolvieron en 0.2 ml de tween 80 y 1.8 ml de solución salina estéril al 0.8%. Una vez disuelto el extracto, se adicionó aseptícamente a un matraz Erlenmeyer que contenía 38 ml de medio AST previamente estéril y a 50 C, para obtener una concentración de 1 mg/ml. El medio de cultivo con el extracto se adicionó en partes iguales en dos cajas Petri estériles, posteriormente se incubaron a 37 C durante 24 h con la finalidad de realizar la prueba de esterilidad.

##### ◆ Preparación de los microorganismos.

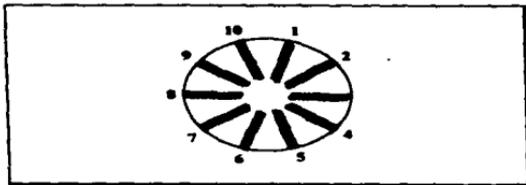
Los microorganismos<sup>[20]</sup> se mantuvieron en el medio de cultivo AST, para el bioensayo se preparó medio CST, el cual se colocó en tubos de ensaye con tapón de bakelita y después de ser esterilizados con el medio CST se inocularon (del tubo de cultivo en AST) e incubaron durante 24 h a 37 C; excepto *Mycobacterium smegmatis*, el cual se incubó durante 48 h. Después de la incubación, se tomó una alícuota de 0.1 ml de medio de cultivo y se diluyó con 9.9 ml de solución salina estéril para alcanzar una dilución final de 1:100 misma que se utilizó para el bioensayo.

---

<sup>[20]</sup> Las cepas fueron adquiridas del cepario de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (IPN, México, D.F)

● **Bioensayo.**

Después de la prueba de esterilidad, las cajas Petri que contenían el medio de cultivo y el extracto fueron inoculados con los diferentes microorganismos. Para ello, se dividió la caja en 10 sectores iguales como se muestra en la figura 4, el sembrado de los diez diferentes microorganismos se llevó a cabo por medio de la técnica de estría. Las cajas Petri fueron incubadas durante 24 h, tiempo en el cual se determinó su actividad antimicrobiana por medio de la inhibición del crecimiento de los microorganismos.



- |                                    |                                  |
|------------------------------------|----------------------------------|
| 1. <i>Mycobacterium smegmatis</i>  | 6. <i>Bacillus subtilis</i>      |
| 2. <i>Staphylococcus aureus</i>    | 7. <i>Sarcina lutea</i>          |
| 3. <i>Streptococcus mutans</i>     | 8. <i>Escherichia coli</i>       |
| 4. <i>Streptococcus agalactiae</i> | 9. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| 5. <i>Streptococcus faecalis</i>   | 10. <i>Candida albicans</i>      |

**Figura 4.** Esquema de la caja Petri que muestra los sectores y forma en que fueron sembrados los diferentes microorganismos.

## VIII. RESULTADOS

**A. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS A LA GOTA CON REACTIVOS ESPECIFICOS PARA LA DETECCIÓN DE ALCALOIDES.**

<b>EXTRACTO EtOH DE <i>Ruta graveolens</i></b>				
	3 mg		6 mg	
Mayer	-	-	+	+
Wagner	+	+	+	+
Hager	-	-	+	+
Dragendorff	-	-	+	+
Marquis	-	-	-	-
Clark	-	-	+	+
Acido tánico	+	+	+	+
Scheiber's	+	+	+	+
Tricloruro de antimonio	-	-	-	-
<b>Número de pruebas positivas</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>7</b>	<b>7</b>

Tabla 16. Pruebas a la gota para la detección de alcaloides en el extracto EtOH de *Ruta graveolens*.

<b>EXTRACTO EtOH DE <i>Erythrina americana</i></b>				
	Colorín macho (3 mg)		Colorín hembra (3 mg)	
Mayer	+	+	+	+
Wagner	+	+	+	+
Hager	+	+	+	+
Dragendorff	+	+	+	+
Marquis	-	-	-	-
Clark	-	-	+	+
Acido tánico	+	+	+	+
Scheiber's	+	+	+	+
Tricloruro de antimonio	-	-	+	+
<b>Número de pruebas positivas</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>8</b>

Tabla 17. Pruebas a la gota para la detección de alcaloides en el extracto EtOH de *Erythrina americana*.

- (-) = Prueba negativa
- (+) = Prueba positiva

<b>Colchicina</b>		
	3 mg	3 mg
Mayer	-	-
Wagner	-	-
Hager	-	-
Dragendorff	+	+
Marquis	+	+
Clarke	+	+
Acido tánico	-	-
Scheiber's	+	+
Tricloruro de antimonio	+	+
<b>Número de pruebas positivas</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

Tabla 18. Pruebas a la gota para la detección de alcaloides en la colchicina.

Se realizó un cuadro comparativo entre algunos reactivos y los extractos probados de *Ruta graveolens*, *Erythrina americana* y la colchicina, debido a que se obtuvieron respuestas visuales variables.

<b>COMPARACION ENTRE REACTIVOS Y EXTRACTOS PROBADOS</b>	
OBSERVACION ESPERADA POSITIVA	OBSERVACION OBTENIDA
Clark (coloración rojo-violácea)	Ruda (amarillo a verde) Colorin hembra (lila intenso) Colchicina (amarillo claro)
Dragendorff (precipitado café rojizo)	Ruda (precipitado café intenso) Colorin hembra y colchicina (precipitado blanco, que evoluciona a verde pistache y es muy estable) Colorin macho (precipitado blanco)
Scheiber's (azúl metálico)	Ruda y colorin hembra (verde brillante) Colorin macho (precipitado amarillo) Colchicina (precipitado blanco)
Mayer (precipitado amarillo)	Colorin hembra (precipitado blanco)
Marquis (coloración rojo ladrillo)	Colchicina (amarillo intenso)
Tricloruro de antimonio (coloración cereza)	Colchicina (amarillo)

Tabla 19. Comparación de las diferentes observaciones obtenidas para un mismo reactivo.

<b>EXTRACTOS DE <i>S. stoloniferum</i> EN CASCARA</b>				
	Extracto hexánico		Extracto clorofórmico	
	2mg	3mg	3mg	6mg
Mayer	-	-	-	-
Wagner	+	+	+	+
Hager	+	+	+	+
Dragendorff	-	-	-	-
Marquis	+	+	+	+
Clark	-	-	-	-
Acido tánico	-	-	-	-
Scheiber's	-	-	+	+
Tricloruro de antimonio	-	-	+	+
<b>Número de pruebas positivas</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

Tabla 20. Pruebas a la gota para la detección de alcaloides en el extracto hexánico y clorofórmico de *S. stoloniferum* en cáscara.

<b>EXTRACTOS DE <i>S. stoloniferum</i> EN PULPA</b>				
	Extracto hexánico (3mg)		Extracto clorofórmico (3mg)	
	Mayer	-	-	+
Wagner	+	+	+	+
Hager	+	+	+	+
Dragendorff	-	-	-	-
Marquis	-	-	+	+
Clark	-	-	+	+
Acido tánico	-	-	-	-
Scheiber's	+	+	+	+
Tricloruro de antimonio	-	-	+	+
<b>Número de pruebas positivas</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>7</b>	<b>7</b>

Tabla 21. Pruebas a la gota para la detección de alcaloides en el extracto hexánico y clorofórmico de *S. stoloniferum* en pulpa.

EXTRACTOS DE <i>S. stoloniferum</i> EN PARTE AEREA.				
	Extracto hexánico (3mg)		Extracto clorofórmico (3mg)	
	Mayer	-	-	-
Wagner	-	-	+	+
Hager	-	-	-	-
Dragendorff	-	-	-	-
Marquis	-	-	-	-
Clark	-	-	-	-
Acido tánico	-	-	-	-
Scheiber's	+	+	-	-
Tricloruro de antimonio	-	-	-	-
Número de pruebas positivas	1	1	1	1

Tabla 22. Pruebas a la gota para la detección de alcaloides en el extracto hexánico y clorofórmico de *S. stoloniferum* en parte aérea.

## B. CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA PARA LA DETECCION DE ALCALOIDES EN *Solanum stoloniferum*.

0071

**Mezcla de elución:** MeOH/NH<sub>4</sub>OH  
200:3, 1 vez

**Revelador:** SbCl<sub>5</sub>/CHCl<sub>3</sub>

**Muestras:**

A. α-Solanina (R<sub>f</sub> = 43)

B. Solanidina (R<sub>f</sub> = 81)

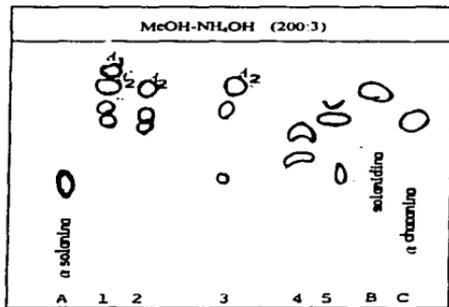
C. α-Chaconina (R<sub>f</sub> = 68)

1. y 2. Fase clorofórmica de cáscara  
(diagrama 4)

3. Fase clorofórmica de parte aérea  
(diagrama 1)

4. Fase acuosa de cáscara (diagrama 3)

5. Fase acuosa de pulpa (diagrama 5)



**Observaciones:** En la cromatoplaca todas las muestras aplicadas se observan con  $SbCl_5$  de color rosa, excepto  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$ ; las cuales indican longitud de onda corta (254 nm) y longitud de onda larga (365 nm) de luz ultravioleta.

De la extracción continua con  $CHCl_3$  (diagrama 4), en la cáscara se obtuvieron dos muestras a 20 h y 30 h, en la muestra (1) se observa un compuesto que revela con longitud de onda corta,  $\alpha$ -chaconina (comparando con la referencia) y otra sustancia que da prueba positiva con  $SbCl_5$ , pero que presenta un  $R_f$  mayor a la  $\alpha$ -chaconina y menor a la solanidina.

En la fase clorofórmica de la parte aérea (diagrama 1), después de la extracción liq-liq. con  $CHCl_3$ , se observa la presencia de  $\alpha$ -solanina y otra sustancia con  $R_f$  mayor a la  $\alpha$ -chaconina, además de la presencia de pigmentos.

La fase acuosa de la cáscara después de la extracción liq-liq. con  $CHCl_3$ , (diagrama 3), muestra la presencia de dos sustancias que no corresponden a las referencias y que revelan de color rosa con el  $SbCl_5$ . Finalmente en la fase acuosa de la pulpa (diagrama 5), se observa la presencia de  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina.

## 0072

**Mezcla de elución:** MeOH-NH<sub>4</sub>OH  
50:1, 1 vez

**Revelador:**  $SbCl_5/CHCl_3$

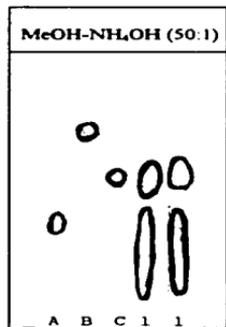
**Muestras:**

A.  $\alpha$ -Solanina ( $R_f = 35$ )

B. Solanidina ( $R_f = 71$ )

C.  $\alpha$ -Chaconina ( $R_f = 54$ )

1. Mezcla de alcaloides parte aérea (diagrama 1)



**Observaciones:** La muestra de parte aérea se aplicó por duplicado y se observa la presencia de  $\alpha$ -chaconina; además de otras sustancias que son sensibles al  $SbCl_5$ .

**08F3**

**Mezcla de elución:** MeOH-NH<sub>4</sub>OH

50:1, 1 vez

**Revelador:** SbCl<sub>5</sub> /CHCl<sub>3</sub>

**Muestras:**

A. α-Solanina (R<sub>f</sub> = 35)

B. Solanidina (R<sub>f</sub> = 85)

C. α-Chaconina (R<sub>f</sub> = 70)

1. Mezcla de α-Solanina y α-Chaconina de cáscara (diagrama 3)

2. Fase acuosa alcalinizada de cáscara (diagrama 4)

3. Mezcla de α-Solanina y α-Chaconina de cáscara (diagrama 4)

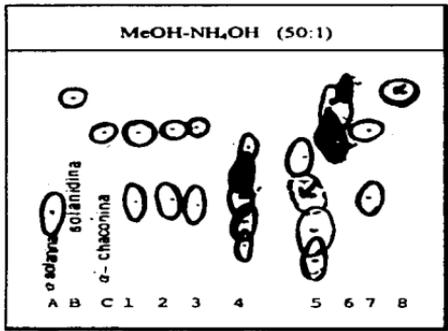
4. Sólido viscoso de cáscara (diagrama 4)

5. Precipitado soluble en metanol de pulpa (diagrama 5)

6. Fase clorofórmica de pulpa (diagrama 5)

7. Fase clorofórmica de parte aérea (diagrama 2)

8. Fase acuosa de parte aérea (diagrama 2)



**Observaciones:** En las muestras 1, 2 y 3 que corresponden a la cáscara (diagrama 3 y 4), se observa la presencia de α-solanina y α-chaconina. En el sólido viscoso de la cáscara (diagrama 4), además de la α-solanina se observan otras cuatro sustancias, las cuales dan prueba positiva con SbCl<sub>5</sub>, — intensamente rosa —, que no corresponden con ninguna de las referencias.

En la fase metanólica obtenida de la pulpa (diagrama 5), se observa además de la α-solanina, tres sustancias que dan prueba positiva con SbCl<sub>5</sub>, de las cuales cabe destacar que la que se encuentra puntuada en la cromatopla se observa en luz ultravioleta de longitud de onda corta. En la muestra 6, que corresponde a la fase clorofórmica de la pulpa (diagrama 5), se observan tres manchas con luz ultravioleta de longitud de onda corta y larga, mientras que con el revelador las manchas toman una coloración café, por lo cual se puede afirmar que dichas sustancias no poseen estructura esteroideal.

En la fase clorofórmica (7) y acuosa (8) de la parte aérea (diagrama 2), se determina la presencia de alcaloides. En la primera, se observa la presencia de una mezcla de α-solanina y α-chaconina; mientras que en la segunda, sólo se observa la presencia de solanidina.

## 8874

**Mezcla de elución:** MeOH-NH<sub>4</sub>OH

50:1, 1 vez

**Revelador:** SbCl<sub>3</sub> CHCl<sub>3</sub>

**Muestras:**

A.  $\alpha$ -Solanina (R<sub>f</sub> = 48)

B. Solanidina (R<sub>f</sub> = 84)

C.  $\alpha$ -Chaconina (R<sub>f</sub> = 64)

1. Fase EtOH

2. Fase MeOH

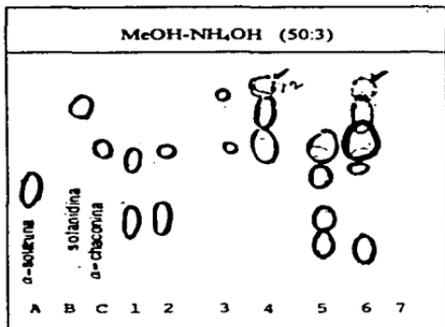
3. Precipitado de la fase MeOH

4. Fase Me<sub>2</sub>CO

5. Precipitado de EtOH

6. Precipitado de fase Me<sub>2</sub>CO

7. Fase con H<sub>2</sub>O



**Observaciones:** En la cromatopla 4, la fase EtOH (1) y MeOH (2) presentan los mismos componentes químicos:  $\alpha$ -chaconina y una sustancia de R<sub>f</sub> = 35 menor a la  $\alpha$ -solanina; sin embargo, los precipitados de estas muestras son diferentes. El precipitado que se obtuvo en la fase metanólica (3), tiene  $\alpha$ -chaconina y otra sustancia de R<sub>f</sub> = 87 mayor a la  $\alpha$ -solanina; mientras que en el precipitado obtenido de la fase etanólica, se observa una mezcla más compleja que tiene además de la  $\alpha$ -chaconina,  $\alpha$ -solanina y dos glicocaloides que no fueron identificados.

En la fase soluble en acetona (4), se observan 2 sustancias que revelan intensamente color rosa con el SbCl<sub>3</sub> y una sustancia que revela con luz ultravioleta de longitud de onda larga. Por lo tanto se puede concluir que la muestra presenta una sustancia con R<sub>f</sub> mayor a la solanidina (soluble únicamente en MeOH),  $\alpha$ -solanina (aparece en el precipitado de la fase etanólica),  $\alpha$ -chaconina (soluble en EtOH, MeOH y Me<sub>2</sub>CO) y tres sustancias con R<sub>f</sub> menor a la  $\alpha$ -solanina.

Por otro lado se observa que la muestra 6 esta constituida por 6 sustancias, 2 de las cuales corresponden a la  $\alpha$ -chaconina y solanidina, mientras que en la fase acuosa (7) no se determinó la presencia de ninguna sustancia.

### REF 3

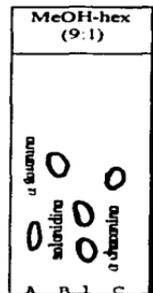
**Mezcla de elución:** MeOH-hexano  
9:1, 1 vez  
**Revelador:**  $SbCl_5 / CHCl_3$

**Muestras:**

- A.  $\alpha$ -Solanina ( $R_f = 19$ )
- B. Solanidina ( $R_f = 50$ )
- C.  $\alpha$ -Chaconina ( $R_f = 44$ )

1. Sólido café cáscara (Diagrama 3)

**Observaciones:** En la cromatopla se observa que el sólido café obtenido de la cáscara (diagrama 3), presenta una mezcla de sustancias que revelan de color rosa con  $SbCl_5$ , los cuales no corresponden a los alcaloides tomados como referencias.



### REF 4

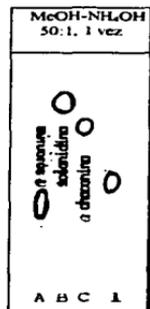
**MEZCLA de elución:** MeOH-NH<sub>4</sub>OH  
50:1, 1 vez  
**Revelador:**  $SbCl_5 / CHCl_3$

**Muestras:**

- A.  $\alpha$ -Solanina ( $R_f = 36$ )
- B. Solanidina ( $R_f = 77$ )
- C.  $\alpha$ -Chaconina ( $R_f = 66$ )

1. Muestra soluble en MeOH de pulpa (diagrama 4)

**Observaciones:** El precipitado soluble en MeOH, obtenido de la pulpa (diagrama 4), muestra la presencia de un alcaloide diferente al de las referencias que presenta un  $R_f = 44$  mayor a la  $\alpha$ -solanina.



C. CARACTERISTICAS DE LOS SOLIDOS AISLADOS DE *Solanum stoloniferum*.

SÓLIDO	CANTIDAD OBTENIDA	SOLUBILIDAD	PUNTO DE FUSION
Sólido amarillo (A) obtenido de la cáscara	254 mg	Soluble en H <sub>2</sub> O, parcialmente soluble en CHCl <sub>3</sub> e insoluble en Me <sub>2</sub> CO.	110 C (Descompone)
Sólido cristalino (B) obtenidos de la cáscara	104 mg	Insolubles en EtOH, CHCl <sub>3</sub> , AcOEt y hexano Parcialmente soluble en MeOH y soluble en H <sub>2</sub> O	230 C (Descompone)
Cristales blancos (C) obtenidos de la cáscara	40 mg	Soluble en H <sub>2</sub> O e insolubles en EtOH, CHCl <sub>3</sub> y AcOEt	240 C
Triacilglicerol obtenido en la cáscara	70 mg	Soluble en MeOH, EtOH y CHCl <sub>3</sub> .	50 C
Sólido amarillo (D) obtenido en la pulpa	68 mg	Soluble en MeOH, EtOH y CHCl <sub>3</sub> .	> 290 C
Sacarosa obtenida de la raíz.	25 mg	Insolubles en MeOH, CHCl <sub>3</sub> , AcOEt y hexano. Soluble en H <sub>2</sub> O.	170 C
Sólidos café	1.- 424 mg 2.- 54 mg 3.- 560 mg 4.- 27.4 mg 5.- 5mg 6.- 3 mg 7.- 20 mg 8.- 5 mg 9.- 64 mg	Parcialmente soluble en H <sub>2</sub> O y HCl al 10%. Insoluble en hexano, AcOEt, CHCl <sub>3</sub> , MeOH, EtOH y Me <sub>2</sub> CO.	Oscurce a 140 C, una parte funde a 160 C y otra a 240 C, pero a 380 C no presenta punto de fusión.

Tabla 17. Características de los sólidos obtenidos de acuerdo a la metodología propuesta en cada uno de los diagramas.

## D. DATOS ESPECTROSCOPICOS Y ESPECTROMETRICOS DE LAS SUSTANCIAS AISLADAS.

### Solanidina.

Espectro I. IR  $\nu_{\max}$  CHCl<sub>3</sub> (cm<sup>-1</sup>): 3612, 2951, 1929, 2869, 2848, 2788, 2748, 1456, 1377, 1139, 1043 y 1018.

Espectro II. EM (I.E) m/z (%) 399 (M<sup>+</sup>+2, 0.2), 398 (M<sup>+</sup>+1, 12.7), 397 (M<sup>+</sup>, 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 III. RMN<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS),  $\delta$  (ppm): C-1 (37.26), C-2 (31.64), C-3 (71.78), C-4 (42.29), C-5 (140.82), C-6 (121.68), C-7 (32.05), C-8 (31.64), C-9 (50.22), C-10 (36.6), C-11 (20.90), C-12 (39.93), C-13 (40.28), C-14 (57.61), C-15 (33.36), C-16 (61.03), C-17 (63.04), C-18 (16.48), C-19 (19.48), C-20 (36.60), C-21 (18.25), C-22 (74.65), C-23 (29.28), C-24 (31.07), C-25 (31.33), C-26 (60.23), C-27 (19.37).

Espectro IV. RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS),  $\delta$  (ppm): 5.34 (*d*, J = 4.8 Hz, 1H), 3.5 (señal ancha, 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).

### Triacilglicerol.

Espectro V. RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS),  $\delta$  (ppm): 0.85 (*t*, J = 6.7, 9H, CH<sub>3</sub>-), 1.25 (*s*, 46H, -CH<sub>2</sub>-), 2.30 (*td*, J = 7.5, 1.8, 6H; -CH<sub>2</sub>CO), 4.14 (*dd*, J = 11.8, 6, 4H, -CH<sub>2</sub>O), 4.29 (*dd*, J = 11.8, 4.3, 1H, -CH<sub>2</sub>O-), 5.26 (*dt*, J = 5, 1.8, 2H, CH=CH-), 1.54 (*s*, XH, CH<sub>3</sub>-).

Espectro VI. IR  $\nu_{\max}$  CHCl<sub>3</sub> (cm<sup>-1</sup>): 2956, 2910, 2850, 1736, 1472, 1390, 1276, 1256, 1178, 1112, 1058, 718.

**Sólido "D" obtenido de pulpa de *Solanum stoloniferum*.**

Espectro VII. IR  $\nu_{\max}$  KBr ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3409, 2930, 1568, 1446, 1053 y  $614 \text{ cm}^{-1}$ .

**$\alpha$ -Solanina.**

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

**Octacetil-8-D-fructopiranosil- $\alpha$ -D-glucopirósido.**

Espectro IX. IR  $\nu_{\max}$   $\text{CHCl}_3$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3433, 2404, 1769, 1377, 830.

Espectro X. IR  $\nu_{\max}$   $\text{CHCl}_3$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2960, 2931, 2857, 1750, 1523, 1424, 1372, 1041, 928.

Espectro XI. RMN<sup>13</sup>C (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS),  $\delta$  (ppm): 61.76 ( $-\text{CH}_2-$ , 6), 62.88 ( $\text{CH}_2$ , 6'), 63.66 ( $-\text{CH}_2-$ , 1'), 68.19 y 68.50 (CH, 4, 4'), 69.63 y 70.28 (CH, 2, 3'), 74.98 y 74.68 (CH, 5, 5'), 79.11 (CH, 3), 89.93 (CH, 1), 104 (C cuaternario, 2'), 169.56-170.75 ( $-\text{C}=\text{O}$ ).

Espectro XII. RMN<sup>1</sup>H (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS),  $\delta$  (ppm): 5.61 (*d*,  $J = 3.7$ ,  $\text{H}_1$ ), 5.34 (*m*,  $\text{H}_3$ ,  $\text{H}_3'$ ,  $\text{H}_4$ ), 5.0 (*t*,  $J = 10.4$ ,  $\text{H}_4$ ), 4.8 (*dd*,  $J = 10.4$  y  $3.7$ ,  $\text{H}_2$ ), 4.17 (*m*,  $\text{H}_1'$ ,  $\text{H}_5$ ,  $\text{H}_5'$ ,  $\text{H}_6$ ,  $\text{H}_6'$ ), 2.04 (*m*,  $\text{CH}_3$ ).

Espectro XIV. EM (I.E)  $m/z$  (%): 331 (66.89), 271 (5.4), 212 (8.1), 211 (73.64), 187 (2.7), 169 (89.86), 139 (6.75), 127 (12.16), 109 (43.91), 97 (9.45), 73 (5.4), 43 (100).

**Sólido café.**

Espectro XV. IR  $\nu_{\max}$  KBr ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3370, 2953, 2923, 2854, 1653, 1461, 1382, 1268, 1051.

Espectro XVI. IR  $\nu_{\max}$   $\text{CHCl}_3$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2966, 2931, 2862, 1720, 1463, 1463, 1382, 1290, 1131, 1076.

## E. ENSAYOS BIOLÓGICOS.

Bioensayo de toxicidad en *Artemia salina* L.

En la tabla 24, se muestran los resultados obtenidos en los diferentes extractos de las partes aéreas y raíz de 4 especies de papa silvestre mexicana.

EXTRACTO		PORCENTAJE DE MUERTES			CL <sub>50</sub> (µg/ml)	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
		10 µg/ml)	100 µg/ml)	1000 µg/ml)			
<i>S. polytrichon</i> (hojas y tallo)	Hexánico	3.33	4.44	5.55	-	-	-
	Acetato de etilo	5.55	33.33	73.33	209.517	150.733	295.739
	Metanólico	4.44	34.44	92.22	152.669	113.975	204.216
<i>S. cardiophyllum</i> (hojas y tallo)	Hexánico	3.33	6.67	52.22	1086.39	548.042	1608.657
	Acetato de etilo	2.22	10	36.67	2965.13	-	-
	Metanólico	3.33	7.77	67.78	587.740	396.505	844.957
<i>S. michoacanum</i> (hojas y tallo)	Hexánico	4.44	3.33	13.33	-	-	-
	Acetato de etilo	4.44	1.11	36.67	4645.70	1856.034	-
	Metanólico	5.55	15.55	95.55	201.393	152.684	264.794
<i>S. stoloniferum</i> (hojas)	Hexánico	4.44	5.55	10	-	-	-
	Acetato de etilo	2.22	3.33	6.67	-	-	-
	Metanólico	7.77	7.77	36.67	5512.05	1765.612	-
<i>S. cardiophyllum</i> (raíz)	Hexánico	3.33	11.11	10	-	-	-
	Acetato de etilo	-	3.33	3.33	-	-	-
	Metanólico	3.33	11.11	60	858.720	548.042	1608.657
<i>S. stoloniferum</i> (raíz)	Hexánico	4.44	7.78	8.88	-	-	-
	Acetato de etilo	4.44	30	44.44	1174.06	582.960	3701.348
	Metanólico	4.44	33.33	93.33	130.629	97.84	174.472
<i>S. polytrichon</i> (raíz)	Hexánico	3.33	4.44	7.78	-	-	-
	Acetato de etilo	2.22	3.33	12.22	-	-	-
	Metanólico	3.33	18.89	61.11	576.860	381.042	984.863

Tabla 24.- Bioensayo de toxicidad frente *Artemia salina* L. en los extractos hexánico, acetato de etilo y metanólico tanto en partes aéreas como en raíz de cuatro especies de papas silvestres mexicanas.

### Pruebas antimicrobianas.

En la tabla 25, se muestran los resultados obtenidos en los diferentes extractos de las partes aéreas y raíz para 4 especies de papa silvestre mexicana.

EXTRACTO		MICROORGANISMOS									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Solanum polytrichon</i> (raíz)	Hexánico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Acetato de etilo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Metanólico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Solanum polytrichon</i> (hojas y tallo)	Hexánico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Acetato de etilo	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
	Metanólico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Solanum stoloniferum</i> (raíz)	Hexánico	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Acetato de etilo	+	-	-	-	±	-	-	-	-	-
	Metanólico	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Solanum stoloniferum</i> (hojas)	Hexánico	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Acetato de etilo	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
	Metanólico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Solanum cardiophyllum</i> (raíz)	Hexánico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Acetato de etilo	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
	Metanólico	+	-	-	-	-	-	-	-	±	-
<i>Solanum cardiophyllum</i> (hojas y tallo)	Hexánico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Acetato de etilo	±	-	-	-	-	-	-	-	-	±
	Metanólico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Solanum michoacanum</i> (hojas y tallo)	Hexánico	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-
	Acetato de etilo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Metanólico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+) = actividad

(-) = sin actividad

(±) = poca actividad

1. *Mycobacterium smegmatis*
2. *Staphylococcus aureus*
3. *Streptococcus mutans*
4. *Streptococcus agalactiae*
5. *Streptococcus faecalis*

6. *Bacillus subtilis*
7. *Sarcina lutea*
8. *Escherichia coli*
9. *Pseudomonas aeruginosa*
10. *Candida albicans*

**Tabla 25.** Resultados de la evaluación antimicrobiana de los extractos crudos obtenidos de cuatro especies de papa silvestre mexicana.

## F. IDENTIFICACION DE $\alpha$ -SOLANINA Y $\alpha$ -CHACONINA POR CLAR.

Por medio de cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa, se logró identificar y determinar además de los alcaloides comunes otras sustancias que fueron detectadas en UV como se muestra en la tabla 26, siguiendo la metodología propuesta por Dan y Friedman<sup>23</sup>.

IDENTIFICACION DE $\alpha$ -SOLANINA Y $\alpha$ -CHACONINA EN CUATRO ESPECIES SILVESTRES MEXICANAS DE PAPA POR CLAR					
MUESTRA	TIEMPO DE RETENCION (min.)			$\Delta t_{R1}$	$\Delta t_{RE} - \Delta t_{RP}$
	$\alpha$ -Solánina	$\alpha$ -Chaconina	OTRO		
Estándar	5.2	5.77		0.57	
<i>S. stoloniferum</i>	4.7	5.2	3.5, 4.0, 5.9	0.5	0.07
<i>S. cardiophyllum</i>	4.4	4.8	2.5, 6.7	0.4	0.17
<i>S. polytrichon</i>	5.2	5.7	3.0, 3.5, 4.0, 4.7, 6.7, 7.4, 7.9, 9.6, 13.3	0.5	0.0
<i>S. erherbergii</i>	4.6	5.0	3.8, 4.4, 6.7, 7.9	0.4	0.17
<i>S. stoloniferum</i> *	4.7	5.0		0.3	0.27

\*La muestra corresponde a la mezcla de alcaloides purificada de la parte aérea como se muestra en el diagrama 1 y 2.

$\Delta t_{R1}$  = Tiempo de retención de  $\alpha$ -solánina - Tiempo de retención de  $\alpha$ -chaconina

$\Delta t_{RE} - \Delta t_{RP}$  =  $\Delta$ Tiempo de retención del estándar -  $\Delta$ Tiempo de retención del problema.

Tabla 26 . Análisis cromatográfico -CLAR- de la pulpa de 4 especies de papa silvestre mexicana.

## **IX. DISCUSION DE RESULTADOS**

## A. DETERMINACION CUALITATIVA DE ALCALOIDES CON REACTIVOS ESPECIFICOS.

Para la determinación cualitativa de alcaloides en los extractos hexánico y clorofórmico de las partes aéreas, cáscara y pulpa<sup>[27]</sup> de *Solanum stoloniferum*, se procedió de acuerdo a lo informado en la literatura<sup>18</sup>, de donde se afirma que para poder concluir que los extractos presentan alcaloides, deben resultar mínimo 6 pruebas positivas. De acuerdo con lo anterior, se puede señalar que los extractos etanólicos de la ruda (7 pruebas positivas), colorin macho (7 pruebas positivas) y colorin hembra (8 pruebas positivas) poseen alcaloides como constituyentes mayoritarios. Por otro lado, el número de pruebas positivas de la colchicina (5 pruebas positivas), se puede explicar en función de su nitrógeno alifático primario, el cual no posee un gran carácter básico, ya que no forma una serie de sales definidas como las eritrinas, que son los principales alcaloides del colorin<sup>78</sup>, así como, los derivados de la acridona constituyentes mayoritarios encontrados en la ruda<sup>77</sup>, los cuales forman sales insolubles y/o complejos coloridos con los reactivos empleados.

En la mayoría de las reacciones para la determinación de alcaloides, se presentan equilibrios simultáneos -reacciones de complejación y precipitación-, los cuales pueden estar determinados por la presencia de otros iones o sustancias que puedan reaccionar con un reactivo determinado; además de la temperatura, pH de la solución, concentración del reactivo o del alcaloide y el tiempo de reacción, como sucede con el reactivo de Scheibler's, ver tabla 19.

Los reactivos que dieron mayor número de pruebas positivas son: Mayer, Hager y Dragendorff. Sin embargo, los reactivos de Marquis y tricloruro de antimonio pueden producir reacciones falsas positivas. El reactivo de Marquis provoca la condensación de

---

<sup>[27]</sup> Se realizó un estudio preliminar, empleando extracto etanólico de plantas medicinales ruda y colorin, así como un alcaloide puro, la colchicina, con la finalidad de conocer como reaccionan éstos con los reactivos específicos para detectar alcaloides.

compuestos aromáticos con el formaldehído, para generar los compuestos diarilmetilénicos, los cuales se oxidan a quinoides coloridos (prueba de Le Rosen para compuestos aromáticos)<sup>80</sup>. Esta prueba es positiva para derivados del fenilpropano, como el ácido caféico, cumárico, cinámico y ferúlico. El tricloruro de antimonio forma un complejo con el (los) sistema (s) que contienen dobles enlaces, como por ejemplo la vitamina A, los carotenoides, terpenoides, esteroides, saponinas y flavonoides entre otros<sup>84</sup>. En el caso de los alcaloides esteroidales se debe a la presencia de la doble ligadura entre los C-5 y C-6 de dicho esqueleto.

De acuerdo con los resultados mostrados en las tablas 20-22, se puede afirmar que los extractos hexánicos — partes aéreas, cáscara y pulpa — no presentan como constituyentes a los glicoalcaloides; mientras que los extractos clorofórmicos — pulpa y cáscara, pero no de partes aéreas —, muestran como constituyentes a dichas sustancias en función del número de pruebas positivas obtenidas.

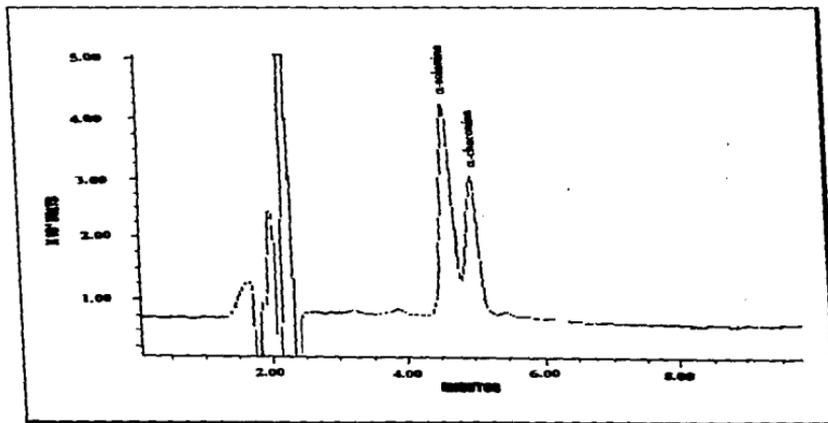
## **B. IDENTIFICACION DE $\alpha$ -SOLANINA Y $\alpha$ -CHACONINA EN LAS PARTES AEREAS (HOJAS-TALLO) DEL EXTRACTO $\text{AcOH/EtOH/H}_2\text{O}$ .**

La fase clorofórmica, a la cual se le realizaron pruebas con los reactivos específicos para alcaloides (diagrama 1), se concentró y se disolvió en MeOH, separándose lo que se solubilizó en este disolvente (eliminando la mayor parte del pigmento). En esta fase se identificó por  (1) la  $\alpha$ -solanina y otra estructura con  mayor a la  $\alpha$ -chaconina, así se comprobó que las pruebas cualitativas no permitieron la visualización de las reacciones en el extracto por la interferencia de los pigmentos.

En la fase acuosa alcalinizada se obtuvo un sólido viscoso que fue lavado con MeOH (diagrama 1), en esta fase se detectó una mezcla de sustancias esteroidales con el reactivo

de  $\text{SbCl}_5/\text{CHCl}_3$ , por medio de  $\text{CCl}_4$  (2), de donde se pudo identificar a la  $\alpha$ -chaconina y posiblemente a la  $\alpha$ -solanina. 40 mg de sólido cristalino. Debido a que no fue posible su purificación, se comprobó la presencia de estas sustancias por CLAR, en la tabla 26, se muestra el tiempo de retención para la  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina empleados como estándares. Se inyectaron 5  $\mu\text{l}$  de la muestra obtenida en el cromatografo y se encontraron dos picos asignados a la  $\alpha$ -solanina ( $t_R = 4.7$ ) y  $\alpha$ -chaconina ( $t_R = 5.0$ ), ver cromatograma 1, la diferencia entre ambos picos (0.57) no difiere al de los estándares (0.5).

Comprobada la presencia de la  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, se procedió a hidrolizar 28 mg de la muestra con la finalidad de obtener a la solanidina, esqueleto base -solanidano- de ambas sustancias.



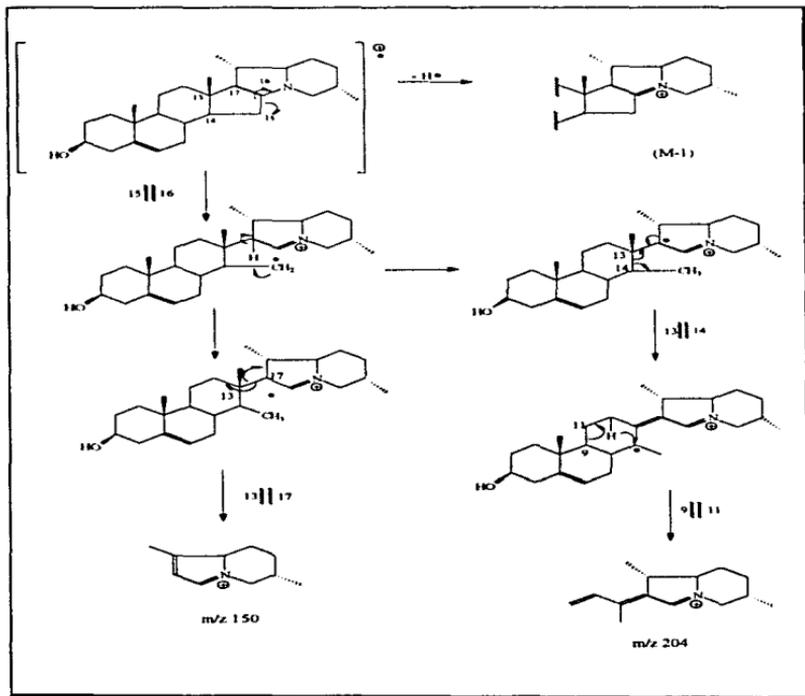
Cromatograma 1. Tiempo de retención para muestras de  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina.

### **Caracterización de la Solanidina (I).**

En su espectro de IR (espectro I) se observa una banda de absorción a  $3612\text{ cm}^{-1}$ , la cual corresponde a un grupo hidroxilo, además de las señales a  $2930$  y  $2870\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a  $\nu(\text{C-H})\text{ sp}^3$ , que indica un esqueleto altamente hidrocarbonado. En su espectro de masas (espectro II) se observa un ión molecular de  $m/z$  397, cuyo análisis revela una fórmula estructural  $\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{NO}$  ( $\Omega=7$ ). Estos datos se confirman con su espectro de RMN<sup>13</sup>C (espectro III), en donde se observan 27 señales; las cuales aparecen entre  $\delta$  140.8-121.7 y corresponden a carbonos  $\text{sp}^2$  de un doble enlace C-C, lo cual está de acuerdo a lo observado con el reactivo  $\text{SbCl}_5$ .

El espectro de masas de esta sustancia presenta picos característicos de  $m/z$  204 y 150 de un sistema indolizidina, el cual se encuentra formando los anillos E y F del esqueleto del solanidano; en el esquema 2 se describe el patrón de fragmentación de la sustancia en discusión.

Budzikiewicz y colaboradores<sup>85</sup> establecieron también el patrón de fragmentación para los tres diferentes tipos de aglicona que presentan los glicoalcaloides. Por ejemplo el tipo secosolanidano como la solanocapsina (45), se caracteriza por la presencia de un pico estable de  $m/z$  114 y del espirosolano como la solasodina (31), por los picos de  $m/z$  138 y 114. Por lo tanto, lo anterior confirma que la estructura de la sustancia obtenida es de tipo solanidano. En la figura 5, se muestran los fragmentos que originan los picos característicos de las diferentes agliconas encontradas en los glicoalcaloides.



Esquema 2. Patrón de fragmentación establecido para la solanidina por Budzikiewicz<sup>11</sup>.

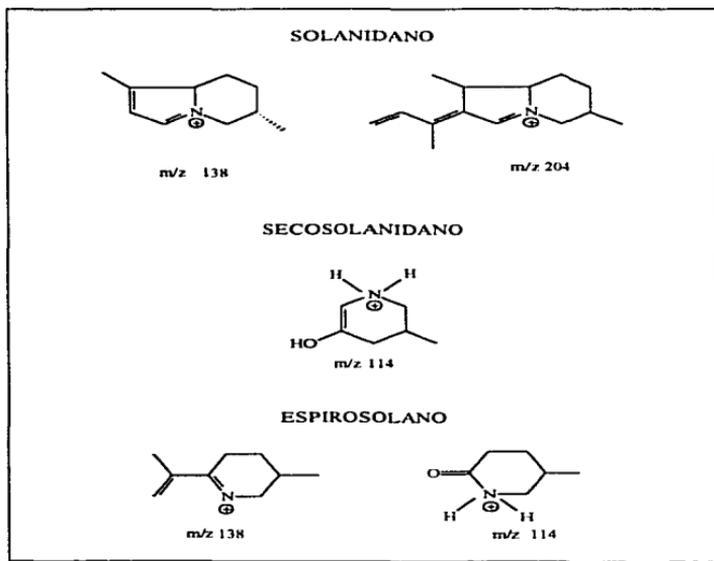
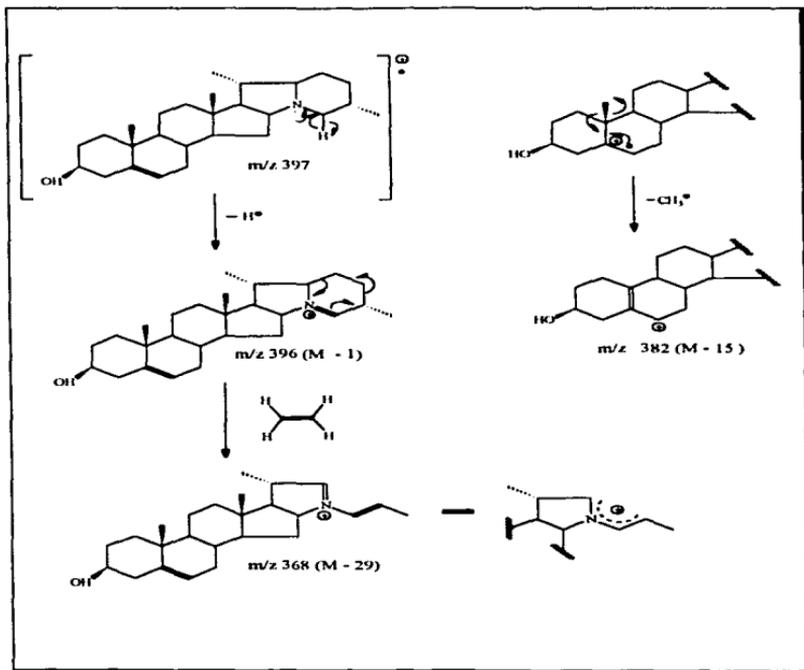


Figura 5. Fragmentos que explican los picos característicos de los diferentes tipos de aglicona que presentan los glicocaloides de acuerdo a Budzikiewicz<sup>85</sup>.

Además, se observan los fragmentos correspondientes a los picos de  $m/z$  397 — ión molecular—,  $m/z$  396, 382 (M-15) y 368 (M-29), los cuales se pueden explicar con lo descrito en el esquema 3.



**Esquema 3.** Patrón de fragmentación propuesto para explicar los fragmentos  $m/z$  (M-15) y 368 (M-29) para el espectro de masas de la solanidina.

Aunado a la descripción anterior, en el espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro IV) se observa a  $\delta$  5.34 ( $J = 4.8$  Hz) una señal *d* que integra para 1 hidrógeno, el cual corresponde al hidrógeno vinílico del C-6, como se ilustra en la figura 6.

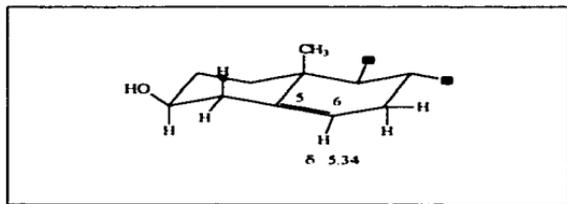


Figura 6. Hidrógeno vinílico presente en la estructura aislada de acuerdo a su espectro de RMN<sup>1</sup>H.

La presencia del grupo hidroxilo se confirmó por la señal simple  $\delta$  3.46, en la figura 7 se muestra la zona donde aparece dicha señal, la cual desaparece al correr su espectro de RMN<sup>1</sup>H con D<sub>2</sub>O, esto indica que existe un intercambio de hidrógeno por deuterio.

La señal que aparece en  $\delta$  2.82 (*dd*,  $J = 10.2$  y  $3.6$  Hz) corresponde al par de hidrógenos diastereotópicos ubicados en la posición 26, cuyo desplazamiento químico está determinado por el efecto de desprotección que causa el nitrógeno sobre dichos hidrógenos<sup>[28]</sup>, lo cual se muestra en la figura 8.

[28] Para los alcaloides de esqueleto espirosolano la señal que corresponde a los hidrógenos del C-26 aparecen a un desplazamiento a campo más alto, debido a la repulsión electrónica que sufre el H<sub>ax-axial</sub><sup>[28]</sup>. El tomatidenoI presenta a  $\delta$  2.74 (*d*,  $J = 7.0$  Hz, 2H) las señales correspondientes a estos hidrógenos en su espectro de RMN<sup>1</sup>H<sup>[21]</sup>.

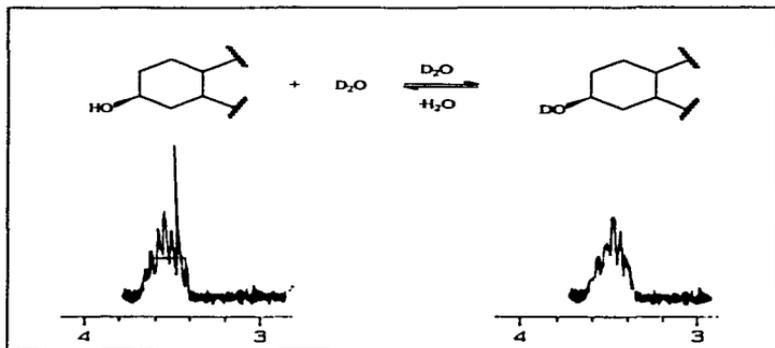


Figura 7. Estructura parcial que representa al hidrógeno del hidroxilo en el C-3 (identificado por el intercambio del hidrógeno de la solanidina y el agua deuterada en su espectro de RMN<sup>1</sup>H).

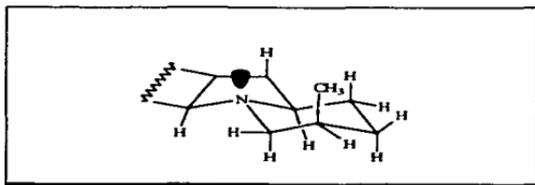


Figura 8. Efecto de desprotección ejercido por el nitrógeno hacia los hidrógenos del C-26.

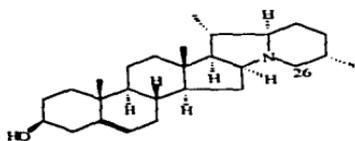
La señal múltiple centrada en  $\delta$  2.61 que integra para 2 hidrógenos corresponde a los ubicados en la posición 22 y 16, los cuales sufren un efecto de desprotección por parte del nitrógeno, ya que se encuentran en posición  $\alpha$  al mismo. Por otra parte, la señal compleja en  $\delta$  2.25 se puede asignar a los hidrógenos alílicos del carbono 4.

Dentro del intervalo  $\delta$  0.8 y  $\delta$  1.0 aparecen las señales correspondientes a los metilos 18, 19, 21 y 27, esto puede comprobarse al comparar los desplazamientos químicos de estos mismos para otros alcaloides aislados dentro del mismo género, como se muestra en la tabla 27.

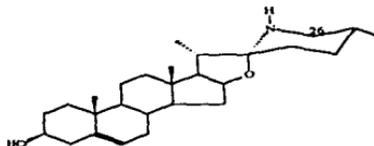
<b>DESPLAZAMIENTO QUIMICO PARA LOS METILOS PRESENTES EN ALGUNOS GLICOALCALOIDES</b>				
-CH <sub>3</sub>	DESPLAZAMIENTO QUIMICO ( $\delta$ )			
	Tomatidenol (17)	Solasodina (31)	Soladunalinidina(33)	Solamargina (44)
18	-	0.9	0.82	0.87
19	1.04	1.05	0.82	0.87
21	0.97	1.09	0.96	1.09
27	0.84	0.81	0.85	0.81

**Tabla 27.** Desplazamiento químico para los hidrógenos correspondientes a los metilos presentes en 4 glicoalcaloides<sup>21</sup>.

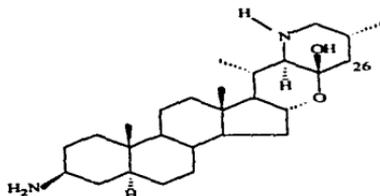
Por último, al comparar los datos de RMN<sup>13</sup>C de la solanidina (10) con los informados en la literatura y las sustancias 31 y 45, ver tabla 28, se observa que los datos de la solanidina son muy cercanos a los informados para la sustancia en discusión. El desplazamiento químico para el C-3 de la solanidina y solasodina es  $\delta$  71.6 y 71.7 respectivamente, mientras que la solanocapsina presenta un  $\delta$  50.9, la diferencia en el desplazamiento químico se debe a la naturaleza del grupo que se encuentra en el C-3.



10. Solanidina (solanidano)



31. Solasodina (espirosolano)



45. Solanocapsina (secosolanidano)

El C-5 y C-6 de la solasodina y solanidina forman parte de un sistema insaturado (doble enlace), que debido a su tipo de hibridación  $sp^2$  los electrones se encuentran más cercanos al núcleo, lo que ocasiona que presenten un desplazamiento químico mayor a 100 ppm —  $\delta$  140, C-5 y  $\delta$  121.7, C-6 —. En la solanocapsina no se observa dicho efecto, ya que dichos carbonos presentan hibridación  $sp^3$ . También se puede observar una diferencia en el C-16, el cual se encuentra geminal a un oxígeno en la solasodina y solanocapsina, mientras que en la solanidina se encuentra en posición  $\alpha$  a un nitrógeno, es por ello, que este último se encuentra más desplazado a campo alto ( $\delta$  69) en comparación con los dos primeros ( $\delta$  78.9 y 74.1), donde el efecto electroattractor del átomo de oxígeno es mayor al átomo de nitrógeno.

DATOS DE RMN <sup>13</sup> C PARA LOS DIFERENTES ESQUELETOS DE GLICOALCALOIDES				
CARBONO	TIPO DE ESQUELETO			
	SOLANIDANO SUSTANCIA AISLADA (1)	SOLANIDINA** (10)	ESPIROSOLANO SOLASODINA** (31)	SECOSOLANIDANO SOLANOCAPSINA** (45)
1	37.26	37.9	37.16	37.3
2	31.64	32.4	31.99	32.4
3	71.78	71.2	71.65	50.9
4	42.29	43.5	42.22	38.8
5	140.82	141.9	140.91	42.7
6	121.68	121.2	121.40	38.8
7	32.05	32.6	32.08	75.0
8	31.64	32.0	31.54	43
9	50.22	50.6	50.03	52.8
10	36.60	36.9	36.57	35.1
11	20.90	21.3	20.79	20.4
12	39.93	40.1	39.85	39.1
13	40.28	40.6	40.45	42.4
14	57.61	57.8	56.46	54.1
15	33.36	33.6	32.08	30.6
16	61.03	69.2	78.91	74.1
17	63.04	63.4	62.73	60.6
18	16.84	17.0	16.29	13.5
19	19.48	19.7	19.30	12.4
20	36.60	36.9	41.20	33.0
21	18.25	18.6	15.13	15.3
22	74.65	74.7	98.25	68.8
23	29.28	29.6	33.92	98.4
24	31.07	31.6	30.12	39.4
25	31.33	31.3	31.34	30.6
26	60.23	60.2	47.51	54.8
27	19.37	19.7	19.17	18.6

Tabla 28. Comparación de datos de RMN<sup>13</sup>C de los diferentes tipos de esqueletos de glicoalcaloides así como de la sustancia obtenida<sup>\*\*--\*\*</sup>

El CH<sub>3</sub>-19 tiene un ligero desplazamiento a campo alto en la solanidina (δ 19.7) y solasodina (δ 19.3), en comparación con el mismo metilo de la solanocapsina (δ 12.4) esto se puede atribuir a la presencia de la doble ligadura

Por otro lado, el desplazamiento químico de los átomos de C-22 y C-26, está determinado principalmente por la presencia del átomo de nitrógeno, el cual ejerce un efecto de desprotección sobre dichos átomos de carbono, cuando se comparan los desplazamientos químicos entre la solanidina (10), solanocapsina (45) y solasodina (31), siendo la primera la que muestra desplazamiento mayor para los C-22 y C-26.

#### **Extracto MeOH/CHCl<sub>3</sub>**

En el extracto MeOH (diagrama 2) se detectó por GC/MS (4) la presencia de 6 sustancias de tipo esteroidal, identificadas por la reacción positiva con SbCl<sub>5</sub>/CHCl<sub>3</sub>, una de ellas se identificó como α-chaconina, las otras no corresponden a los estándares empleados y no pudieron purificarse debido a la cantidad obtenida.

En la fase acuosa al realizar una segunda extracción con CHCl<sub>3</sub> (diagrama 2), se demuestra por medio de GC/MS (3), que tanto en la fase orgánica como en la fase acuosa se encuentran presentes alcaloides. En la primera hay presencia de α-chaconina (■ = 70) y una sustancia de ■ = 41 mayor a la α-solanina (■ = 35), en la fase acuosa se determinó presencia de una sustancia de ■ = 90 mayor a la solanidina (■ = 85).

Así por medio de la metodología seguida en el estudio de las partes aéreas de *Solanum stoloniferum*, diagrama 1 y 2, se encontró la presencia de α-solanina, solanidina y α-chaconina; además de otras cuatro sustancias, que probablemente sean alcaloides esteroideos pero que no pudieron purificarse por las técnicas cromatográficas usuales.

### C. DETECCION DE ALCALOIDES EN EL EXTRACTO AcOH/EtOH/H<sub>2</sub>O EN CASCARA.

En la fase acuosa (diagrama 3) se detectó por medio de **CCF** (3) la presencia de alcaloides que no corresponden a las referencias, dicha fase presentó un precipitado de donde se obtuvo un sólido amarillo (A), el cual se descompone a 110 C y da prueba positiva con  $SbCl_5/CHCl_3$ . En el espectro de IR se observa una banda en  $3376\text{ cm}^{-1}$  indicativa de un grupo hidroxilo polimerico, en  $2933\text{ cm}^{-1}$  la banda correspondiente a la  $\nu$  (C-H)  $sp^3$  y un grupo carbonilo a  $1629\text{ cm}^{-1}$ , característico de una cetona  $\alpha$ - $\beta$ -insaturada.

El tratamiento del sólido viscoso obtenido al alcalinizar una solución del sólido (A) permitió la obtención de 4.7 mg de un sólido café (diagrama 3), el cual está constituido por dos sustancias (**CCF** 5) que dan prueba positiva con  $SbCl_5/CHCl_3$ , las cuales no corresponden a los alcaloides empleados como referencia. El residuo se extrajo con  $CHCl_3$ , lo que permitió la obtención de unos cristales de p.f. 50 C, el cual se caracterizó como un triacilglicerol.

#### Caracterización del triacilglicerol.

En el espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro V), se observa una señal múltiple en  $\delta$  5.26 que integra para 1 hidrógeno, donde se observan por lo menos 8 señales que indican que se encuentra adyacente a 4 hidrógenos no equivalentes, por lo tanto el hidrógeno forma parte de un centro quiral. Así mismo, se observa una señal que aparece a  $\delta$  4.14 ( $dd$   $J = 11.8, 6$  Hz) que integra para 2 hidrógenos geminales a un oxígeno de un éster, lo que se comprueba debido a que en el espectro de IR (espectro VI) aparecen bandas características de un grupo carbonilo de éster ( $1736$  y  $1178\text{ cm}^{-1}$ ).

Esta señal también interacciona con el *dd* que aparece a  $\delta$  4.29 ( $J = 11.8, 4.3$  Hz, 2H) que corresponde a un hidrógeno adyacente a un oxígeno de un éster. Con estos datos la señal en  $\delta$  5.26 corresponde a un hidrógeno geminal a un grupo éster debido a su desplazamiento químico, razón por la cual se propone como estructura base la de un glicerol esterificado como se observa en la figura 9.

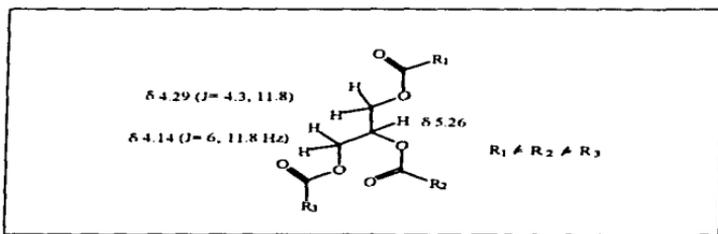


Figura 9. Estructura parcial del sólido "C" obtenido en la cáscara.

En este mismo espectro aparece en  $\delta$  2.30 una señal *td* ( $J = 7.5, 1.8$  Hz, 6H), cuyo desplazamiento químico indica la presencia de tres metilenos adyacentes a un grupo carbonilo. Así mismo, en  $\delta$  0.85 se observa una señal *t* ( $J = 6.7$  Hz) que integra para 9 hidrógenos que corresponden a tres metilos de cadena alifática (figura 10).

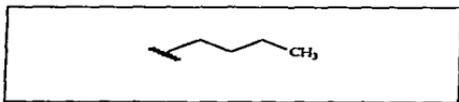


Figura 10. Metilos de cadena alifática que aparecen a  $\delta$  0.85

A  $\delta$  1.25 se observa una señal simple que integra para 46 hidrógenos que corresponden a 23 metilenos alifáticos. En el cuadro 3 se muestra una lista de algunos ácidos alifáticos saturados comunes, de los cuales el ácido palmítico es el más abundante, el caprílico y capríco son característicos de las palmeras y los más raros son el ácido araquídico y lignocérico.

<b>ACIDOS ALIFATICOS SATURADOS COMUNES EN LAS PLANTAS</b>	
Acido caproico	Acido hexanoico, con $C_6$
Acido caprílico	Acido octanoico, con $C_8$
Acido capríco	Acido decanoico, con $C_{10}$
Acido láurico	Acido dodecanoico, con $C_{12}$
Acido mirístico	Acido tetradecanoico, con $C_{14}$
Acido palmítico	Acido hexadecanoico, con $C_{16}$
Acido esteárico	Acido octadecanoico, con $C_{18}$
Acido araquídico	Acido eicosanoico, con $C_{20}$
Acido behénico	Acido docosanoico, con $C_{22}$
Acido lignocérico	Acido tetracosanoico, con $C_{24}$
Acido melístico	Acido triacotanoico, con $C_{30}$

Cuadro 3. Alcanos saturados más comunes encontrados en las plantas.

Al observar el cuadro 3 se proponen las siguientes combinaciones de cadenas de ácidos saturados unidos a la estructura parcial esterificada: ácidos caproico, láurico y mirístico; ácidos caproico, capríco y palmítico y finalmente caprílico, capríco y mirístico. Considerando que  $C_8$  y  $C_{10}$  son característicos de las palmeras se descartan las combinaciones 2 y 3 por lo que la primera combinación pudiera ser la que este presente en la sustancia aislada, basándose en lo anterior se propone la siguiente estructura para el triacilglicerol II aislado (figura 11).

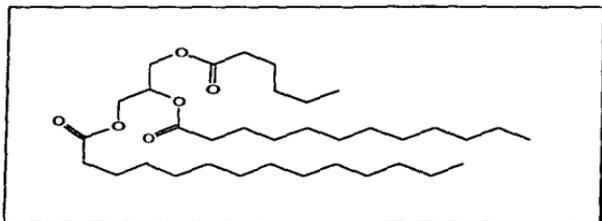


Figura 11. Estructura propuesta para la sustancia aislada, Triacilglicerol (II).

#### Separación de $\alpha$ -solanina y $\alpha$ -chaconina por CCV.

En la fase acuosa alcalinizada (diagrama 4) se detectó por **CCF** (3)  $\alpha$ -chaconina **■** = 70 y  $\alpha$ -solanina **■** = 36, de la extracción liq-liq con  $\text{CHCl}_3$  — 30 mg de extracto crudo — se realizó una **CCV** observándose que la muestra absorbida en celita se descomponía rápidamente<sup>[29]</sup>, además esta mezcla no se pudo resolver por esta técnica, ya que la  $\alpha$ -chaconina eluye al mismo tiempo con un compuesto menos polar y posteriormente con la  $\alpha$ -solanina, como se observa en la figura 12 donde se muestran las fracciones 68-85 (eluida con  $\text{AcOEt}$  y mezclas de  $\text{AcOEt}/\text{Me}_2\text{CO}$ ) y 86-100 ( $\text{Me}_2\text{CO}$  y mezclas de  $\text{Me}_2\text{CO}/\text{MeOH}$ ).

Del estudio realizado a la cáscara (diagrama 3 y 4), se logró detectar  $\alpha$ -solanina,  $\alpha$ -chaconina, además de otras dos sustancias que posiblemente sean alcaloides esteroidales, los cuales podrán ser separados por la técnica de CLAR.

<sup>[29]</sup> La degradación de la muestra se comprobó por **CCF**, para lo cual se aplicaba una muestra absorbida en celita y una sin absorber, a medida que transcurría el tiempo la muestra absorbida en celita se transforma.

1.  $\alpha$ -Solanina
2.  $\alpha$ -Chaconina
3. Fracción 68-85
4. Fracción 86-100

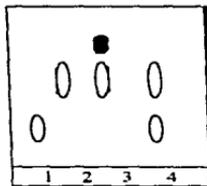


Figura 12. Esquema de la cromatoplaque de CCV

#### D. IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES EN EL EXTRACTO ACOH/ETOH/H<sub>2</sub>O EN PULPA.

En la fase clorofórmica de la pulpa (diagrama 5) se detectaron por **CCF** (3) tres sustancias que revelan en longitud de onda larga con una lámpara de UV y con  $SbCl_5/CHCl_3$  revelan color café, por lo cual no se puede suponer la presencia de alcaloides, sino de otro tipo de sustancias que tienen un doble enlace carbono-carbono que reaccionan con dicho revelador.

En la fase acuosa antes de alcalinizar se detectó por **CCF** (1) la presencia de  $\alpha$ -chaconina y  $\alpha$ -solanina, esta fase se alcalinizó, y al realizarle una extracción continua con  $CHCl_3$ , se detectó por **CCF** (6) una sustancia que da prueba positiva con  $SbCl_5/CHCl_3$ ; la cual tiene un **■** mayor a la solanidina y no corresponde a ninguna de las referencias.

Por otro lado, en la fase acuosa resultante de la operación anterior se detectó por **CCF** (3)  $\alpha$ -solanina y otras tres sustancias que no corresponden a los estándares empleados; así, la pulpa esta constituida principalmente de  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina

Después de realizar una destilación a presión reducida de la fase acuosa (diagrama 5) se obtuvo un sólido amarillo (D), de éste se tomaron 5 mg, los cuales se disolvieron en MeOH realizando una dilución hasta una concentración de 5  $\mu\text{g/ml}$ , al inyectar 5  $\mu\text{l}$  de esta solución al cromatógrafo de alta resolución se separó  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, además de otra sustancia que se encuentra en mayor proporción y que no ha sido identificada. El espectro de IR del sólido amarillo (D) (espectro VII), muestra bandas características de un esqueleto esterooidal semejante a la  $\alpha$ -solanina (espectro VIII) aislada de *Solanum ehrenbergii*<sup>49</sup>, en la tabla 29 se muestran las bandas características de ambas sustancias.

ASIGNACION DE BANDAS DE IR PARA EL SÓLIDO (D) Y LA $\alpha$ -SOLANINA		
BANDAS $\text{cm}^{-1}$		ASIGNACION
$\alpha$ -Solanina	Sólido (D)	
3420	3409	-OH
2927,2848	2930	v (C-H) $\text{sp}^1$
1452,1380	1446	-CH <sub>2</sub>
1636	1538	-C=C-
1070	1053	-C-O-C-

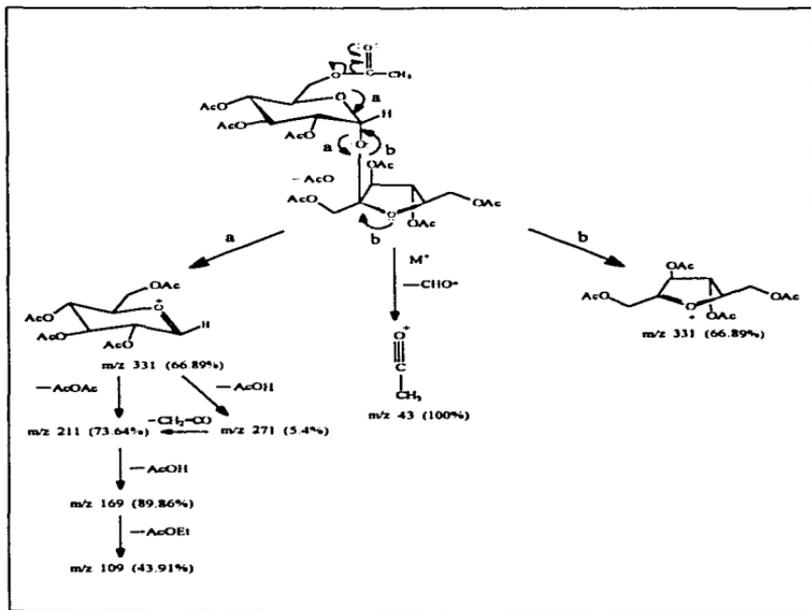
Tabla 29. Comparación de los datos espectroscópicos de IR obtenidos para el sólido (D) y la  $\alpha$ -solanina<sup>49</sup>.

## E. ESTUDIO QUIMICO REALIZADO AL EXTRACTO METANOLICO DE LA RAIZ DE *Solanum stoloniferum*.

En el extracto MeOH de la raiz se obtuvo un precipitado (diagrama 6), el cual presentó en su espectro de IR (espectro IX) una señal a  $3433\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a un grupo hidroxilo, mientras que en  $1377\text{ cm}^{-1}$  se observa una banda muy intensa correspondiente al  $\nu\text{ C-O}$ , lo que indica un compuesto altamente polihidroxilado, razón por la cual se hace poco manejable para el análisis espectroscópico, por lo anterior se procedió a la obtención de su correspondiente derivado acetilado.

El compuesto acetilado reveló por espectroscopia de IR (espectro X), una señal a  $1750\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a un grupo carbonilo de un éster y una banda en  $1372\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al estrechamiento C-O. Al observar su espectro de RMN<sup>13</sup>C (espectro XI) se comprobó que dicho compuesto se encontraba acetilado, ya que se observan ocho señales que corresponden a ocho grupos carbonilo y una señal muy intensa en 20 ppm que se asignan a grupos acetato.

En su espectro de masas (espectro XII), se observa un pico de  $m/z$  331, el cual sugiere que dicha molécula esta constituida por una glucosa peracetilada<sup>92</sup>, sin embargo en el espectro de la sustancia en discusión no se observa el pico de  $m/z$  242 [AcOCHO + AcOH], el cual se genera por medio de una ruptura de Retro Diels Alder. Por otro lado, se observan los picos de  $m/z$  271 (311 - AcOH), 211 (271 - AcOH) y 169 (211 - CH<sub>2</sub>CO), lo cual confirma la presencia de la glucosa, de esta manera se explica la presencia de cuatro grupos acetato, el resto de los grupos acetato puede deberse a una unidad adicional de un carbohidrato. En el esquema 4 se muestra el patrón de fragmentación para la sustancia aislada.



Esquema 4. Patrón de fragmentación para la sacarosa aislada de la raíz de *Solanum stoloniferum*.

En su espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro XIII), se observa una señal doble en  $\delta$  5.61 ( $J = 3.7$  Hz) que corresponde al H<sub>1,4</sub> de la glucosa, el cual muestra un acoplamiento con H<sub>2</sub>, cuya multiplicidad es un *del* en  $\delta$  4.8 ( $J = 10.4, 3.7$  Hz), lo anterior se puede confirmar basándose en su espectro COSY (figura 13), así mismo, se observa que H<sub>2</sub> muestra un acoplamiento *trans diaxial* con una señal triple que se localiza en  $\delta$  5.37 ( $J = 10.4$  Hz), la cual se puede atribuir al hidrógeno de la posición 3 (ver figura 14). El H<sub>4</sub> se observa como una señal triple en aproximadamente en 5.09 ppm ( $J = 10.4$  Hz), la señal de H<sub>3</sub> se encuentra entre  $\delta$  4.3–4.1, zona en la que también se localizan los hidrógenos diastereotópicos del C-6 de la glucosa, esta situación se comprueba por medio de su espectro COSY.

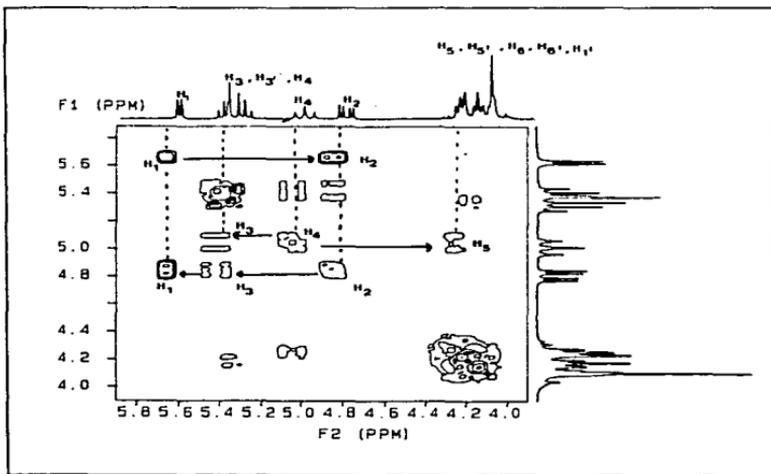


Figura 13. Espectro COSY para la sustancia aislada del extracto metanólico de la raíz.

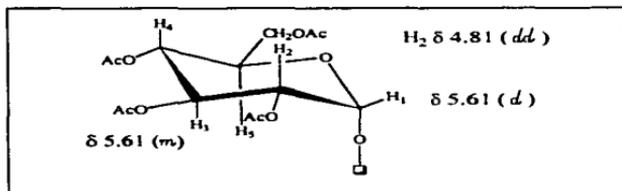


Figura 14. Estructura parcial del compuesto aislado de la raíz.

El  $H_4$  interacciona con las señales que se encuentran en  $\delta$  5.37 y 4.0–4.3 ( $H_3$  y  $H_5$  respectivamente). La multiplicidad de la señal se debe a que la posición de  $H_4$  es  $\beta$ -axial, mientras que  $H_3$  y  $H_5$  son  $\alpha$ -axiales, por lo que las constantes de acoplamiento  $J_{3,4} = J_{4,5}$  como se observa en la figura 15.

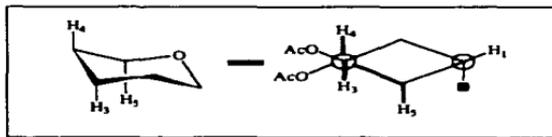


Figura 15. Acoplamiento  $J_{3,4} = J_{4,5}$

Finalmente las señales correspondientes a la fructosa se encuentran oscurecidas por las señales correspondientes a los hidrógenos  $H_3$ ,  $H_5$  y  $H_4$  de la glucosa, situación por lo cual dificulta la asignación de dichos protones. El grupo de señales  $\delta$  2.1 y 1.9 corresponden a los grupo metilo de los ocho acetatos presentes en la molécula. Estos datos han sido asignados a la octadecil- $\beta$ -D-fructopiranosil- $\alpha$ -D-glucopiranosido (IV) de acuerdo a la literatura<sup>21</sup>, la cual se muestra en la figura 16.

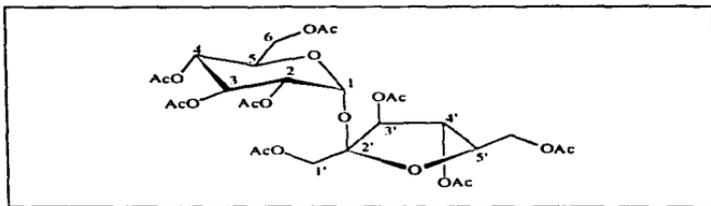


Figura 16. Estructura de octadecil- $\beta$ -D-fructopiranosil- $\alpha$ -D-glucopiranosido

Por otra parte, su espectro de RMN<sup>13</sup>C (tabla 30) muestra los desplazamientos químicos muy similares a los asignados a la sacarosa caracterizada en el estudio químico de *Poligonum hydropiper*<sup>93</sup>.

COMPARACION DE DATOS DE RMN <sup>13</sup> C PARA LA SUSTANCIA AISLADA		
CARBONO	SUSTANCIA AISLADA	SACAROSA PERACETILADA <sup>93</sup>
1	89.93	90.2
2	69.63	70.5
3	79.11	76
4	68.19	68
5	74.98	79
6	61.76	62
1'	63.66	63.1
2'	104	104
3'	70.28	69.9
4'	75.68	75.3
5'	68.50	68.7
6'	62.88	63.8

Tabla 30. Comparación de datos de RMN<sup>13</sup>C de sacarosa obtenida con la lo reportado en la literatura<sup>93</sup>.

## F. ANALISIS DE LOS SOLIDOS CAFES OBTENIDOS DURANTE EL ESTUDIO QUIMICO.

Como se puede observar en la metodología descrita en los diagramas (1-7) después de alcalinizar se precipitó un sólido café, en el cual posteriormente se determinó la presencia de glicoalcaloides, estos sólidos presentan propiedades físicas similares no funden a más de 300 C, son casi insolubles en agua, son solubles en ácido fórmico y dan prueba positiva con el reactivo de Marquis, por lo cual se propone que se trata de compuestos derivados de los fenilpropanoides

Los derivados del fenilpropano o fenilpropanoides son marcadores taxonómicos para muchas especies de plantas, en la familia *Solanaceae* se han aislado algunos de estos compuestos como el ácido ferulico, ácido p-cumarico y ácido cafeico — ácido clorogénico e isoclorogénico<sup>93</sup> —, en la figura 17 se muestran algunas estructuras de estos. Una de las principales características que presentan estos compuestos es la unión que tienen a una, dos o tres moléculas de azúcar como el ácido clorogénico que se ha aislado de *Solanum tuberosum*<sup>93</sup>

Los sólidos cafés obtenidos en el presente estudio se caracterizaron por presentar en el espectro de IR (espectro XV) un grupo carboxilo, el cual se manifiesta por las vibraciones correspondientes al grupo hidroxilo (3404 y 3171  $\text{cm}^{-1}$ ) y carbonilo en 1641  $\text{cm}^{-1}$ . Con base en lo anterior se procedió a la obtención de su correspondiente éster metílico, como se indica en el esquema 5.

La reacción de metilación con diazometano en  $\text{Et}_2\text{O}$  se comprobó por medio de su espectro de IR (espectro XVI), en donde en el cual se observan las bandas correspondientes a un grupo éster (1720 y 1290  $\text{cm}^{-1}$ ). En el medio de reacción se observó la presencia de  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, las cuales fueron identificadas por comparación con muestra auténtica.

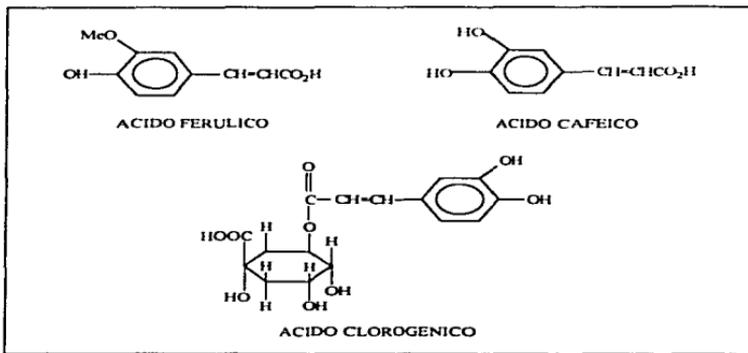
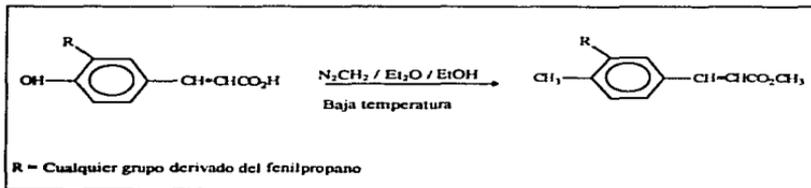


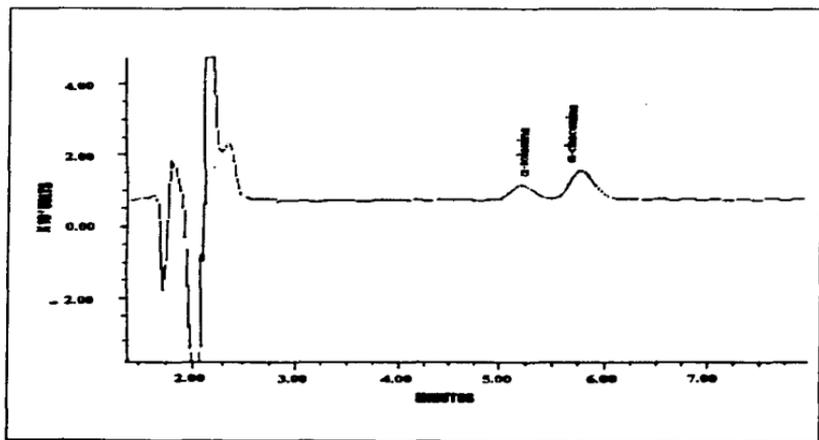
Figura 17. Estructura de algunos derivados del fenilpropano.



Esquema 5. Reacción de metilación para compuestos con un grupo característico de ácido carboxílico.

### G. DETERMINACION CUALITATIVA DE ALCALOIDES EN CUATRO ESPECIES SILVESTRES MEXICANAS DE PAPA POR CLAR.

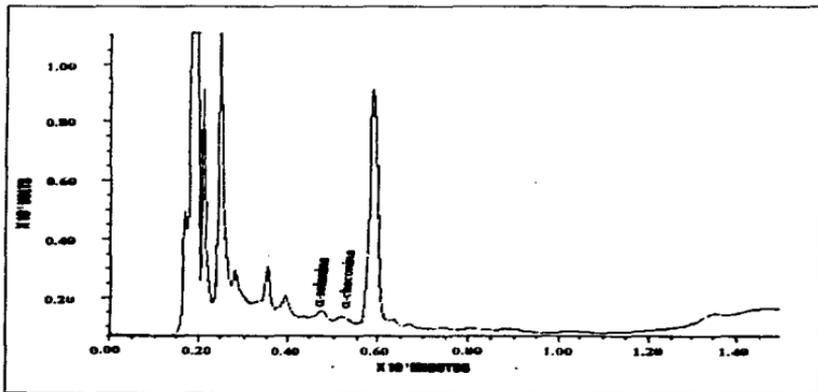
Se determinó la presencia de  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina en la pulpa de 4 especies silvestres de papa — *Solanum stoloniferum* (Tlaxcala), *S. chrenbergii*, *S. cardiophyllum* y *S. polytrichon* — así como otras sustancias que las constituyen. Como primer paso se procedió a determinar los tiempos de retención de la  $\alpha$ -solanina ( $t_R = 5.2$ ) y  $\alpha$ -chaconina ( $t_R = 5.77$ ), los cuales fueron utilizados como estándares, además de ser las sustancias más comunes encontradas en dicho género, como se muestra en el cromatograma 2.



Cromatograma 2. Tiempo de retención para la  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina.

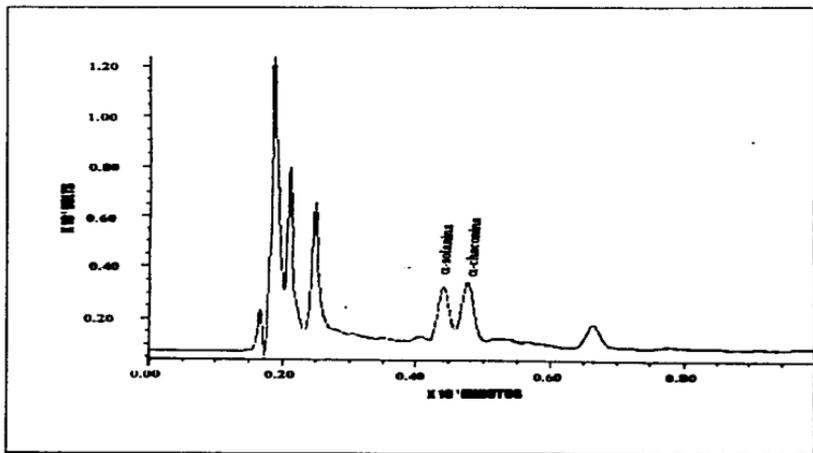
La pulpa de las especies de papa analizadas presentaron  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, los tiempos de retención obtenidos se muestran en la tabla 26, en donde se aprecia que la diferencia entre los picos de la  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina (estándares) es de  $\Delta t_R = 0.57$  minutos, mientras que de las muestras analizadas la que más se aproxima a los estándares corresponde a *S. stoloniferum* y *S. polytrichon*, ambas con  $\Delta t_R \sim 0.5$ . El desplazamiento de los picos que corresponden a la  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina se debe a las impurezas que éstas presentan y esto es lo que disminuye la capacidad de separación de la columna

*S. stoloniferum*, cromatograma 3, presenta además de los picos que corresponden a los estándares, tres picos adicionales de mayor polaridad que la  $\alpha$ -solanina, el de mayor intensidad presenta un  $t_R = 6.0$ , por lo que se supone que las tres sustancias correspondan a alcaloides glicoesteroidales



Cromatograma 3. Tiempo de retención de las sustancias que presenta la pulpa de *S. stoloniferum*.

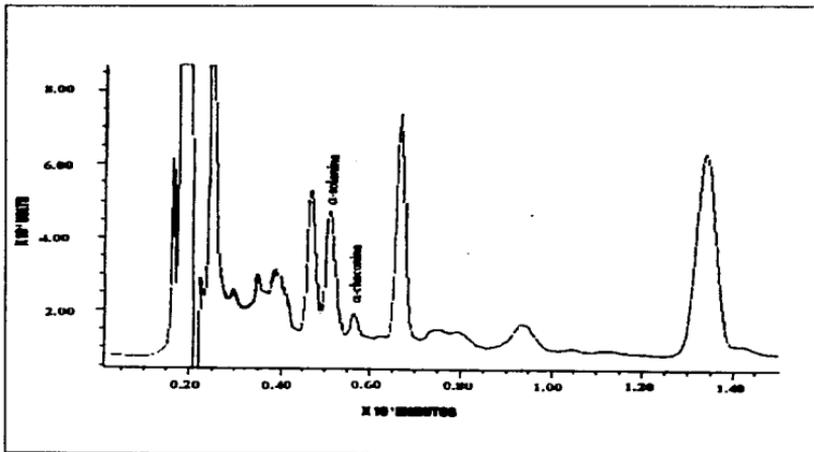
*S. cardiophyllum*, presenta  $\alpha$ -solanina,  $\alpha$ -chaconina y dos sustancias adicionales, una de mayor polaridad que la  $\alpha$ -solanina  $k_R = 2.6$  y otra de menor polaridad  $k_R = 6.6$  que la  $\alpha$ -chaconina. La primera de ellas se encuentra en mayor proporción con respecto a la  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, ver cromatograma 4.



Cromatograma 4. Tiempo de retención de las sustancias que presenta la pulpa de *S. cardiophyllum*.

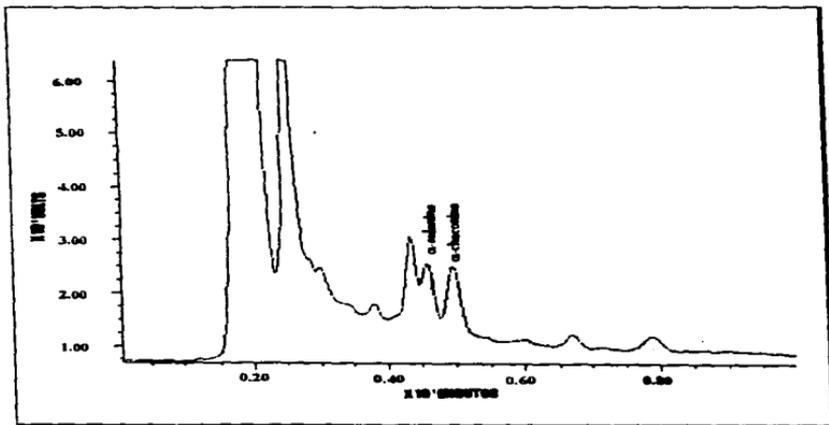
*S. polytrichon* presentan además de los tiempos de retención similares a los estándares nueve sustancias más —  $k_R = 3.0, 3.5, 4.0, 4.7, 6.7, 7.4, 7.9, 9.6, 13.3$  — como se observa en el cromatograma 5, el último pico que presenta integra para un área mayor que la  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina por lo que podría encontrarse en mayor concentración. Un estudio realizado por Peter Gregory y colaboradores<sup>96</sup> permitió establecer la frecuencia de

los alcaloides más comunes como la  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina en 16 especies silvestres de papa; dentro de éstas analizó la pulpa de *S. polytrichon* encontrando 2.5 mg de glicoalcaloides por cada gramo de muestra en peso seco, de esta cantidad el 61% corresponde a la  $\alpha$ -chaconina y el 39% a la  $\alpha$ -solanina, además de 2 sustancias adicionales que no pudo identificar. A diferencia de este estudio, se detectaron nueve sustancias adicionales que tampoco pudieron ser identificadas, pero que pueden tratarse de sustancias esteroidales, debido a la polaridad tan semejante que tienen con respecto a los alcaloides comunes encontrados en dicho género.



Cromatograma 5. Tiempo de retención de las sustancias que presenta la pulpa de con *S. polytrichon*.

*S. ehrenbergii* presenta además de los tiempos de retención similares a los estándares, cuatro picos adicionales ( $t_R = 3.8, 4.4, 6.7, 7.9$ ) lo cual indica que dos son compuestos de menor polaridad y dos de mayor polaridad con respecto a la  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, ver el cromatograma 5.



Cromatograma 6. Tiempo de retención de las sustancias que presenta la pulpa de *S. ehrenbergii*.

Los métodos que se han utilizado para la identificación de glicoalcaloides en la papa son variados; pruebas a la gota con reactivos específicos de precipitación y complejación, espectrofotométricos, por titulación, cromatografía de gases y por cromatografía de alta resolución. De éstos, en el último se han determinado las condiciones tanto en fase normal<sup>77</sup> como en fase inversa<sup>83</sup>, los cuales emplean la misma mezcla de elución (acetonitrilo, metanol

agua) pero diferentes columnas Sep-pak NH<sub>2</sub> y C-18 respectivamente. Por fase normal o inversa el CLAR es una de las técnicas más empleadas por la rapidez, reproducibilidad y más aún por su sensibilidad para cuantificarlos. La determinación de los glicoalcaloides de —  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina — puede ser empleada para el control de calidad de las papas comestibles.

## B. ENSAYO BIOLÓGICO

### Ensayo frente *Artemia salina* L.

La toxicidad de los extractos frente *Artemia salina* L. se determina por el valor de CL<sub>50</sub>, el cual se considera que entre menor sea a 1000  $\mu\text{g/ml}$ <sup>73</sup> es más tóxico. En la tabla 24, se observa que los extractos más tóxicos son los obtenidos con metanol y AcOEt de *S. polytrichon* (hojas-tallo). En la tabla 31, se muestran los extractos en orden decreciente de toxicidad para las diferentes especies analizadas de papa, dependiendo de la parte biológica y extracto "crudo".

El extracto metanólico de *S. stoloniferum* (raíz) presentó una mayor toxicidad (CL<sub>50</sub> = 130.629  $\mu\text{g/ml}$ ); produciendo la muerte de un 93% de larvas a una concentración de 1000  $\mu\text{g/ml}$ . Del estudio químico, se obtuvo un disacárido (octadecil- $\beta$ -D fructofuranosil- $\alpha$ -D-glucopiranosido), además de la identificación por ~~IR~~ (7) de  $\alpha$ -chaconina y otra sustancia de ~~IR~~ menor a ésta, la cual da prueba positiva con SbCl<sub>5</sub>. Por otro lado, el extracto MeOH resultó activo contra *Mycobacterium smegmatis*.

EXTRACTOS MAS TOXICOS ENCONTRADOS EN EL BIOENSAYO DE <i>Artemia salina</i> L.			
ESPECIE	MATERIAL VEGETAL	EXTRACTO	CL <sub>50</sub> µg/ml
<i>S. stoloniferum</i>	raiz	MeOH	130.629
<i>S. polytrichon</i>	hojas-tallo	MeOH	152.669
<i>S. michoacanum</i>	hojas-tallo	MeOH	201.393
<i>S. polytrichon</i>	hojas-tallo	AcOEt	209.517
<i>S. cardiophyllum</i>	hojas-tallo	MeOH	557.740
<i>S. polytrichon</i>	raiz	MeOH	576.860
<i>S. cardiophyllum</i>	raiz	MeOH	858.720

Tabla 31. Resultados obtenidos en el bioensayo de *Artemia salina* L. de las cuatro especies mexicanas de papa.

El extracto con acetato de etilo, de la misma especie, de la raíz no presenta toxicidad (CL<sub>50</sub> = 1174.06), pero sí actividad baja contra *Streptococcus faecalis* y actividad contra *Mycobacterium smegmatis*. Por medio de **CCF** (8, muestra 3) se identificó la presencia de 2 sustancias donde una corresponde a la  $\alpha$ -chaconina, mientras el extracto hexánico (raíz) presentó actividad baja contra *Mycobacterium smegmatis* y no muestra en **CCF** (9, muestra 3) estar constituido por glicoalcaloides, ni de otra sustancia que de prueba positiva con SbCl<sub>3</sub>. De acuerdo a los resultados antes mencionados se proponen las siguientes hipótesis:

1. En los tres extractos se encuentra una o varias sustancias que tienen actividad contra *Mycobacterium smegmatis*, donde una de ellas o varias pueden ser glicoalcaloides, el extracto hexánico no tiene compuestos de polaridad similar. Por lo tanto, es el extracto donde se encuentran las sustancias que producen una baja actividad y que estructuralmente son diferentes a los glicoalcaloides.

2. Las sustancias que producen actividad y toxicidad en el extracto metanólico probablemente puedan ser los glicoalcaloides, como la  $\alpha$ -chaconina que puede presentar sinergismo con otras sustancias.
3. El extracto con acetato de etilo tiene sustancias que son capaces de tener actividad moderada contra *Streptococcus faecalis*, con la ventaja de no producir toxicidad y que solamente se encuentran en dicho extracto

Basándose en lo anterior, los extractos con MeOH y con AcOEt de *S. stoloniferum* obtenidos de la raíz, deberán ser estudiados químicamente y sus metabolitos secundarios evaluados biológicamente, con la finalidad de poder establecer claramente el o los responsables de la actividad antimicrobiana que poseen

El extracto metanólico de *S. polytrichon* (raíz), presenta una mezcla de sustancias que incluyen a la  $\alpha$ -chaconina **CAF** (7, muestra 1), dicho extracto resultó tóxico ( $CL_{50} = 576.86 \mu\text{g/ml}$ ), esta actividad aumenta —  $CL_{50} = 152.66 \mu\text{g/ml}$  — en el extracto de la misma polaridad, pero de las partes aéreas, donde se observa la presencia de  $\alpha$ -solanina **CAF** (7, muestra 2) Cabe señalar que esta especie de papa debido a su medio ambiente — zonas muy áridas — desarrolla probablemente una gran cantidad de sustancias polihidroxiladas que le sirven como mecanismo de defensa y de retención de agua ante el medio adverso, se conoce bien que compuestos fenólicos altamente hidroxilados son demasiado tóxicos para algunos organismos, los cuales a su vez tienen notables propiedades antimicrobianas.

De *S. cardiophyllum*, los extractos metanólicos tanto de raíz como de las partes aéreas resultaron tóxicos frente *Ariemia salina* L., de éstos sólo presentó actividad antimicrobiana el extracto de la raíz frente a *Mycobacterium smegmatis* y actividad baja contra *Pseudomonas aeruginosa*. Cabe señalar que *S. cardiophyllum* es la especie de papa que presenta actividad antimicrobiana dependiente de la polaridad del extracto, sobre todo el

extracto con acetato de etilo que presenta baja toxicidad y actividad antimicrobiana contra *Bacillus subtilis* y *Sarcina lutea*. Es importante resaltar que los extractos con AcOEt — *S. cadiophyllum*, raíz — y el obtenido de hojas y tallo de *S. polytrichon*, el cual no muestra toxicidad pero sí actividad baja contra *Escherichia coli*, son los ideales para realizar un estudio químico, con la finalidad de aislar los metabolitos secundarios que puedan servir como posibles antibióticos o antisépticos.

Finalmente, los extractos de *S. michoacanum* no presentan toxicidad excepto el extracto metanólico ( $CL_{50} = 576.86 \mu\text{g/ml}$ ), que presenta hasta un 95.5% de las muertes de larvas, a una concentración de 1000  $\mu\text{g/ml}$ , este extracto presenta por ~~000~~ (7, muestra 7), la presencia de  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina. El extracto hexánico de esta especie debe presumiblemente contener una(s) sustancia(s) que tienen una actividad baja contra *Streptococcus faecalis*.

En la tabla 24, se observa que de 21 extractos analizados frente *Artemia salina* L. sólo 7 presentan toxicidad. Se debe resaltar el hecho, de que no existe ningún informe sobre estudios de toxicidad con *Artemia salina* L. de especies pertenecientes al género *Solanum*.

Los ensayos de toxicidad teratogénica en embriones de ranas<sup>98</sup>, han mostrado que la  $\alpha$ -chaconina ( $CL_{50} = 4.6 \text{ mg/L}$  en 96 h) es más tóxico que la  $\alpha$ -solanina ( $CL_{50} = 10.9 \text{ mg/L}$  en 96 h) y éstas a su vez son más tóxicas que su aglicona -solanidina-. También se han realizado estudios en ratas con  $\alpha$ -solanina,  $\alpha$ -chaconina, compuestos fenólicos — ácido caféico y ácido clorogénico — y cumarinas<sup>99</sup>. De los cuales, se ha encontrado que los glicocalcooides producen la muerte en ratas en concentraciones de 40 mg/kg de peso, mientras que los compuestos fenólicos no producen toxicidad, a menos que se empleen dosis tan altas como en el caso del ácido clorogénico -4000 mg/kg- y -1500 mg/kg- para el ácido caféico.

La toxicidad que presentan los extractos en *Artemia salina* L. puede asumirse de manera presuntiva que se debe a la presencia de los glicoalcaloides. En el caso de los extractos que no resultaron tóxicos, se puede suponer que debido a la concentración 1000 µg/ml, comparada con otros estudios resulta ser muy baja por lo que se requiere de una concentración mayor para poder producir toxicidad, además que no se identificaron alcaloides en estos extractos.

A continuación se enumeran los extractos analizados en el bioensayo, a los cuales se les realizó cromatografía en capa fina, en la ~~807~~ 7, se colocaron los extractos metanólicos, mientras en las cromatoplas 8 y 9, se muestran los extractos crudos obtenidos con acetato de etilo y hexano respectivamente.

**Mezcla de elución de las cromatoplas:** MeOH/NH<sub>4</sub>OH 200:3, 1 vez.

**Revelador:** SbCl<sub>5</sub>/CHCl<sub>3</sub>

**Muestras:**

**A.** α-solanina

**B.** solanidina

**C.** α-chaconina

1. *S. polytrichon* (raíz)

2. *S. polytrichon* (hojas y tallo)

3. *S. stoloniferum* (raíz)

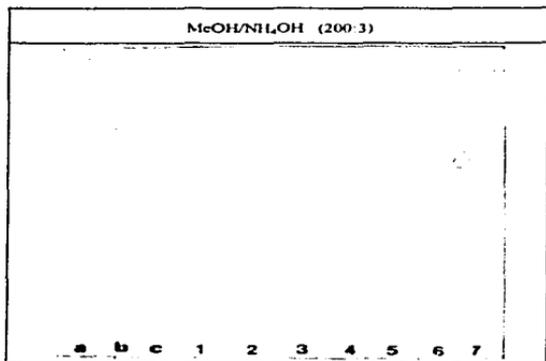
4. *S. stoloniferum* (hojas)

5. *S. cardiophyllum* (hojas)

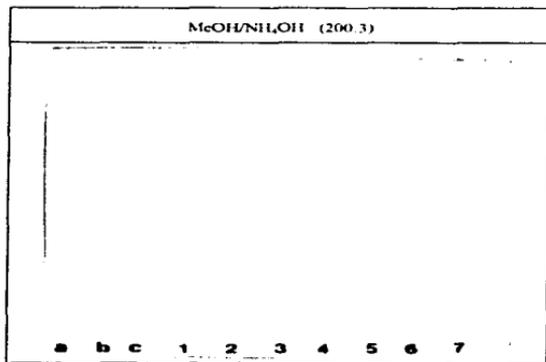
5. *S. cardiophyllum* (hojas)

6. *S. cardiophyllum* (hojas y tallo)

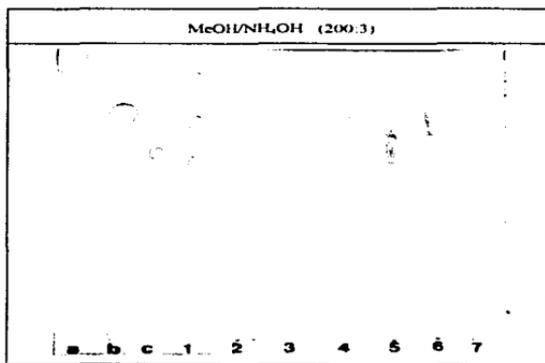
7. *S. michoacanum* (hojas y tallo)



**Cromatoplaça 7.** Cromatografía de extractos crudos metanólicos de cuatro especies de papa mexicana.



**Cromatoplaça 8.** Cromatografía de extractos crudos de acetato de etilo de cuatro especies de papa mexicana.



Cromatoplaça 9 Cromatografía de extractos crudos hexánicos de cuatro especies de papa mexicana.

#### Pruebas antimicrobianas.

En la tabla 25 se observa que los extractos con acetato de etilo, metanol y hexano de la raíz de *S. stoloniferum*, presentan actividad alta, mientras el extracto hexánico de hojas son moderadamente activos contra *Mycobacterium smegmatis*.<sup>[30]</sup> Por otro lado, los extractos con mediana y alta polaridad contra *Mycobacterium smegmatis* son los extractos de *S. cardiophyllum* obtenidos con AcOEt - partes aéreas - y MeOH -raíz -

<sup>[30]</sup> *Mycobacterium smegmatis* forma parte de la flora normal de la piel y mucosas del hombre<sup>99</sup>

El tratamiento de infecciones micobacterianas como la tuberculosis<sup>131</sup>, se ha convertido en un problema importante, debido a la resistencia que generan estos microorganismos a los fármacos y aún más por el resurgimiento de esta enfermedad en pacientes infectados con VIH que incluyen especies de *Mycobacterium — tuberculosis y avium —*. Esto ha ocasionado que se realicen numerosas investigaciones para la obtención de nuevos antibióticos, los cuales se basan en las características morfológicas que presentan las micobacterias<sup>132</sup> para combatirlas.

Actualmente, para el tratamiento de la tuberculosis se emplean dos tipos de fármacos, los de primera línea, los cuales combinan el máximo nivel de eficacia con un grado aceptable de toxicidad — Isoniacida, Rifampicina y Etambutol, ver figura 18 — y los de segunda línea que se emplean cuando los anteriores han creado resistencia, como la Amikacina y Kanamicina<sup>100</sup>.

Mitscher ha informado que la solanidina como sustancia pura presenta actividad contra *Mycobacterium smegmatis* a una concentración de 1000 µg/ml, además ha analizado otras especies de la familia *Solanacea*<sup>48</sup> (tabla 12), que muestran esta misma actividad. Este mismo autor junto con Juvarkar y Beal<sup>53</sup> informaron la actividad antimicobacteriana de dos sustancias obtenidas de *Solanum pseudocapsicum*: la solanocapsina que presenta una inhibición a una concentración de 100 µg/ml y la solacasina que presenta inhibición a una concentración de 5 µg/ml, siendo ésta la más potente posiblemente por el grupo metoxilo o el grupo imino que posee la estructura, ver figura 19.

<sup>131</sup> La tuberculosis es una infección que por inhalación de aire con partículas infectadas alcanzan vía aérea terminal. Cuando las bacterias son deglutidas por los macrofagos comienzan a multiplicarse produciendo fagocitosis y subsiguiente destrucción celular por los linfocitos, la infección se disemina a ganglios linfáticos, torrente circulatorio y otros tejidos (médula ósea, bazo y riñón)<sup>99</sup>.

<sup>132</sup> Las micobacterias son bacilos aerobios, no esporulados e inmóviles, la pared celular que las constituye son ácidos micólicos (D-arabinosa y D-galactosa) que son ácidos grasos de cadena larga con múltiples uniones cruzadas. Su superficie hidrófoba es lo que aumenta su resistencia. Dentro de los lípidos que constituyen sus paredes celulares se encuentran ceras y micósidos específicos (glucolípidos complejos y peptidoglucolípidos)<sup>99</sup>.

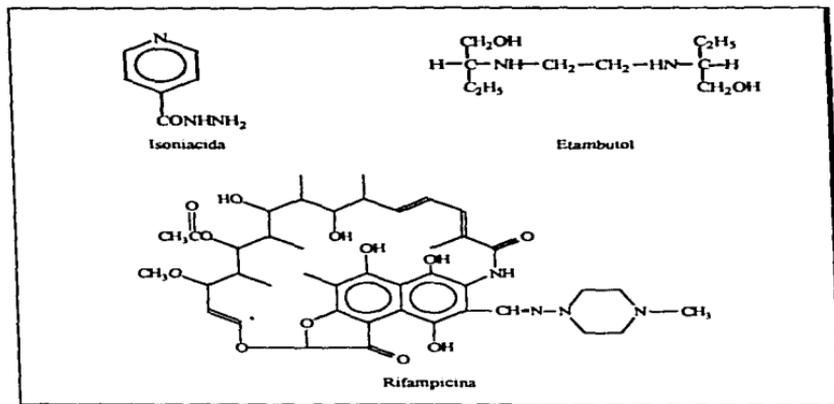


Figura 18. Estructuras de los fármacos ampliamente usados para la tuberculosis<sup>100</sup>.

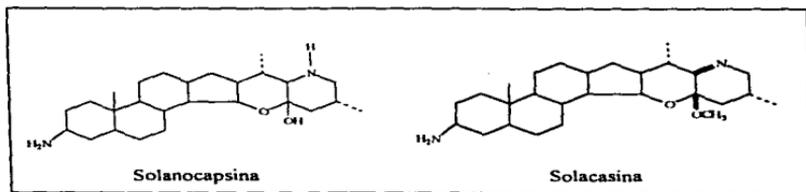


Figura 19. Estructura de la solanocapsina y solacasina obtenidas de *S. pseudocapsicum*<sup>101</sup>.

Así los extractos de papas silvestres que resultaron activos contra *Mycobacterium smegmatis* a una concentración de 1 mg/ml podrían deber su efecto inhibitorio a los glicoalcaloides ( $\alpha$ -chaconina) o a otras sustancias que tengan una estructura esteroidea. Sin embargo como se observa en la figura 18, las estructuras para combatir a las micobacterias no tienen ninguna similitud; por lo que se debe realizar el estudio químico de éstas especies y elucidar estructuralmente sus metabolitos mayoritarios, para después establecer su potencia y si éstos podrían presentar un mecanismo de acción como el que producen los fármacos actualmente empleados, ya sea porque tengan efecto sobre los lípidos de su pared celular (Isoniacida<sup>133</sup>) y Etambutol) o bien que intervenga en la biosíntesis de ácidos nucleicos (Rifampicina<sup>134</sup>) lo anterior contribuiría al estudio de nuevos antibióticos contra *Mycobacterium smegmatis* o bien para otros fines industriales o de salud.

Por otra parte, los extractos analizados de papas silvestres mostraron además tener una actividad antimicrobiana variada contra microorganismos Gram-positivos, Gram-negativos y levaduras

En la tabla 32, se muestran los extractos más activos y los microorganismos contra los que fueron activos; se sugiere sean estudiados químicamente y evaluar biológicamente las sustancias aisladas con otros microorganismos que presenten las mismas características, ya que ningún extracto mostró actividad amplia contra Gram-positivos y Gram-negativos. Sobre todo, aquellos extractos que no presentaron toxicidad, ya que para la producción de antibióticos y/o antisépticos se requiere que las sustancias sean activas pero no tóxicas.

Por otro lado, en la mayoría de los extractos se presenta una inhibición baja, la cual puede aumentar al evaluar los metabolitos secundarios puros como en el caso de la solanidina que presentó actividad de amplio espectro contra *Staphylococcus aureus*,

<sup>133</sup> La isoniácida inhibe la biosíntesis de ácidos micólicos evitando la elongación del ácido graso de cadena inhibiendo además la desaturasa que cataliza la primera reacción que es específica para el ácido micólico<sup>100</sup>.

<sup>134</sup> La rifampicina inhibe la RNA polimerasa DNA-dependiente de las micobacterias y otros microorganismos, llevando la supresión de la iniciación de la formación de la cadena en la síntesis de RNA (pero no a su elongación)<sup>102</sup>.

*Escherichia coli*, *Salmonella gallinarum*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium smegmatis* 607 B y *Candida albicans*<sup>68</sup>

EXTRACTOS QUE PRESENTARON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA					
ESPECIE	PARTE VEGETAL	EXTRACTO	MICROORGANISMO	ACTIVIDAD	TOXICIDAD CL <sub>50</sub> = µg/ml
<i>S. stoloniferum</i>	raíz	AcOEt	<i>Streptococcus faecalis</i>	±	-
<i>S. michoacanum</i>	hojas-tallo	Hex			
<i>S. cardiophyllum</i>	raíz	AcOEt	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Sarcina lutea</i>	-	-
<i>S. polytrichon</i>	raíz	MeOH	<i>Escherichia coli</i>	±	-
<i>S. stoloniferum</i>	hojas	AcOEt	<i>Pseudomonas</i>	±	858 720
<i>S. cardiophyllum</i>	raíz	MeOH	<i>aeruginosa</i>		
<i>S. cardiophyllum</i>	hojas-tallo	MeOH	<i>Candida albicans</i>	±	557.74

(+) = actividad

(±) = poca actividad

**Tabla 32.** Extractos de papas silvestres que tienen actividad antimicrobiana así como toxicidad frente *Artemia salina* L.

Por otra parte, los extractos que no poseen actividad antimicrobiana pueden ser evaluados contra otros tipos de ensayos biológicos con la finalidad de aislar sustancias activas con propiedades hemolíticas<sup>9</sup>, anestésicas<sup>22</sup> y citotóxicas<sup>68</sup>. Además se podrían evaluar los diferentes extractos frente a hongos que afectan a la plantas — *Ascochola crenulatus*, *Alternaria brassicicola* y *Phoma medicaginis*<sup>67</sup> — ya que se ha informado que los glicoalcaloides poseen actividad antifúngica contra estos microorganismos. Así mismo la papa presentan resistencia al escarabajo de la papa — *Leptinotarsa decemlineata* Say — y a la cigarrita verde — *Empoasca fabae*<sup>68</sup> — lo cual podría ser un indicio para poder determinar su potencialidad como una posible fuente de pesticidas.

## X. CONCLUSIONES

Del estudio químico diferenciado de *Solanum stoloniferum*, se lograron caracterizar e identificar  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, los cuales son los alcaloides más comunes en el género *Solanum*, y quienes tienen como estructura base la solanidina, sustancia que fue obtenida a partir de la hidrólisis ácida de dichos glicoalcaloides. De la cáscara se aisló un triacilglicerol y de la raíz sacarosa la cual fue caracterizada como octadecil- $\beta$ -D-fructopiranosil- $\alpha$ -D-glucopiranosido.

Los resultados de la evaluación biológica de los extractos metanólicos, acetato de etilo y hexánicos correspondientes a las partes aéreas y raíz de cuatro especies silvestres mexicanas de papa presentan actividad antimicrobiana variada, dentro de la que destaca la producida por *S. stoloniferum* (extracto MeOH y AcOEt de raíz así como extracto AcOEt, Hex. y MeOH de hojas) y *S. cardophyllum* (extracto MeOH de raíz) contra *Mycobacterium smegmatis*. Por otra parte, la toxicidad que presentan los extractos es independiente de la actividad antimicrobiana, por lo que el estudio de los extractos que presentan actividad antimicrobiana sin toxicidad pueden probablemente ser fuente de nuevas sustancias con actividad antimicrobiana.

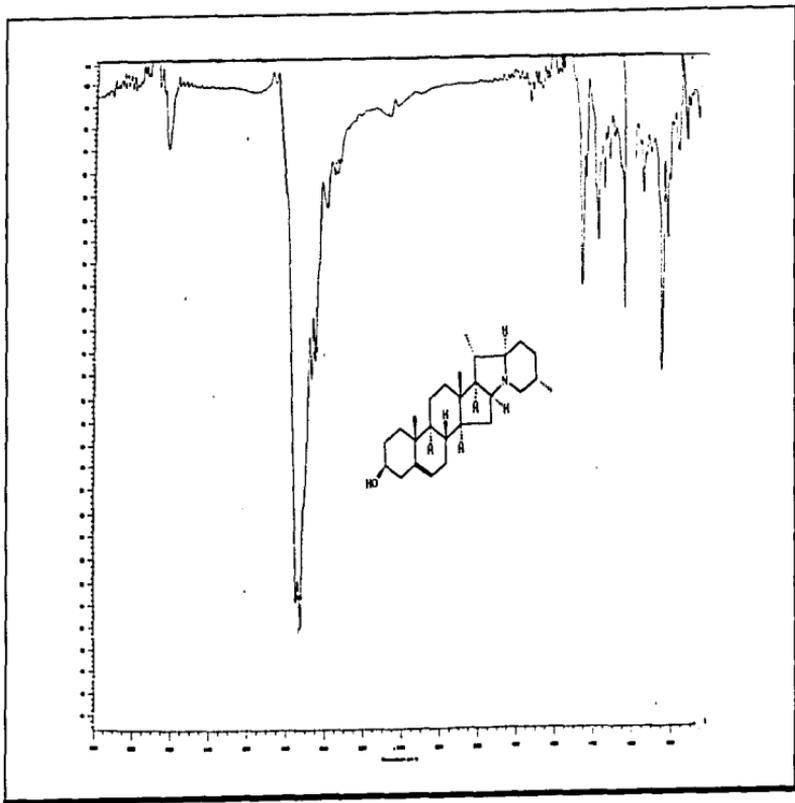
Cabe mencionar que este es el primer estudio químico y evaluación biológica realizado a *Solanum stoloniferum*; por lo tanto su importancia radica en que se identificaron sustancias tóxicas por lo que es necesario y urgente continuar con estos estudios, debido a que son fuente de alimentación para muchos grupos sociales, que habitan nuestro país y el cual se convierte como alimento indispensable en su dieta.

## XI. SUGERENCIAS

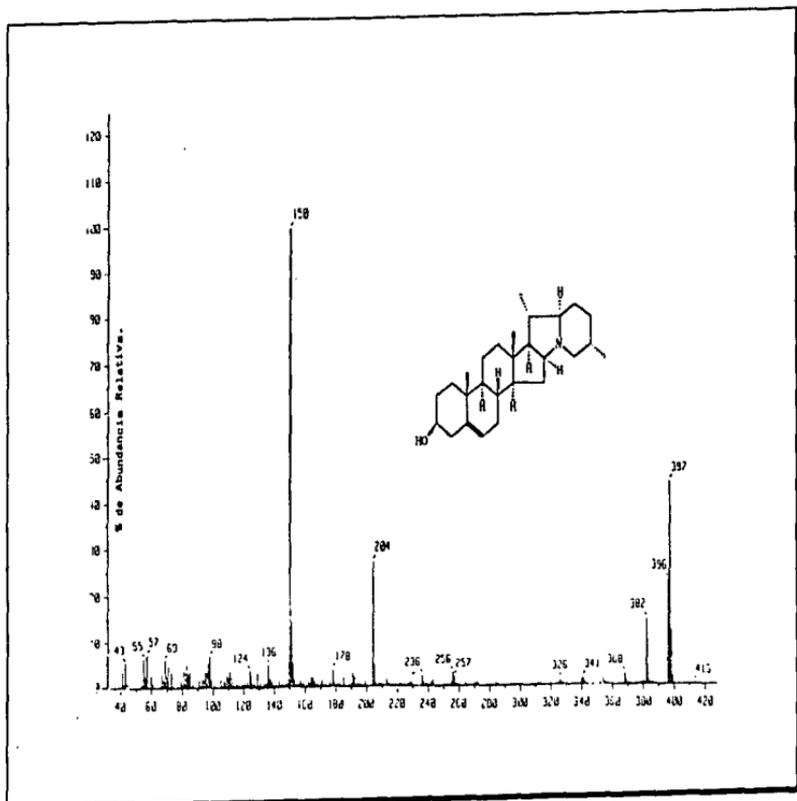
- Seguir estudiando las especies de papas silvestres mexicanas, ya que éstas presentan alcaloides como metabolitos secundarios, los cuales tienen interés farmacéutico, farmacológico, químico e industrial. Empleando mayor cantidad de material seco, ya que la purificación de éste tipo de sustancias, requiere mayor cantidad para obtener rendimientos más altos en el proceso de aislamiento y purificación de las sustancias.
- Emplear en la metodología los extractos más polares, como el MeOH ó EtOH, o bien, emplear una hidrólisis ácida del material vegetal, seguida de una alcalinización y la subsecuente extracción con n-BuOH, la cual presenta mayores rendimientos que el extracto cloroformico, además de incluir técnicas como CLAR para su aislamiento y cuantificación.
- Realizar el estudio químico biológico de aquellos extractos que presentaron actividad contra *Mycobacterium smegmatis*, con la finalidad de evaluar las sustancias puras obtenidas como posible fuente de antibióticos; así como, los extractos no tóxicos que presentaron actividad antimicrobiana.
- Evaluar también los extractos de estas especies de papa frente a hongos que afectan a las plantas como posible fuente potencial de pesticidas y herbicidas.

---

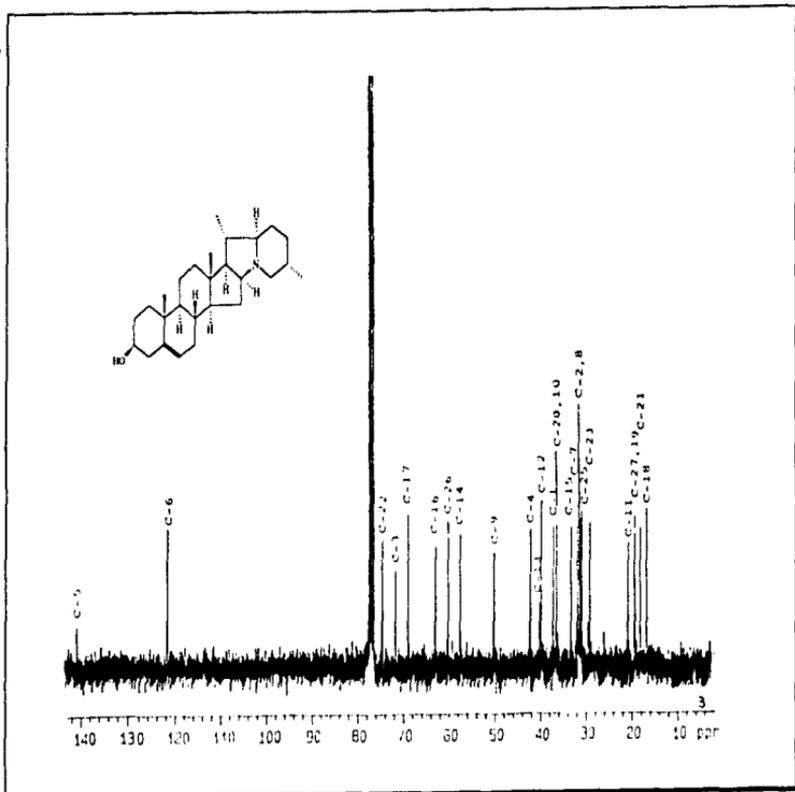
## **XII. ESPECTROS DE LAS SUSTANCIAS**



Espectro I. Espectro de IR (CHCl<sub>3</sub>) de la Solanidina (I).

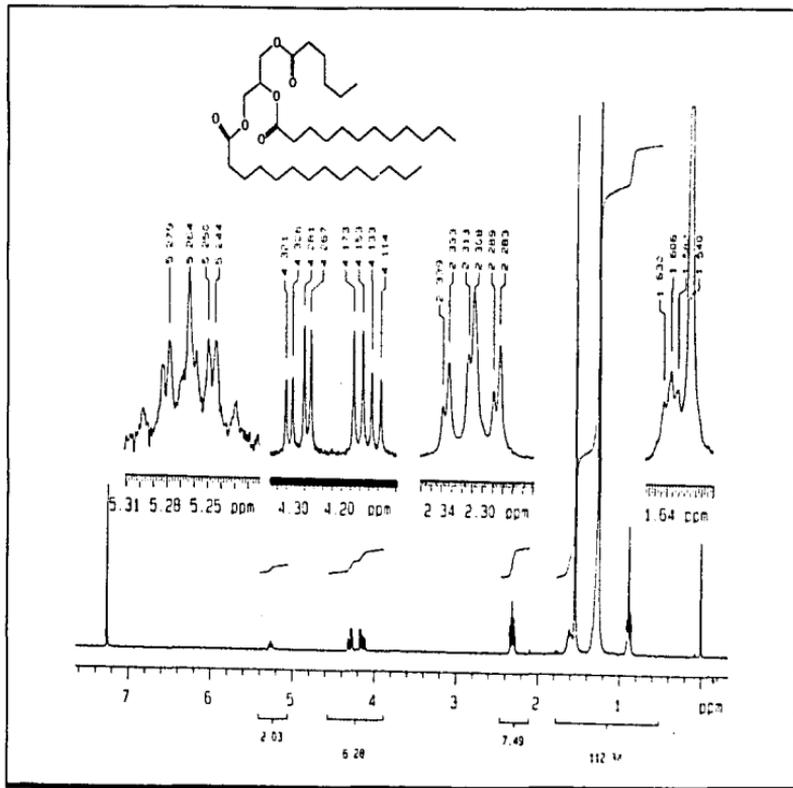


Espectro II. Espectro de EM (IE) de la Solanidina (I)

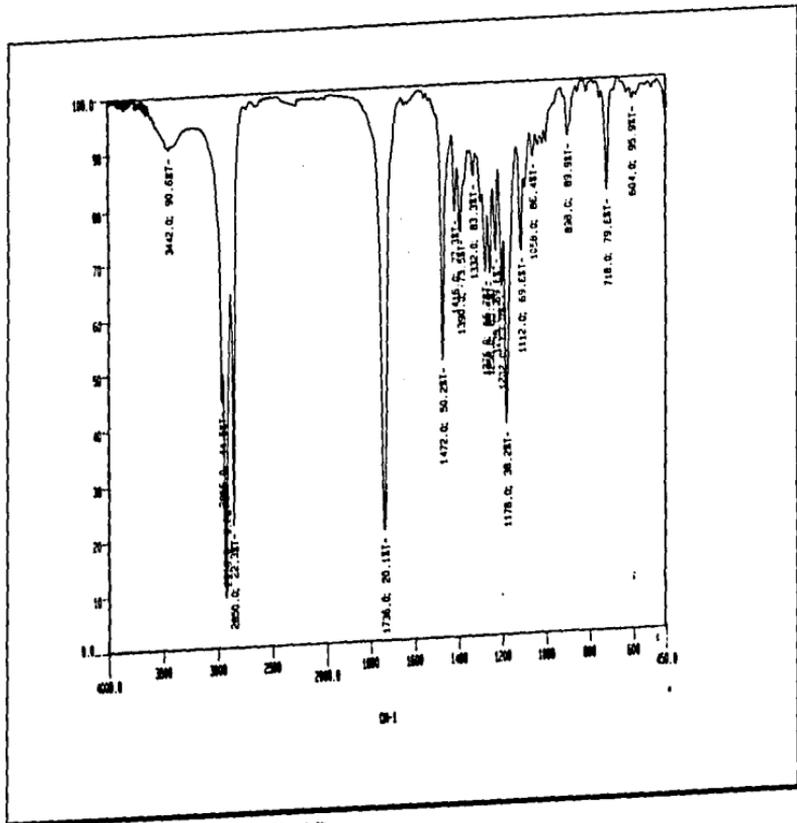


Espectro III. Espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) de la Solanidina (I)

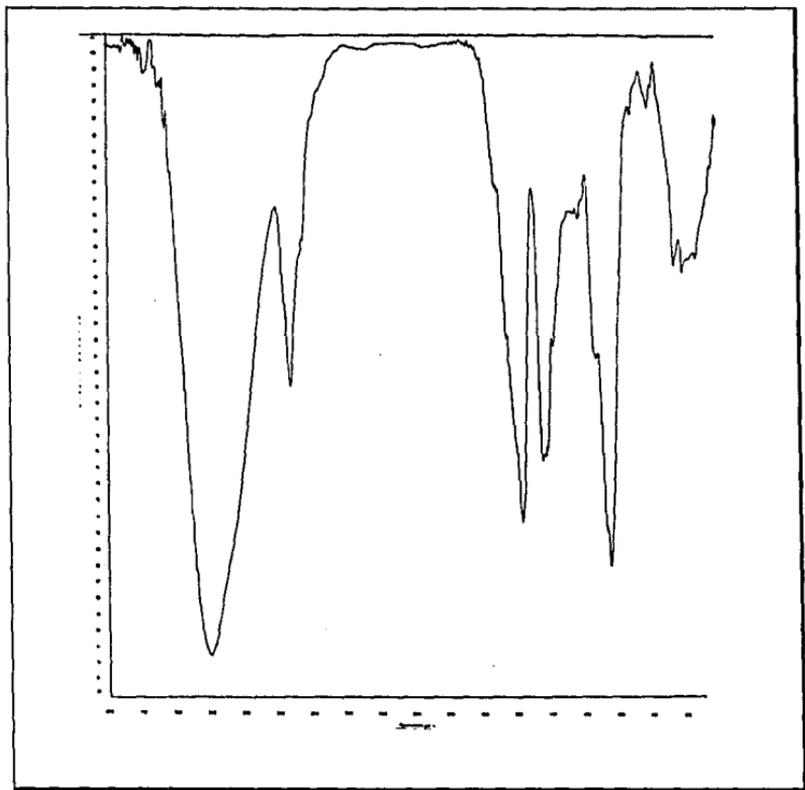




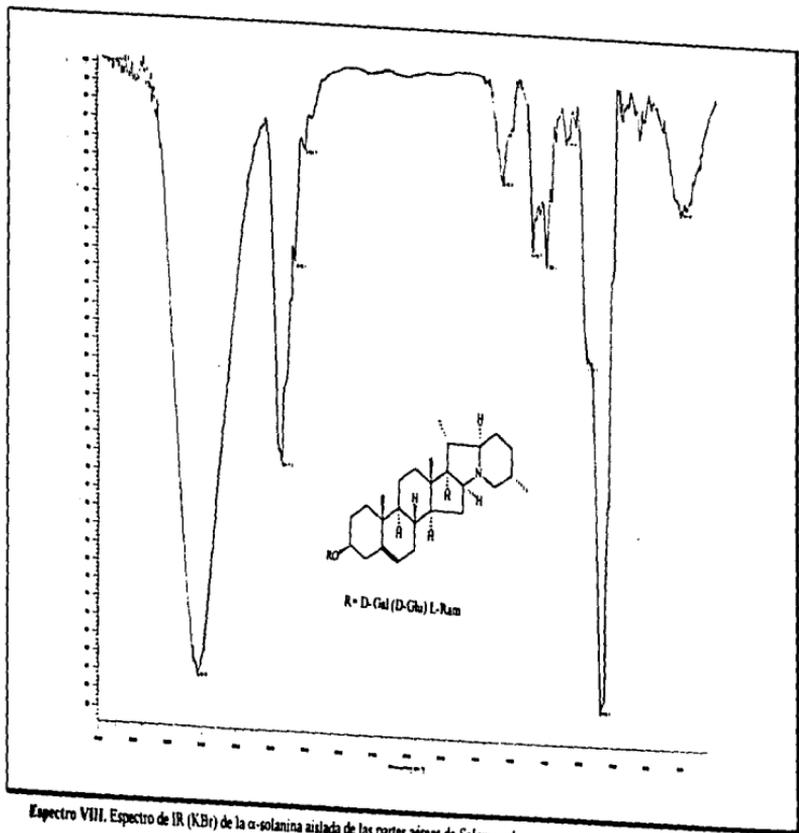
Espectro V. Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) del triacilglicerol (II).



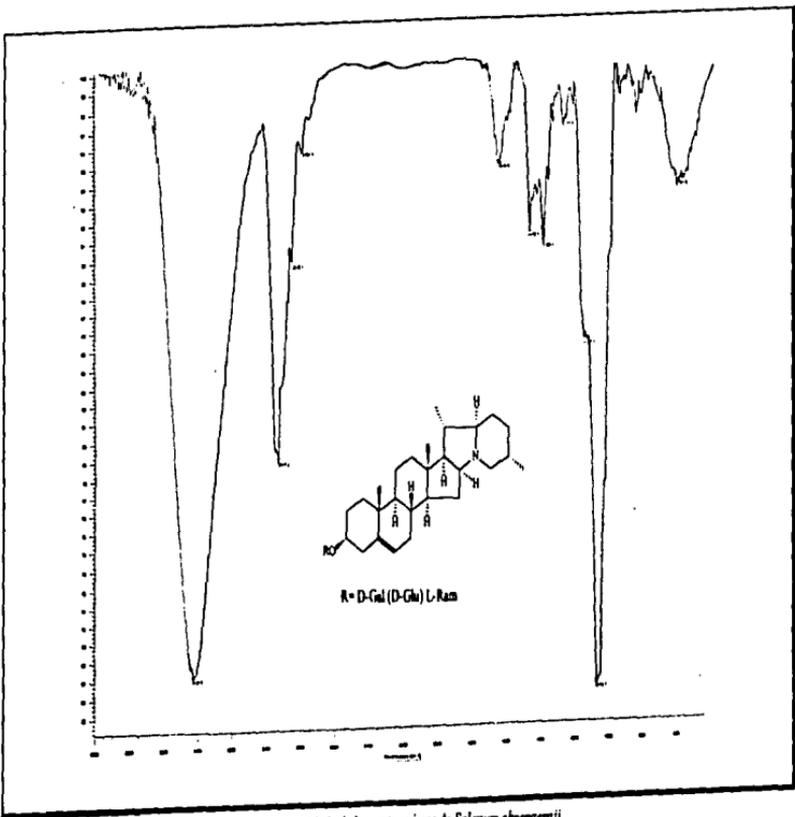
Espectro VI. Espectro de IR (CHCl<sub>3</sub>) del triacilglicerol (II).



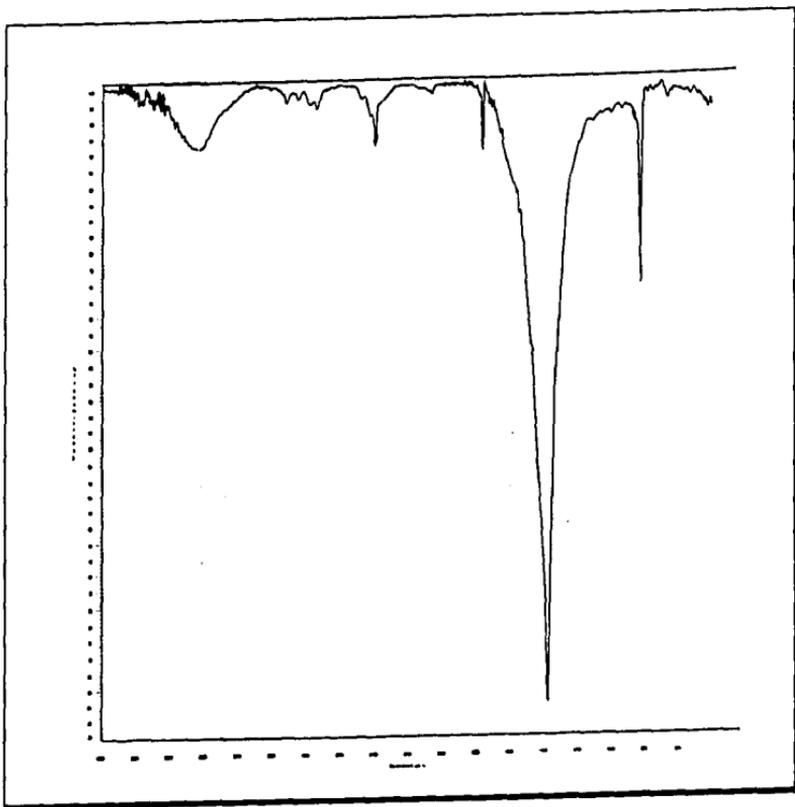
Espectro VII. Espectro de IR (KBr) del Sólido "D" aislado de la pulpa de *Solanum stoloniferum*.



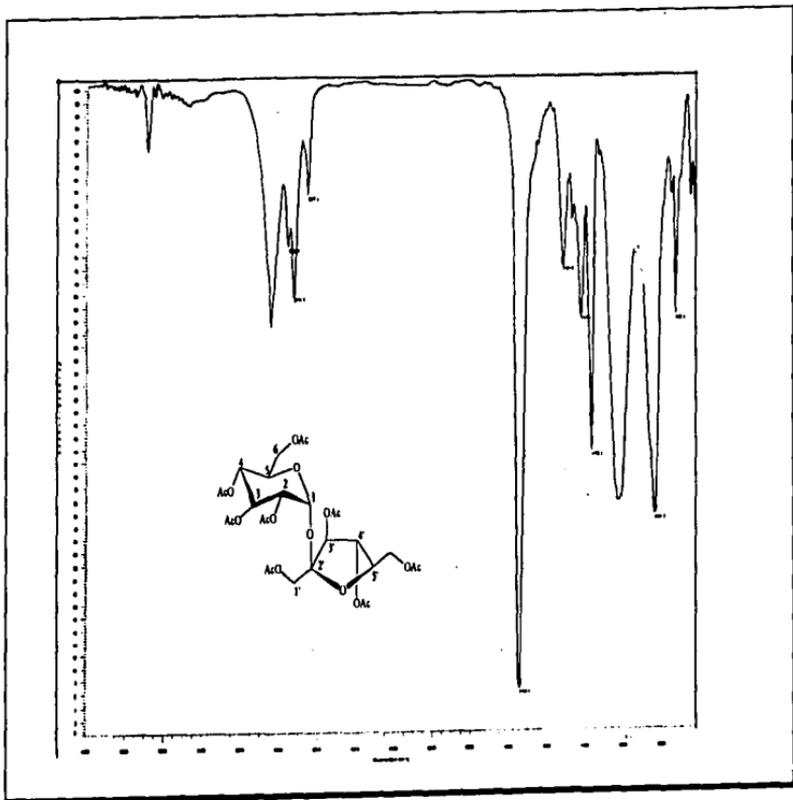
Espectro VIII. Espectro de IR (KBr) de la  $\alpha$ -solanina aislada de las partes aéreas de *Solanum chengeryi*.



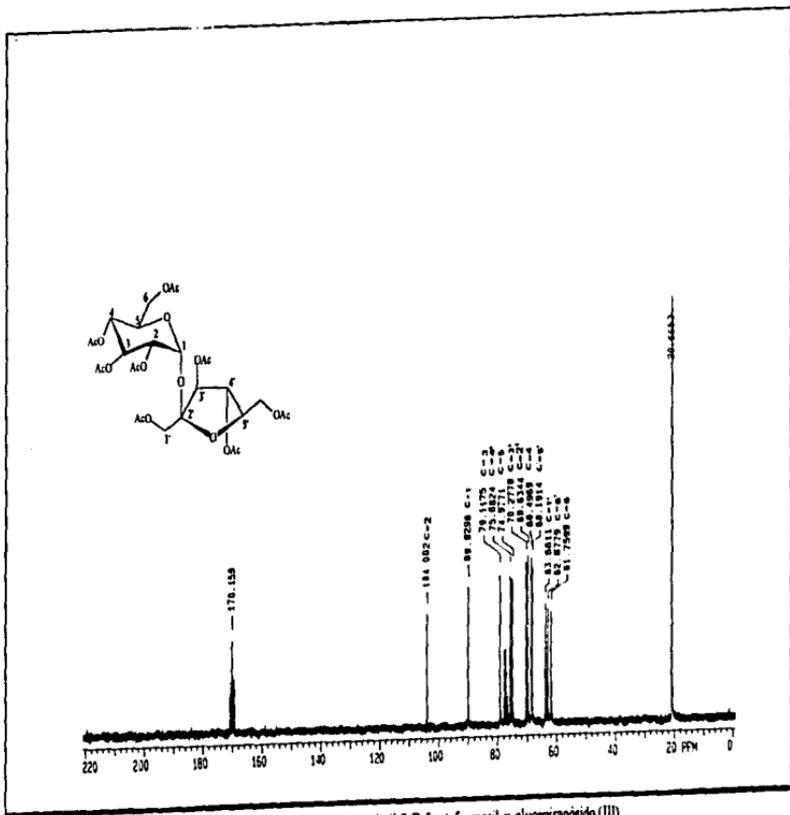
**Espectro VIII.** Espectro de IR (KBr) de la  $\alpha$ -solanina aislada de las partes aéreas de *Solanum elaeagnifolium*.



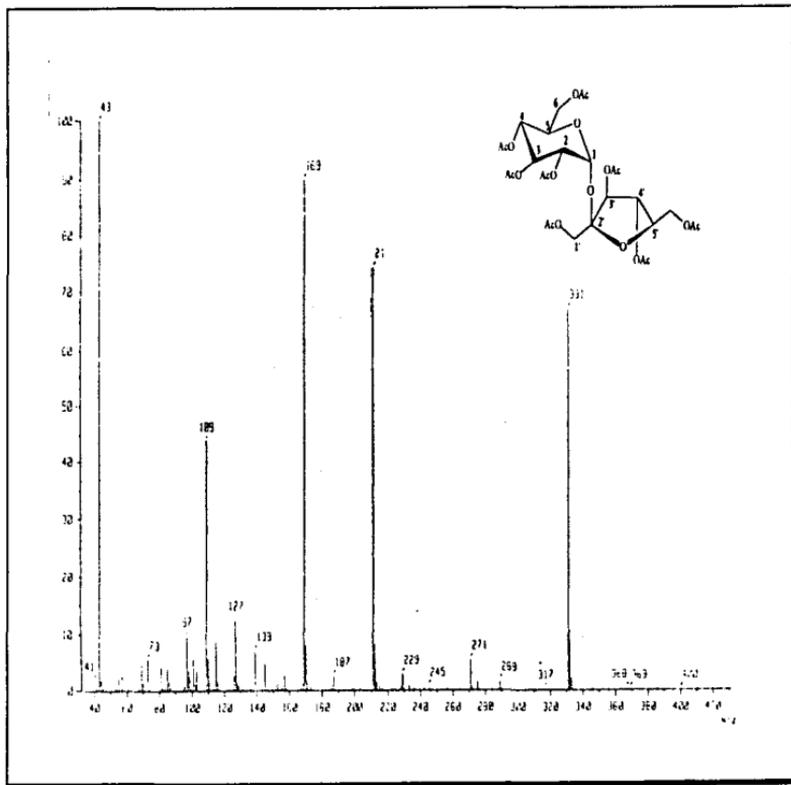
Espectro IX. Espectro de IR ( $\text{CHCl}_3$ ) de la sustancia aislada del extracto metanólico de la raíz.



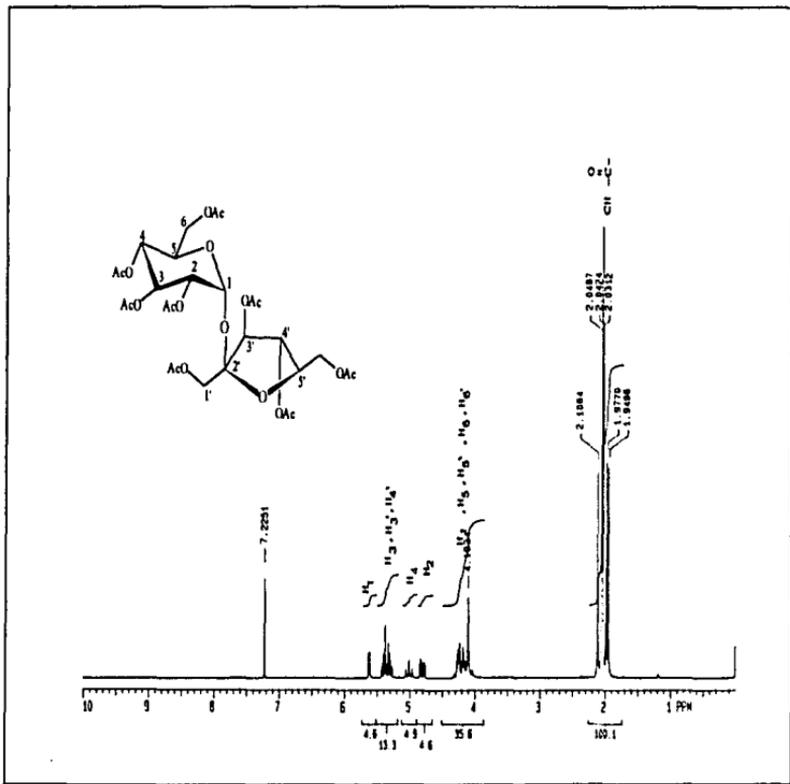
Espectro N. Espectro de IR (CHCl<sub>3</sub>) del octadecil-β-D-fructofuranosil-α-glucopiranosido (III).



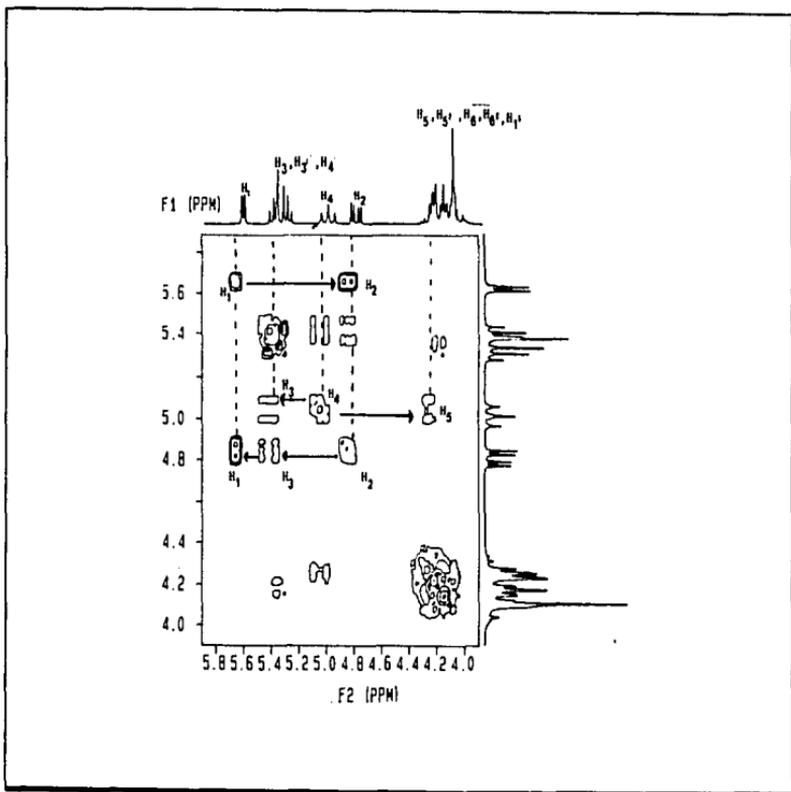
Espectro XI. Espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) del octadecil- $\beta$ -D-fructofuranosil- $\alpha$ -galactopiranosido (III)



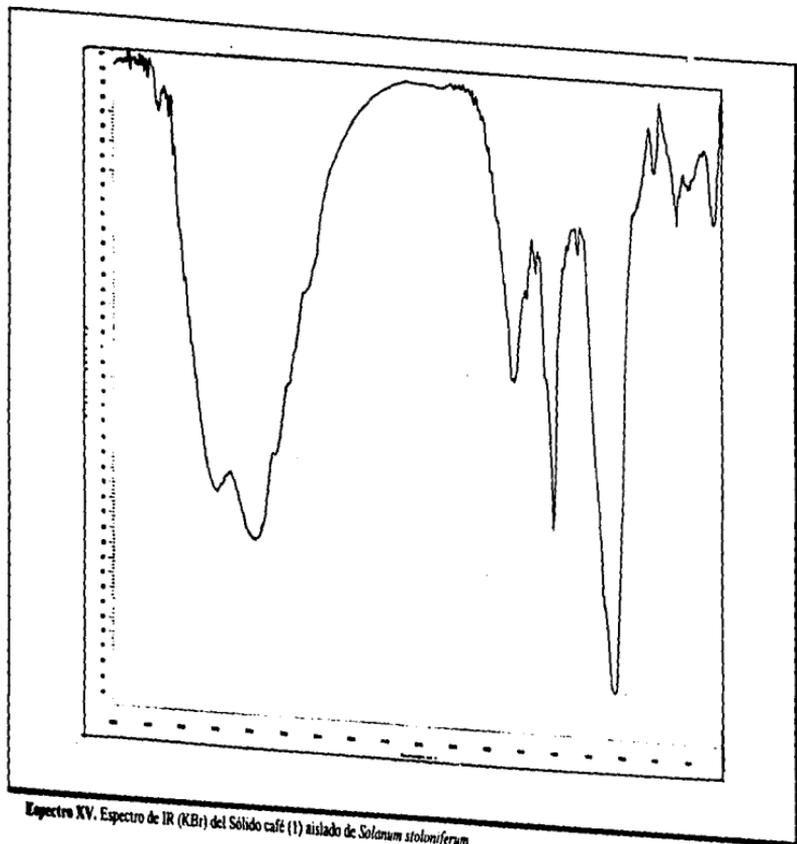
Espectro XII. Espectro de EM (IE) del octadecil-β-D-fructofuranosil-α-glucopiranosido (III)



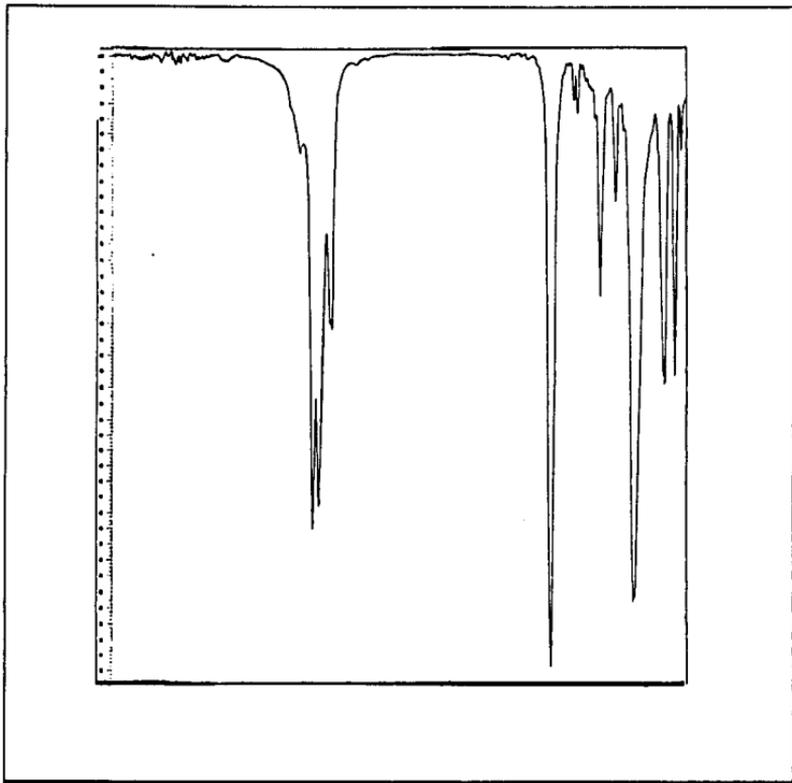
Espectro XIII. Espectro de RMN<sup>1</sup>H (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS) del octadecil-β-D-fructofuranosil-α-D-glucopiranosido (III)



**Espectro XIV.** Espectro de COSY (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS) del octadecil-β-D-fructofuranosil-α-D-glucopiranosido (III).



Espectro XV. Espectro de IR (KBr) del Sólido café (1) aislado de *Solanum stoloniferum*.



Espectro XVI. Espectro de IR (CHCl<sub>3</sub>) del Sólido café (1) metilado aislado de *Solanum stoloniferum*.

### **XIII. BIBLIOGRAFIA**

1. Macrae, R., Robinson R. and Sadler, M. (eds); *Encyclopedia of food science and nutrition*. Vol. VI. Academic Press, Londres, 3672-86 (1993).
2. Halfacre, G. y Barden, J.; *Horticultura*. Ed. AGT, México, 219-21 (1984).
3. Ceballos, A., Fernandez, J., Casas, F. y Garmendia, M.; *Plantas silvestres de la Península Ibérica*. Ed. H. Blume, España, 296-303 (1980).
4. Langer, R. y Hill, G.; *Agricultural Plants*. 2ª ed. Cambridge University Press, USA, 308-327 (1991).
5. Argueta, U., Cano, A. y Rodarte, M.; *Atlas de la medicina tradicional mexicana II*. INI, México, 114-115 (1989).
6. Helmut, M.; *Plantas, cultivos, cosechas*. Ed. Aedos, Barcelona, 298-312 (1975).
7. Luna, M.; *Estudio taxonómico de papas silvestres (Solanum L), sección petota, de terrenos cultivados del Altiplano Potosino-Zacatecano*. Maestría en Ciencias. Colegio de Posgraduados, UACH, México (1987).
8. Salunkhe, D.; *Potato: Processing, and Production*. CRC Press, USA, 10-100, 203-240 (1991).
9. Jadhav, J., Sharma, R. and Salunkhe, D.; Naturally occurring toxic alkaloids in foods. *CRC. Critical Reviews, Toxicology*, 21-104 (1981).
10. *Boletín trimestral de la FAO, de Estadísticas*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Italia (1994).
11. Coussio, D.; *Farmacognostia*. 2ª ed. Ed. Ateneo, Argentina. 198-258 (1979).
12. Bruneton, D.; *Elementos de fitoquímica y farmacognostia*. Ed. Acribia, España, 355-360, 536-548 (1991).
13. Trease, G. y Evans, W.; *Tratado de farmacognostia*. 12ª ed. Ed. Interamericana, México, 359-366 (1987).
14. Domínguez, X.; *Métodos de investigación Fitoquímica*. Ed. Limusa, México, 141-149. (1973).
15. Sangster, W.; Determination of alkaloid structures. *Journal of Chemical Education*, 37, 454-459 (1960).

16. Martello, R. and Farnsworth, R., Observations on the sensitivity of several common alkaloid precipitating reagents. *Lloydia*, 25, 176-185 (1962).
17. Farnsworth, R. and Euler, L.: An alkaloid screening procedure utilizing Thin-Layer Chromatography. *Lloydia*, 25, 186-195 (1962).
18. Geoffrey, A., *Introduction to alkaloids*. John Wiley & Sons, USA, 901-962 (1981).
19. Vera, J. y Maldonado, J.; *Efecto del nivel de ensitado de papa en la dieta sobre borregos criollos*. Tesis profesional, UACH, México (1987).
20. Macrae, R., Robinson R. and Sadler, M. (eds), *Encyclopedia of food science and nutrition*, Vol. I. Academic Press, Londres, (1993).
21. Atta-ur-Rahman *Handbook of Natural Products Data. Vol. 1. Diterpenoid and Steroidal Alkaloids*. Elsevier USA, 483-635 (1990).
22. Ripperger, H. and Himmelreich, U.; Anguivine and isoanguivine, steroidal alkaloid glycosides from *Solanum anguivi*. *Phytochemistry*, 37, 1725-27 (1994)
23. Kaneko, K., Niitsu, K., Yoshida, W. and Mitsushasi, H.; Structure of Solanoviol, a new steroidal alkaloid from *Solanum aviculare*. *Phytochemistry*, 19, 299-302 (1980).
24. Rowan, D., Macdonald, P. and Skipp, R.; Antifungal stress metabolites from *Solanum aviculare*. *Phytochemistry*, 22, 2101-04 (1983).
25. Bird, G., Collins, D., Eastwood, F., Gatehouse, B., Jozsa, A. and Swan, J.; New steroidal alkaloids from *Solanum callitum*. *Tetrahedron Letters*, 40, 3653-56 (1976).
26. Lin, C., Chung, M. and Lin, S.; Steroidal alkaloids from *Solanum capsicastrum*. *Phytochemistry*, 26, 305-307 (1987).
27. Clemo, M., Morgan, W. and Raper, R.; The occurrence of Solanidine in potato sprouts. *Journal of Chemical Society*, 1299-1300 (1936).
28. Jadhav, S. and Sharma, R.; Naturally occurring toxic alkaloids in foods. *CRC. Critical Reviews in Toxicology*, 29-40 (1981).
29. Paseshnikchenko, V. and Guseeva, A.; Quantitative determination of Potato Glycoalkaloids and their preparative separation. *Biochemistry*, 21, 606-10 (1956).
30. Kuhn, R. and Low, Y.; Neve alkaloid glycoside in den blättern von *Solanum chacoense*. *Angew. Chem*, 69, 236 (1957).

31. Sinden, S., Sanford, L. and Osman, S.; Glycoalkaloids and resistance to the Colorado Beetle in *Solanum chacoense* bitter. *American Potato Journal*, 57, 331-343 (1980).
32. Boll, P.; Alkaloidal glycosides from *Solanum dulcamara*. *Acta Chemica Scandinavica*, 16, 1819-1830 (1962).
33. Coune, C. and Denoël, A.; Etudie phytochimique des *Solanaceae* D'Afrique Centrale. *Planta Medica*, 28, 168-171 (1975).
34. Kessar, S., Gupta, Y., Singh, M. and Mahajan, R.; Synthetic studies in steroidal sapogenins and alkaloids X: Syntheses of Tomatid-5-ene-3 $\beta$ -ol and Solasodine. *Tetrahedron*, 27, 2869-2875 (1971).
35. Osman, S., Herb, S., Fitzpatrick, T. and Sinden, S.; Commersonine, a new glycoalkaloid from two *Solanum* species. *Phytochemistry*, 15, 1065-67 (1976).
36. Sato, Y., Kaneko, H., Bianchi, E. and Kataoka, H.; Alkaloids from *Solanum congestiflorum*. *Journal of Organic Chemistry*, 34, 1577-1582 (1969).
37. Ripperger, H., Sych, F. and Schreiber, K.; *Solanum* alkaloide . Synthese von solafloridin und 25. Isosolafloridin. *Tetrahedron*, 28, 1619-1627 (1972).
38. Schreiber, K. and Aurich, O.; Isolierung von nebenalkaloiden und 3- $\beta$ -hydroxy-5- $\alpha$ -preg-16-en-20-on aus lycopersicon pimpinellifolium Mill. *Phytochemistry*, 5, 707-12 (1966).
39. Zaitschek, D. and Segal, R.; The solasodine content of *Solanum incaum*. *Lloydia*, 35, 192 (1972).
40. Schreiber, K., Walther, A. and Rönsch, H.; *Solanum* alkaloide- XLVI. Synthese von Solasodin. *Tetrahedron*, 20, 1343-45 (1964).
41. Bird, G., Collins, D., Eastwood, F. and Swan, J.; Soladunalinidine, a new dibasic analogue of tomatine extracted from *Solanum dunalianum*. *Aust. Journal. Chemical*, 32, 611-17 (1979).
42. Usubillaga, A., Seelkopf, C., Karle, I., Daly, J. and Witkop, B.; The structure of solaphyllidine a novel 4-ketosteroidal alkaloid. *Journal of American Chemical Society*, 92, 700-02 (1970).
43. Usubillaga, A., Paredes, A., Martinod, P. and Hidalgo, J.; Alkaloids of *Solanum ecuadorensis*. *Planta Medica*, 23, 286-289 (1973).

44. Chakravarty, A., Das, B., Ali, E. and Pakrashi, S.; Studies on Indian medicinal plants part 77. Structures and stereochemistry of some new steroidal alkaloids from *Solanum pseudocapsicum* and *Solanum xiganteum* by Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy. *Journal Chemical Society, Perkin Transactions*, **1**, 467-479 (1984).
45. Adam, G., Houng, H., Lischewski, M. and Khoi, N.; A new steroidal alkaloid from *Solanum humanense*. *Phytochemistry*, **17**, 1070-71 (1978).
46. Harrison, D.; Steroidal alkaloids. *Natural Products Reports*, **3**, 443-49 (1986).
47. Usubillaga, A.; Estructura de la Solamaladina, un nuevo alcaloide de *Solanum hypomalacophyllum* Bitter. *Revista Latinoamericana de Química*, **4**, 32-34 (1973).
48. Mahato, S., Sahu, P., Ganguly, A., Kasai, R. and Tanaka, O.; Steroidal alkaloids from *Solanum khasianum*: Application of  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy to their structural elucidation. *Austrian Journal Chemical* **31**, 432-456 (1978).
49. Kusano, G., Beisler, J. and Sato, Y.; Steroidal constituents of *Solanum xanthocarpum*. *Phytochemistry*, **12**, 397-401 (1973).
50. Urzúa, A. and Cassels, B.; *Solanaceae*. Solasodin glycosides and diosgenin from *Solanum pinnatum*. *Phytochemistry*, **11**, 3548-49 (1972).
51. Puri, R. and Bhatnagar, J.; Glycoalkaloids of *Solanum platentifolium*. *Phytochemistry*, **14**, 2096 (195).
52. Barger, G. and Fraenkel-Conrat, H.; Alkaloids from *Solanum pseudocapsicum* L. *Journal Chemical Society*, 1537-42 (1936).
53. Mitscher, L., Juvarkar, J. and Beal, J.; Solacasine, a new steroidal alkaloid from *Solanum pseudocapsicum* possessing antimicrobial activity. *Experientia*, **32**, 415-16 (1976).
54. Usubillaga, A., De Castellano, G., Hidalgo, J., Guevara, C., Marttinod, P. and Paredes, A.; Solaquidina, a new steroidal alkaloid from *Solanum pseudoquina*. *Phytochemistry*, **16**, 1861-62 (1977).
55. Krishna-Kumari, G., Jagan, R., Raja, K., Pakrasa, N., Kaneko, K. and Mitsushasi, H.; Solanopubamides A and B, two further steroidal alkaloids from *Solanum pubescens*. *Phytochemistry*, **25**, 803-04 (1986).
56. Ripperger, H. and Porzel, A.; N-hidroxisolasodine from *Solanum robustum*. *Phytochemistry*, **31**, 1837-39 (1992).

57. Ali, E., Chakravarty, A., Dhar, T. and Pakrashi, S.: Solaseaforthine and isosolaseaforthine, two novel 3-amino-20-pyridil pregnanes from *Solanum seaforthianum* *Tetrahedron Letters*, 40, 3871-74 (1978)
58. Yamashita, T., Fujimura, N., T., Kawanobu, S. and Fujieda, K.: Structures of three new steroidal alkaloid glycosides, solaverines I, II, and III, from *Solanum verbascifolium*. *Chemical Pharmaceutical* 38, 827-29 (1990)
59. Fitzpatrick, T. and Osman, S., A comprehensive method for the determination of total potato glycoalkaloids *American Potato Journal*, 51, 318-23 (1974).
60. Fitzpatrick, T., Mackenzie, D. and Gregory P., Modifications of the method for total Glycoalkaloid determination *American Potato Journal*, 55, 247-48 (1978)
61. Gregory, P. and Stephen, L.; Glycoalkaloids of wild, tuber-bearing *Solanum* species. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 29, 1212-15 (1981)
62. Bushway, R., Wilson, A. and Bushway, A., Determination of total glycoalkaloids in potato tubers using a modified titration method *American Potato Journal*, 57, 561-65 (1980).
63. Sharma, R., Willihite, C., Shupe, J. and Salunkhe, D.: Acute toxicity and histopathological effects of certain glycoalkaloids and extracts of *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans* in mice. *Toxicology Letters*, 3, 349-55 (1979)
64. Pekrousky, A., Action of sprouting potatoes on cholinesterase *Biochimica*, 1, 705-09 (1956).
65. Slanina, P., Solanine (Glycoalkaloids) in potatoes. toxicological evaluation *Food Chemical Toxicology*, 28 (11) 759-61 (1990).
66. Alison, M. and Roddick, J., Interactive antifungal activity of the glycoalkaloids  $\alpha$ -solanine and  $\alpha$ -chaconine. *Phytochemistry*, 33, 323-28 (1993).
67. Tingey, W.; Glycoalkaloids as pest-resistance factors. *American Potato Journal*, 61, 157-67 (1984).
68. Mitscher, L., Leu, R., Bathala, M., Wu, W. and Beal, J.; Antimicrobial agents from higher plants. I. Introduction, rationale, and methodology. *Lloydia*, 35, 157-63 (1972).
69. Gupta, M., Correa, M., Soto, A. y González, M.; Determinación cuantitativa de solasodina en especies panameñas del género *Solanum*. *Revista Latinoamericana de Química*, 11, 133-34 (1980).

70. Sinden L., Sanford, L. and Webb, L.; Genetic and environmental control of potatoe glycoalcaloids. *American Potato Journal*, **61**, 141-55 (1984).
71. McLaughlin, J.; Crown gall tumors on potato disc and Brine Shrimp lethaly: Two simple bioassay for higer plant screening and fractionation. *Methods in plant Biochemistry. Volume 6. Assay for bioactivity*. Academic Press Limited, USA, 1-30 (1991).
72. Hoslettmann, K., Marston, A. and Wolfender, J. Strategy in the search for new biologically active plant constituents. In phytochemistry on plants used in traditional medicine. Oxford University Press, USA, 22-26 (1995).
73. Meyer, B., Ferrigni, N., Putman, J., Jacobsen, L., Nichols, D. and McLaughlin, J.; Brine Shrimp: A concenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, **45**, 31-34 (1982).
74. Barahona, M., Cano, M. and Sánchez-Fortún, S.; Toxicidad de cuatro solventes orgánicos sobre tres estadios de desarrollo larvario de *Artemia salina*. *Revista de Toxicología*, **11**, 92-95 (1994).
75. Flores, G.; Sinergismo de la actividad larvicida de a-sanshool sobre *Culex quinquefasciatus* y *Artemia salina* compuestos metilendioxifenilos. Tesis Químico Farmacéutico Biologo. FES, Zaragoza, UNAM, México (1995).
76. Vanden, D. and Vlietinck, A., Screening methods for antibacterial and antiviral agent from higher plants. *Methods in Plant Biochemistry. Volume 6. Assay for bioactivity*. Academic Press Limited, USA, 47-67 (1991).
77. Paulini, H. Waibel, R., Kerfer, D. and Shimmer, O.; Gravacridondiolacetato a new dihidrofuroacridone alkaloids from *Ruta graveolens*. *Planta Medica*, **57**, 82 (1991).
78. Martínez, M.; *Las plantas medicinales de México*. 6° ed. Ed. Botas, México. 77-79, 282-83 (1992).
79. Fitzpatrick, T. And Osman, S.; A comprehensive method for the determination of total potato glicoalkaloids. *American Potato Journal*, **51**, 318-23 (1994).
80. Feigl, F.; Pruebas a la gota en análisis orgánico. Ed. El manual moderno, México. 131, 138-140, 195-198 (1978)
81. Pomilio, A. y Vitale, A.; Métodos experimentales de laboratorio en química orgánica. Secretaria General de la O.E.A., USA, (1988).
82. Finney, D.; *Statistical method in biological assay*. Third edición. McMillan Pub. Co., USA, 349-403 (1978).

83. Dan, L. and Friedman, M.; Comparison of glycoalkaloid content of fresh and freeze-dried potato leaves determined by HPLC and Colorimetry. *Journal Agric. Food Chemical*, **44**, 2287-91 (1996).
84. Jork, H., Funk, W., Fisher, W. and Wimmer, H.; *Thin Layer Chromatography. Reagents and detection methods*. Vol. 1. VCH, USA, 206-209 (1990).
85. Budzikiewicz, H.; Zum massenspektroskopischen fragmentierungsverhalten von steroidal kaloiden. *Tetrahedron*, **20**, 2267-78 (1964).
86. Kaneko, K., Tanaka, M., Nakaoka, U. and Tanaka, Y.; Camtschatcanidine, an alkaloid from *Fritillaria camtschatcensis*. *Phytochemistry*, **20**, 327-29 (1981).
87. Chakravarty, A. and Pakrashi, S.; 7- $\beta$ -Hidroxy-o-methylsolanocapsine, a new 3-amino steroidal alkaloid from *Solanum capsicastrum*. *Phytochemistry*, **27** (3), 956-958 (1988).
88. Cruz, C.; *Aislamiento y caracterización de los constituyentes mayoritarios presentes en las semillas de ciertas plantas arvenses*. Tesis de licenciatura, Facultad de Química UNAM (1996).
89. Hernández, V.; *Estudio fitoquímico preliminar de Solanum ehrenbergii, una especie silvestre de papa mexicana*. Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM (1997).
90. Silverstein, M., Clayton B. a Morrill, T.; *Spectrometric identification of organic compounds*. Fifth edition. John Wiley & Sons, INC. USA, 263-65 (1991).
91. Castro, N.; *Aislamiento y determinación de la estructura molecular de los constituyentes químicos mayoritarios presentes en Lopeza racemosa (Onagraceae)*. Tesis de licenciatura, Facultad de Química UNAM (1995).
92. Calderón, J. y Stud, M.; *Espectrometría de masas*. Ed Alhambra, España (1973).
93. Fukuyama, Y., Sato, M., Asakawa, Y. and Takemoto, T.; Hydropiperoside, a novel coumaryl glycoside from the root of *Polygonum hydropiper*. *Phytochemistry*, **22**, 549 (1983).
94. Molgaard, P. and Ravn, H.; Evolutionary aspect of cafeoyl ester distribution in Dicotyledons. *Phytochemistry*, **27**, 2411-21 (1988).
95. Chaube, S. and Swinyard, C.; Teratological and Toxicological studies of alkaloidal and phenolic compounds from *Solanum tuberosum* L. *Toxicology and applied pharmacology*, **36**, 227-237 (1976).

96. Sinden, S., Osman, S., Tingey, W., Chessin, D. and Gregory, P.; Glycoalkaloids of wild, tuber-bearing *Solanum* species. *Journal Agr. Food Chemical*, 29, 1212-15 (1981).
97. Saito, K., Harie, M., Hoshino, Y. and Nose, N.; High-performance liquid chromatographic determination of glycoalkaloids in potato products. *Journal of Chromatography* 508, 141-47 (1990).
98. Friedman, M., Rayburn, J. and Bantle, J.; Developmental toxicology of potato alkaloids in the frog embryo teratogenesis assay-Xenopus (Fetax). *Journal Chemical Toxicology*, 29 (8), 537-47 (1991).
99. Finegold, S. y Baron, E. Diagnóstico microbiológico. 7ª ed. Ed. Panamericana, Buenos Aires, 540-44 (1996).
100. Goodman, G., Rall, T., Nies, A. y Taylor, P.; Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8ª ed. Ed. Panamericana, México, 1110-16 (1994).