

## INTRODUCCIÓN

Desde la constitución de la sociedad humana hace diez mil millones de años, el ser humano utiliza especies vegetales como medio nutricional y medicinal, siendo los vegetales terrestres o acuáticos elementos básicos en las cadenas tróficas de la vida. El ochenta por ciento (80%) de la humanidad depende de remedios caseros y herbarios que han sido base farmacológica de medicamentos universales, y de otros tratamientos tradicionales como la acupuntura y la homeopatía para curar sus dolencias y patologías.<sup>1</sup>

El ministerio del Medio Ambiente expresa que Colombia supera las seis mil especies vegetales que contienen características medicinales.<sup>2</sup> Por ser Colombia rica en estas especies, consideramos esencial realizar el estudio de la *Solanum stellatiglandulosum Bitter*, reconocida por sus propiedades medicinales en la ciudad de Armenia, departamento del Quindío, república de Colombia, zona Norecuatorial del planeta tierra.

En el presente trabajo se elaboró una extracción del material vegetal mencionado para detectar la presencia de diferentes tipos de metabolitos secundarios.

---

<sup>1</sup>Recomendaciones de la O.M.S para gobiernos y consumidores acerca del uso de tratamientos tradicionales. Revista Panamericana de Salud Pública. Vol. 16. Número 3. Septiembre 2004.p. 218

<sup>2</sup><http://www.companias.bibliomed.com/lib/ShowDoc.cfm>

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A lo largo de su historia la humanidad ha enfrentado las más diversas patologías. La época moderna se caracteriza por el déficit de recursos alimentarios y sanitarios que incrementa las enfermedades y lesiona peligrosamente los sistemas inmunológicos de la sociedad. Por tal motivo el hombre fija su atención en los recursos naturales, pues intuye y sabe que la naturaleza guarda la solución a casi todas sus necesidades.

En los departamentos del Quindío y del Tolima existen especies vegetales que no han sido estudiadas química y farmacológicamente, como es el caso de la especie *Solanum stellatiglandulosum Bitter*, desaprovechándose sus virtudes y potenciales a favor de la subsistencia humana y de la vida misma. Es nuestro sentir contribuir al ennoblecimiento y sanidad del mundo, razón por la que académicamente y como trabajo de grado, proponemos el estudio preliminar de esta especie.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVOS GENERALES**

- Cualificar la presencia de metabolitos secundarios presentes en las hojas y frutos de la especie *Solanum stellatiglandulosum Bitter*.
- Realizar la evaluación preliminar de la actividad biológica frente a *Artemia salina* Leach, empleando el método estadístico gráfico de Probit.
- Fraccionamiento del extracto etanólico de los frutos para la obtención de la saponina y las sapogeninas.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinación cualitativa de metabolitos secundarios mediante una marcha fitoquímica preliminar.
- Determinación del CL50 en *Artemia salina* Leach de los extractos vegetales.
- Fraccionamiento por cromatografía de columna y seguimiento por TLC del extracto etanólico de los frutos para la obtención de la saponina y sapogeninas.

## JUSTIFICACIÓN

Desde la antigüedad la humanidad se empeña en dignificar y mejorar su calidad de vida. Para ello se ha relacionado y ha profundizado en su entorno. En la actualidad esa relación ha sido más justamente valorada pues de ella depende el bienestar de la humanidad y el futuro de la vida.

Colombia es uno de los países más rico en biodiversidad a nivel mundial; la flora es la primera gran riqueza ya que Colombia posee entre 45000 y 55000 especies de plantas, de las cuales aproximadamente la tercera parte son endémicas.<sup>3</sup> Estas especies vegetales ofrecen múltiples beneficios a la industria, la nutrición y la salud. La ciencia y la tecnología pueden ayudar a descubrir y utilizar las propiedades terapéuticas de nuestra rica vegetación de forma más efectiva y directa, razón por la que queremos realizar un estudio fitoquímico preliminar del follaje y frutos de la especie *Solanum stellatiglandulosum Bitter*, reconocida por sus propiedades curativas en el municipio de Armenia, y de este aporte sentar precedentes para que en el futuro se continúe su estudio e investigación y lograr un óptimo aprovechamiento de la *Solanum stellatiglandulosum Bitter*.

---

<sup>3</sup><http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/IDEA/2007225/lecciones/capitulo1/04-queesentiende.htm>

# 1. MARCO TEÓRICO

## 1.1 FAMILIA *SOLANACEAE*

Esta familia está conformada por alrededor de 90 géneros con aproximadamente 2800 especies las que son posibles de encontrar en todas partes del mundo a excepción de los polos.<sup>4</sup>

La familia Solanaceae tiene una importancia económica preponderante, ya que incluye una serie de especies que producen alimentos, como el tomate (*Lycopersicon esculentum*), el pimiento (*Capsicum annum*), y la patata (*Solanum tuberosum*). Otras especies con cierta importancia se cultivan con fines ornamentales, como la petunia, representada por diversas variedades del género *Petunia*, mientras que otras son utilizadas en la industria farmacéutica por su contenido en alcaloides: hiosciamina, escopolamina, y belladonina. Tales alcaloides se encuentran en las raíces, en los tallos, hojas, frutos y semillas; aunque su distribución no es la misma.<sup>5</sup>

---

<sup>4</sup><http://agrarias.vach.cl/webpapa/botanica.html>

<sup>5</sup>DR. P. FONT, Quer. Plantas medicinales. El Dioscórides Renovado. Editorial Labor, S.A. 10ª Edición.1987.p.562

### **1.1.1 Género Solanum**

Es el más importante de esta familia, abarca alrededor de 1700 especies de plantas herbáceas o arbustivas con las hojas esparcidas, aunque a menudo acopladas lateralmente.

Se caracterizan por sus flores de hechura regular o casi regular, con el cáliz y la corola de una sola pieza dividida en cinco gajos, lóbulos o dientes, y, casi siempre, también con cinco estambres a veces de longitud desigual. El fruto es una cápsula o una baya dividida en dos compartimientos, y con frecuencia, cada uno de ellos, se subdivide en otros dos. Las flores se agrupan en ramilletes semejantes a umbelas o nacen aisladas de una en una, pero comúnmente, tanto las flores como los ramilletes, nacen fuera de las axilas de las hojas.<sup>6</sup>

**1.1.2 Nombre científico:** *Solanum stellatiglandulosum* Bitter.

**1.1.3 Sinónimo:** *Solanum ochraceo-ferrugineum*.

**1.1.4 Nombres comunes:** Frutillo (Colombia); Friega Plato (Países suramericanos).<sup>7</sup>

---

<sup>6</sup>DR. P FONT, Op. cit. p.562

<sup>7</sup>GENTRY, Alwyn H. A Field Guide to the Families and Genera of Woody Plants of Northwest South America. Conservation International. Washington, D.C. p.189

**1.1.5 Acción:** El “Frutillo” es utilizado en el municipio de Armenia (Colombia) como antiinflamatorio, cicatrizante y para tratar las hinchazones crónicas.<sup>8</sup>

**1.1.6 Composición química y dotación farmacológica:** En los departamentos del Tolima y del Quindío no se han realizado estudios químicos ni farmacológicos de esta especie; esta información fue brindada por las Universidades de Tolima y del Quindío. En la especie *Solanum marginatum* llamada popularmente “Lulo de Perro” en Colombia, se ha encontrado que el fruto contiene alcaloides, saponinas esteroidales que las gentes emplean en maceración en agua fría como detergentes para limpiar los pisos y otros objetos. El fruto contiene: solanina, solanidina, solasonina, solasodina, tomatina, tomalidina, solauricina y solamargina.<sup>9</sup> En la especie *Solanum mammosum L.* conocida como “Pichichío” en Costa Rica el fruto contiene diosgenina, nautigenina y solasonina siendo éste último importante por ser precursor para la síntesis de medicamentos como hormonas sexuales. En la especie *Solanum paniculatum L.* conocida como “Jurubela” en Brasil se ha reportado la presencia de las siguientes sapogeninas: paniculonina A y B; se encuentran también los principios amargos, principalmente lactonas sesquiterpénicas y germacranólidos. La cocción de las hojas y raíces de la *Solanum paniculatum L.* demuestra actividad estimulante de útero en ratas. Además presenta actividad antimicrobiana contra *Bacillus subtilis*.

---

<sup>8</sup>Recetario popular entre la gente de Armenia. Recogido oralmente.

<sup>9</sup>GARCIA, Barriga Hernando. Flora Medicinal de Colombia. Tomo III. Tercer Mundo Editores.1992. p.97

Esta planta no debe usarse en la población infantil debido a su toxicidad.<sup>10</sup>

**1.1.7 Parte utilizada:** Hojas.

**1.1.8 Forma de preparación:** Se emplea la infusión de las hojas para tratar externamente las dolencias. Una vez se obtiene la infusión se mantiene en ella la zona afectada. En caso de utilizarse como cicatrizante, las hojas después de la infusión se colocan sobre la piel maltratada.<sup>11</sup>

---

<sup>10</sup>MAHABIR, P. Gupla. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. Convenio Andrés Bello. Editorial Cytel. 1ª Edición. Santa Fe de Bogotá. 1999. p.533-535

<sup>11</sup>Recetario popular entre la gente de Armenia. Recogido oralmente.



## **1.2 BIOENSAYO DE CITOTOXICIDAD FRENTE *Artemia salina* Leach**

El bioensayo con *Artemia salina* Leach es un método que ofrece información sobre la dosis a partir de la cual los efectos tóxicos aparecen en larvas de este crustáceo altamente sensible a una variedad de sustancias químicas. El nivel de estímulo que causa una respuesta en el 50 % de los individuos de una población bajo estudio es un importante parámetro de caracterización denotado como DL50 (por dosis letal media o DE50 por dosis efectiva media, CL50 por concentración letal media, o CE50 por concentración efectiva media y Ltm por límite de tolerancia media). La determinación de la DL50 requiere de la estadística cuantil, necesaria para transformar los valores de respuesta obtenidos en unidades Anglit, Logit o Probit y las dosis suministradas en unidades logarítmicas conocidas como dosis metamétricas.<sup>12</sup>

El principio de que farmacología es simplemente toxicología a bajas concentraciones o toxicología es farmacología a concentraciones altas correlaciona la bioactividad con el valor de la DL50 y al mismo tiempo su grado de toxicidad.<sup>13</sup>

En este trabajo se desarrolló un análisis de bioactividad a través del método Probit.

---

<sup>12</sup><http://www.monografias.com/trabajos14/dosis-letal/dosis-letal.shtml#dos>

<sup>13</sup>OSORIO, Grisales J. Análisis del procedimiento para la determinación de la DL50 a través del método probit en un bioensayo. Revista de investigación Universidad del Quindío. Vol. 4. Número 12. p.110

### 1.3 METABOLITOS SECUNDARIOS

El carácter medicinal de una planta se debe a compuestos llamados principios activos, constituidos por uno o varios metabolitos secundarios. Son característicos para grupos biológicos particulares, tal como familia o género. Los metabolitos secundarios se forman a partir de los metabolitos primarios.

Los carbohidratos, proteínas, ácidos nucleicos y grasas comprenden el llamado metabolito primario.<sup>14</sup> Los principales metabolitos secundarios se mencionan a continuación, así como las principales reacciones para identificarlos.

---

<sup>14</sup>BILBAO, R. Maria del rosario. Análisis fitoquímico preliminar. Oficina de publicaciones de la Universidad del Quindío. Armenia. Junio 1997. p.10

### 1.3.1 TANINOS

Los taninos son polímeros de polifenoles; sustancias con alto peso molecular (comprendido entre 500 a 3000 uma) con 1 a 2 % de hidroxilos fenólicos libres, los cuales permiten la formación de enlaces cruzados estables, con proteínas y otros biopolímeros como la celulosa y las pectinas.<sup>15</sup>

Son sustancias incoloras, no cristalinas, que forman soluciones coloidales en agua; estas soluciones poseen un gusto astringente. El nombre de *taninos* procede de la propiedad de curtir (to tan, en inglés) las pieles y no comprende una clase de compuestos con una estructura básica común. Hay dos grupos de taninos: los hidrolizables, que son ésteres, y los condensados, que son polímeros que derivan de diversos flavonoides.<sup>16</sup>

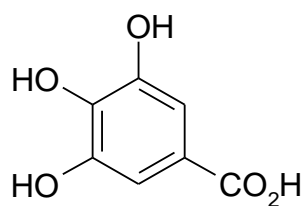
Los taninos son utilizados como antidiarreicos, cicatrizantes, antisépticos, reepitelizantes (en uso externo impermeabilizan, protegen y reepitelizan pieles dañadas), antioxidantes, protectores de la pared vascular, antinutrientes (por precipitar o inhibir enzimas digestivas).<sup>17</sup>

---

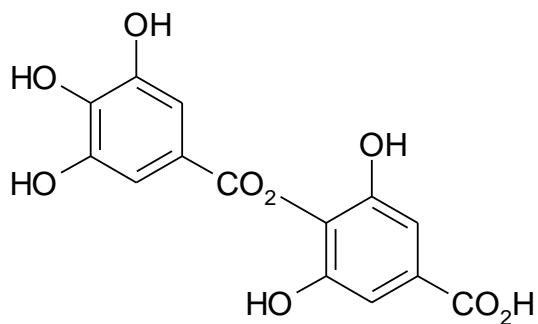
<sup>15</sup>BILBAO, Op. Cit. p.31-32

<sup>16</sup>(Universidad del Tolima). Química Orgánica II: Metabolitos secundarios en microorganismos, plantas y animales. p.799

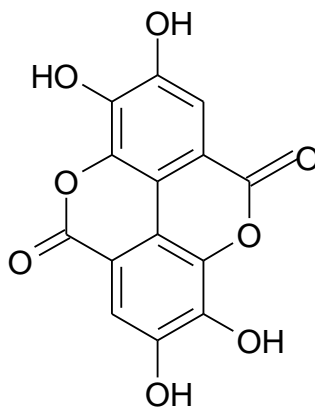
<sup>17</sup><http://www.plantasmedicinales.org/farmacognosia/feb2002/taninos.htm>



Acido Gálico



Acido Tánico



Acido Elágico

**Figura 1.** Polifenoles y Taninos

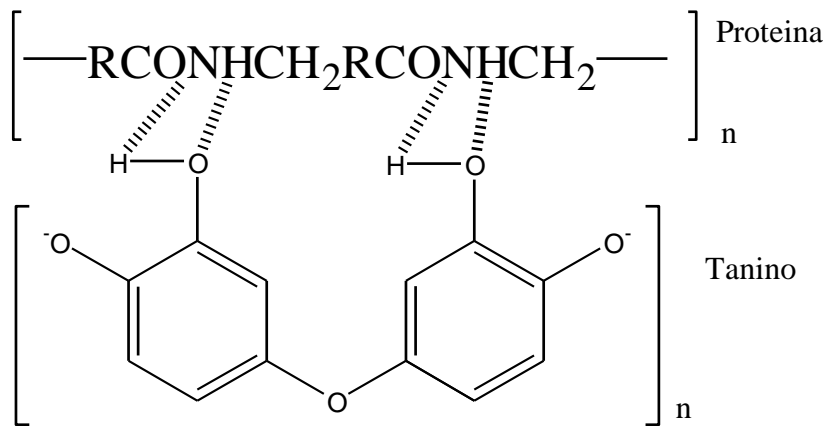
### Ensayos

La detección de taninos en análisis fitoquímicos preliminares se basa en la propiedad de estos compuestos de producir precipitados con sales de

plomo y hierro, con algunos alcaloides como la cinconina y la cafeína y especialmente con las proteínas. La prueba más conocida utilizada para el reconocimiento de taninos, se basa en la precipitación de una solución de gelatina –sal, por la formación de múltiples puentes de hidrógeno entre

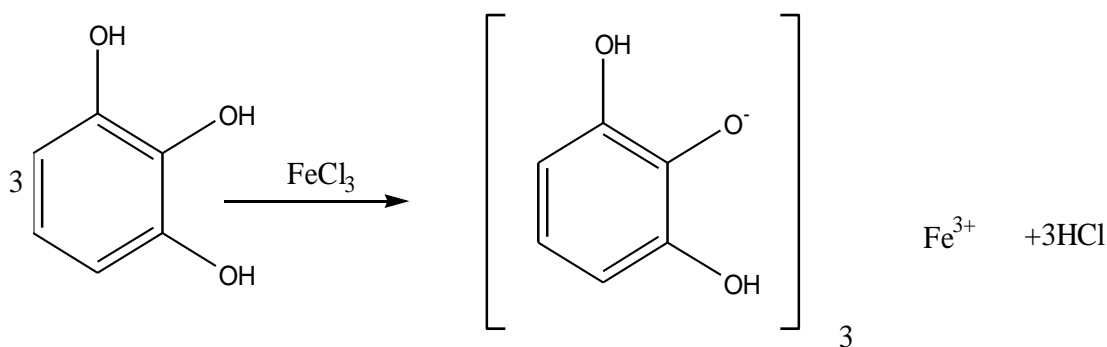
los fenoles del tanino y los grupos amídicos de la proteína.<sup>18</sup>

### Ensayo Gelatina-Sal



**Figura 2.** Reacción de Gelatina-sal. (Fuente: BILBAO 1997)

### Ensayo de $\text{FeCl}_3$



**Figura 3.** Reacción  $\text{FeCl}_3$ . (Fuente: BILBAO 1997)

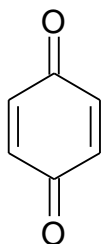
<sup>18</sup>SANABRIA, Galindo A. Análisis fitoquímico preliminar, metodología y su aplicación en la evaluación de 40 plantas de la familia Compositae. Bogotá, D.E. 1983. p.41

### 1.3.2 QUINONAS

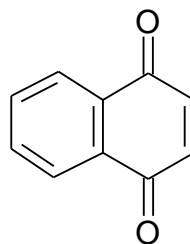
Las quinonas son dicetonas insaturadas que por reducción se convierten en polifenoles que fácilmente las regeneran por oxidación. Por sus colores, de amarillo a violeta, contribuyen a la pigmentación de numerosos vegetales y de algunos animales.

Algunas, como la vitamina K, la ubiquinona (coenzima Q) y las plastoquinonas intervienen en fenómenos respiratorios, transportando electrones, por lo que se les encuentra en todos los seres vivos.

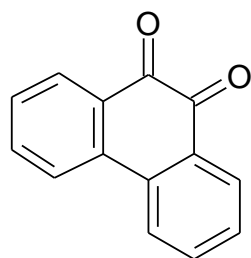
Por el sistema aromático que dan al reducirse, se les puede dividir en benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas, y fenantroquinonas.<sup>19</sup>



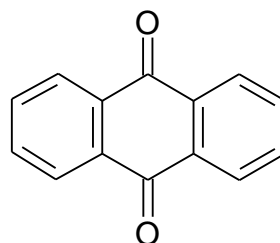
p-Benzoquinona



p-Naftoquinona



o-Fenantroquinona



p-Antraquinona

**Figura 4.** Quinonas

---

<sup>19</sup>DOMINGUEZ, Xorje. Métodos de investigación fitoquímica. Editorial Limusa, S.A. 1993.  
p.161

Dentro de las benzo y las naftoquinonas muchas son antimicrobianos (sobre todo contra bacterias Gram positivas), fungicidas y, algunas veces, vermífugas. Las antraquinonas son purgantes efectivos actuando directamente sobre la musculatura lisa del colon, dificultando la reabsorción del agua.<sup>20</sup>

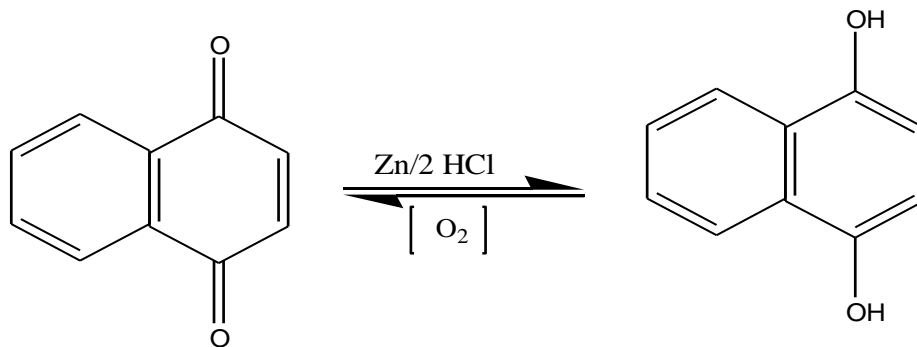
## Ensayos

**Comportamiento:** ácido y base.

Las quinonas tienden a dar colores amarillos, rojos y púrpuras en presencia de ácidos y bases muy concentrados.

Las antraquinonas se reducen fácilmente en presencia de un metal y un ácido mineral.<sup>21</sup>

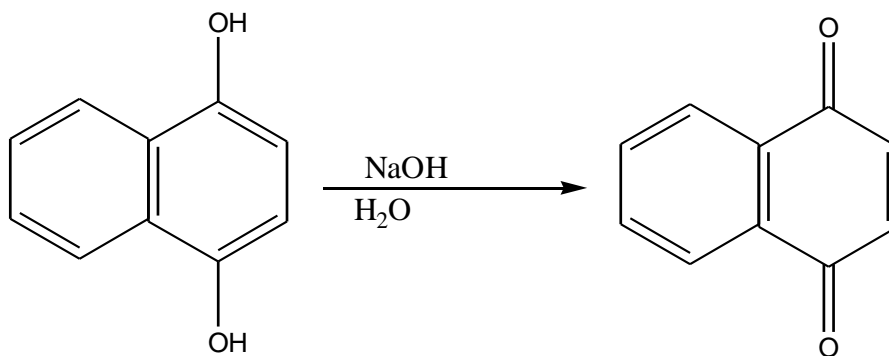
**Figura 5.** Reacción de Quinonas en medio ácido. (Fuente: BILBAO 1997)



<sup>20</sup><http://almeriware.net/almediam/articulos/articulos-090-formulacion.htm>

<sup>21</sup>BILBAO, Op. Cit. p.46

En presencia de bases fuertes las hidroquinonas cambian a su estado oxidado.



**Figura 6.** Reacción de Quinonas en medio básico. (Fuente: BILBAO 1997)

### Reacción de Börntrager-Krauss

Reconoce nafto y antraquinonas por tratamiento del extracto vegetal con hidróxido de potasio en peróxido de hidrógeno; se agrega ácido acético, luego se realiza una separación con benceno; a esta capa bencénica se



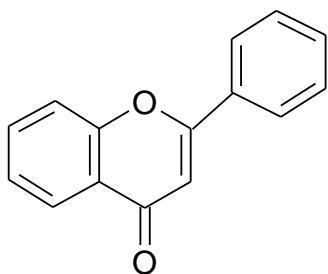
agrega solución diluida de amoníaco. Un color rojo significa prueba positiva.<sup>22</sup>

---

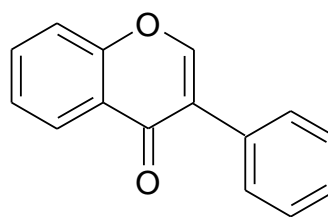
<sup>22</sup>BILBAO, Op. cit. p.50-51

### 1.3.3 FLAVONOIDES

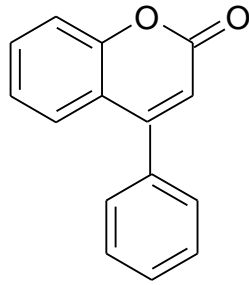
Derivan de la estructura fundamental  $C_6 - C_3 - C_6$ , dos anillos de benceno unidos por una cadena de 3 átomos de carbono. Según la ubicación de los anillos bencénicos en la cadena lineal se distinguen las flavonas, isoflavonas, neoflavonas.



Flavona



Isoflavona



Neoflavona

**Figura 7.** Flavonoides

En muchos flavonoides se forma un puente de oxígeno entre la posición orto del anillo A y el átomo de carbono bencílico, adyacente al anillo B, generándose un tercer anillo C de tipo pirona.

El heterociclo C puede presentar diversos grados de oxidación y formarse diferentes flavonoides.<sup>23</sup>

Los flavonoides son pigmentos naturales de plantas; existen generalmente en la savia acuosa de las células y son responsables de la gran variedad de colores de las flores.<sup>24</sup>

Medicinalmente poseen propiedades de fortalecimiento de los capilares sanguíneos, y mejorador de las funciones de oxigenación de los tejidos, de la hemostática y también como antiinflamatorio.<sup>25</sup>

---

<sup>23</sup>BILBAO, Op. cit. p 35-36.

<sup>24</sup>(Universidad del Tolima). Química Orgánica II: Metabolitos secundarios en microorganismos, plantas y animales. p.799

<sup>25</sup><http://www.iespana.es/natureduca/med-sustanc.glucosidos.htm>

## Ensayos

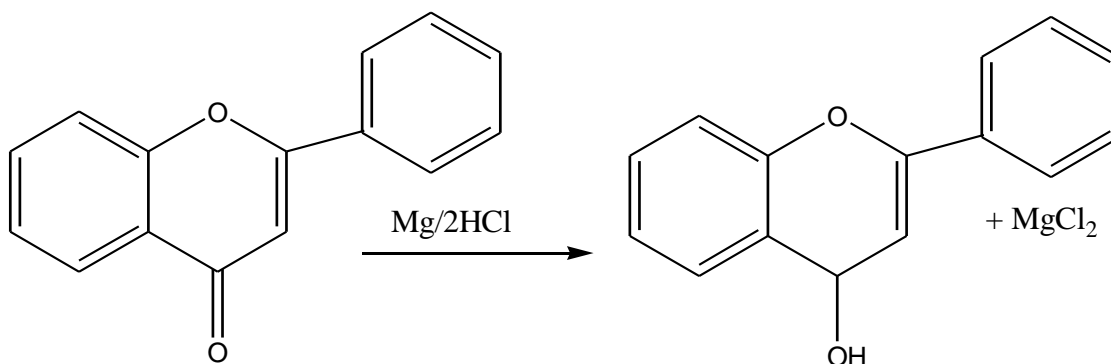
Los diversos tipos de flavonoides producen reacciones coloreadas características y, por tanto, se puede asignar un determinado flavonoide al grupo que pertenece, ejem:

**Tabla 1.** Coloraciones para flavonoides. (Universidad del Tolima; Química Orgánica II: Metabolitos secundarios en microorganismos, plantas y animales).

CLASE	NaOH	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Antocianinas	Azul a Violeta	Naranja – Amarillo
Flavonas	Amarillo	Amarillo a naranja
Flavonoles	Amarillo a naranja	amarillo a naranja

## Ensayo de Shinoda

Los flavonoides con anillo de  $\gamma$ -benzopirona reaccionan en presencia de ácido clorhídrico concentrado y magnesio.<sup>26</sup>



**Figura 8.** Reacción de Shinoda. (Fuente: BILBAO 1997)

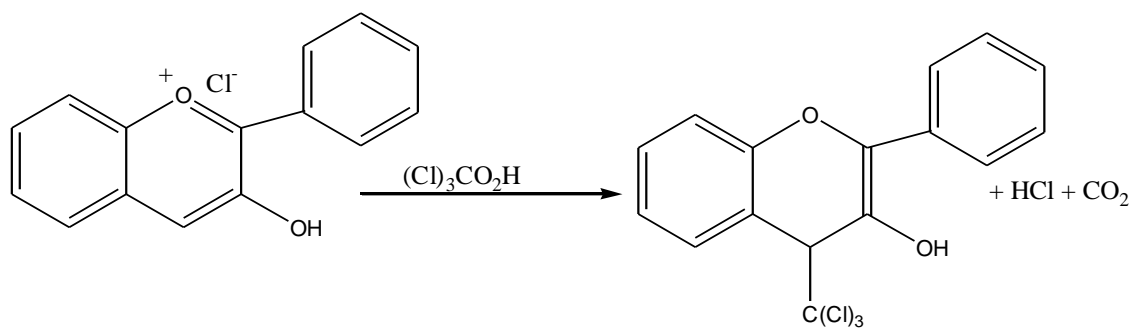
<sup>26</sup>(Universidad del Tolima). Química Orgánica II: Metabolitos secundarios en microorganismos, plantas y animales. p.799

**Tabla 2.** Coloración para la reacción de Shinoda. (Fuente: Universidad del Tolima; Química orgánica II: Metabolitos secundarios en microorganismos, plantas y animales).

Clase	Mg/2HCl
Antocianina	Rojo
Flavonas	Amarillo a rojo
Flavonoles	Rojo a violeta

### Ensayo de Rosenhein:

Las antocianinas reaccionan con ácido tricloroacético adicionado el carbanión triclorado, por adición 1,4 al dieno conjugado del catión flavílo. Se observa coloración azul cuando el resultado es positivo.<sup>27</sup>



**Figura 9.** Reacción de Rosenheim. (Fuente: BILBAO 1997)

---

<sup>27</sup>BILBAO, Op. Cit. p.37

### 1.3.4 ALCALOIDES

No existe una definición sencilla de alcaloides puesto que es difícil tener en cuenta las diferencias entre estructuras y propiedades de 6.000 compuestos adscritos al grupo de alcaloides. Una definición general de alcaloides es que son sustancias orgánicas de origen natural (sobre todo del reino vegetal) nitrogenadas, de carácter básico, de distribución restringida y dotadas de propiedades farmacológicas.<sup>28</sup> Algunas excepciones a esta definición son la colchicina que es un compuesto neutro y los N-óxidos.<sup>29</sup>

#### Propiedades Físicoquímicas

Los alcaloides bases son sólidos cristalizables, raramente coloreados.

Las bases cristalizadas tienen puntos de fusión netos, sin descomposición, sobre todo por debajo de 200 °C. Los alcaloides bases son poco solubles en agua, solubles en disolventes orgánicos apolares o poco polares.

Los alcaloides forman sales con ácidos minerales u orgánicos. Estas son hidrosolubles y es la forma más común en que se encuentran en los vegetales.<sup>30</sup>

---

<sup>28</sup>BRUNETON, Jean. Elementos de fitoquímica y farmacognosia. Zaragoza. Acribia. 1991. p.535 y 537

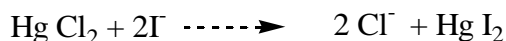
<sup>29</sup>PELLETIER, S. William. Alkaloids: Chemical and biological perspectives. A Wiley Interscience Publication. Jhon Wiley & Sons. New Cork. 1983. p.7

<sup>30</sup>BRUNETON, Ibid., p.359

### **Ensayo de reconocimiento**

Las reacciones de reconocimiento de los alcaloides se basan en los siguientes comportamientos:

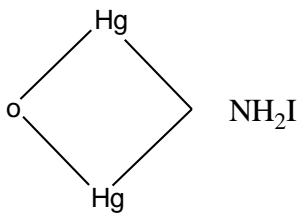
El yoduro potásico cuando reacciona con cloruro de mercurio, forma un precipitado rojo de yoduro mercúrico.



Soluble en exceso de iones de yoduro con formación de un anión complejo incoloro:



La solución alcalina de este complejo sirve para descubrir indicios de amoníaco. En esta reacción se forma el compuesto de color pardo



Oxioduro mercuriamónico, que es soluble en exceso de complejo alcalino, generando intenso color amarillo.

Los alcaloides por su carácter nitrogenado pueden comportarse de forma similar al amoníaco, ante estos reactivos.<sup>31</sup>

---

<sup>31</sup>BILBAO, Op. Cit. p.94

### **Reactivos de precipitación:**

Se emplean soluciones yodo-yoduradas como el mercuritetrayoduro de potasio (reactivo de Mayer fórmula I) o el tetrayodobismuto de potasio (reactivo de Dragendorff modificado). También se pueden utilizar el reactivo silícico – túngstico o soluciones alcalinas de yodoplatinatos.<sup>32</sup>

### **1.3.5 ESTEROLES**

Los esteroides son alcoholes sólidos de origen animal (colesterol) o vegetal (Ergosterol y estigmasterol) cuyo esqueleto fundamental corresponde al ciclopentano perhidrofenantreno, común a todos los

esteroides y una cadena lateral en la que pueden insertarse radicales metilo o etilo, particularmente en C-24. Cuando los grupos metilo se insertan en el C-4 o en C-14 se les denomina metilesteroles.

Todos los esteroides tienen un hidroxilo en C-3. Los saturados se denominan estanoles y los insaturados estenoles.<sup>33</sup>

---

<sup>32</sup>BRUNETON, Op. Cit. p.360

<sup>33</sup>DOMINGUEZ, Op. Cit. p.139

## **Ensayos**

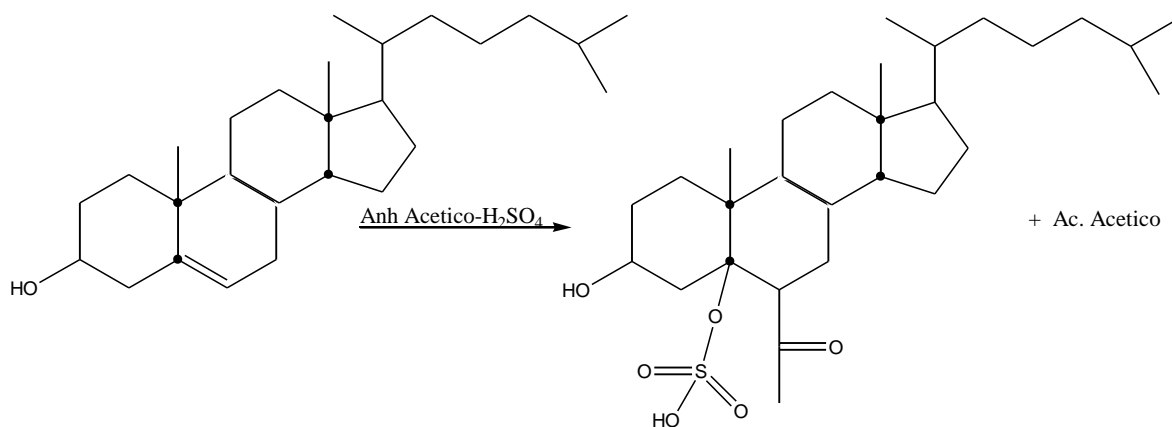
### **Reacción de Liebermann-Burchard**

Esta es la prueba más utilizada en el análisis de esteroides. Aunque se emplea desde mucho tiempo no se conoce de ella ni el mecanismo ni los requerimientos estructurales para que una sustancia de positiva la prueba. Según A. Sanabria, la experiencia ha demostrado que cualquier esteroide o triterpenoide con doble enlace (y aún saturado en algunos casos) puede dar prueba positiva con esta reacción.

En este ensayo, a una solución clorofórmica de la muestra que se analiza, se le agrega un volumen igual de anhídrido acético y una gota de ácido



sulfúrico concentrado (98%). Si hay esteroides se producen coloraciones verdes, violetas, rojas o azules.<sup>34</sup>



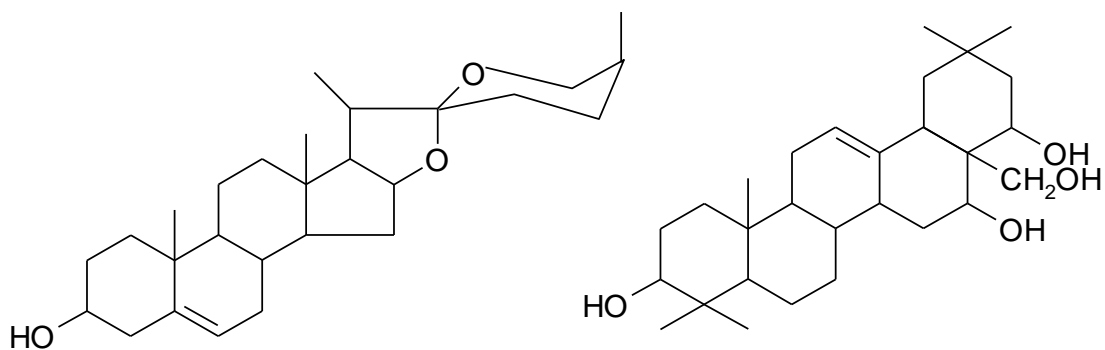
**Figura 10.** Reacción de Liebermann-Burchard. (Fuente: BILBAO 1997)

---

<sup>34</sup>BILBAO, Op. Cit. p.59

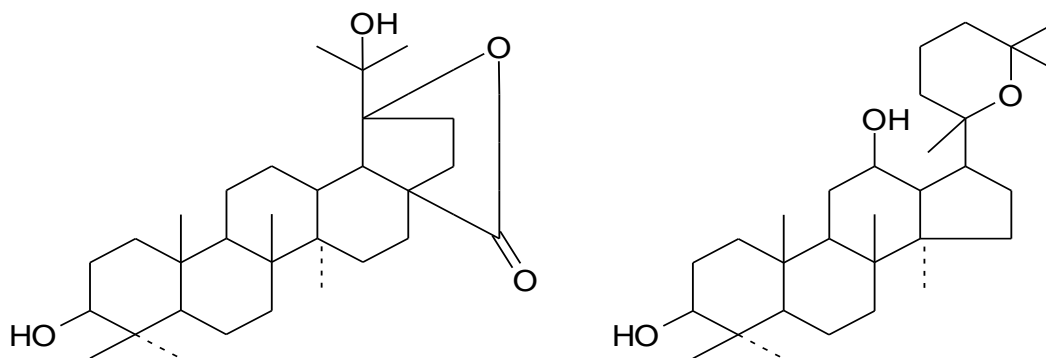
### 1.3.6 SAPONINAS

Las saponinas son glicósidos que disminuyen la tensión superficial de ésta. La hidrólisis de las saponinas produce carbohidratos y una aglicona llamada sapogenina, la cual tiene un esqueleto esteroideal como la Diosgenina, o el de triterpeno pentacíclico como la Chichipegina, o el de lupeol como en la Estallogenina o el de tipo tetracíclico como en el Panaxadiol.



Diosgenina

Chichipegenina

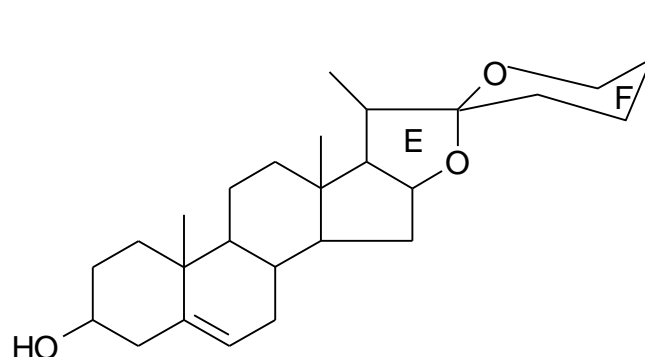


Estallogenina

Panaxadiol

**Figura 11.** Estructuras de Sapogeninas. (Fuente: DOMINGUEZ 1985)

Ya que los glicósidos son difíciles de purificar, las sapogeninas son más conocidas que las correspondientes saponinas.<sup>35</sup> Los anillos E y F de la saponina esteroidal conforman el sistema espirostanal. El enlace glicosídico siempre se forma con el oxígeno del carbono 3.<sup>36</sup>



## Ensayos

Las saponinas se reconocen en los análisis fitoquímicos preliminares mediante los ensayos de la Espuma, Hemólisis de Glóbulos Rojos, Liebermann-Burchard, Rosenthaler y ensayos de carbohidratos.

### Ensayo de la Espuma

Al agitar una solución acuosa de una muestra que sea o contenga saponinas, se forma una espuma estable como la obtenida al agitar la solución acuosa de un jabón. Puesto que existen otras sustancias que pueden formar espuma, se debe asumir este ensayo como una prueba presuntiva de la presencia de saponinas.

---

<sup>35</sup>RUIZ, Gil Pilar. Productos naturales. Dirección de publicaciones, Universidad de Navarra. Universidad Pública de Navarra, 2202. p.157

<sup>36</sup>BILBAO, Op, cit. p.59

### Ensayo de Hemólisis

Este ensayo es más confiable que el de la espuma. A una suspensión de glóbulos rojos en solución salina diluida, se añade una solución de la

muestra que se presume es o contiene saponinas si los glóbulos rojos se rompen (hemolizan), se asume que la prueba es positiva.

Este ensayo puede realizarse en el tubo de ensayo, en cajas de Petri con agar-sangre o en cajas de petri con gelatina-sangre. Cuando la muestra tiene taninos, estos deben eliminarse antes de realizar la prueba ya que la interfieren. Esto se logra por tratamiento repetido de la muestra con óxido de magnesio, el cual se compleja con los taninos, eliminándolos.<sup>37</sup>

### **Ensayo de Liebermann-Burchard**

El sistema esteroidal o pentacíclico de este metabolito puede dar positiva esta reacción. (Ver ensayos para esteroides).

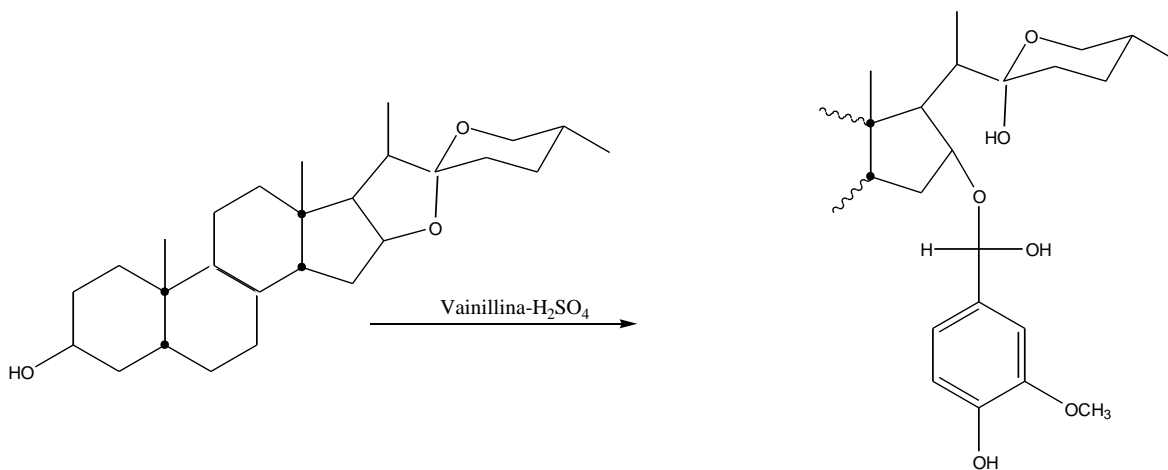
### **Ensayo de Rosenthaler**

Las sapogeninas esteroidales y triterpenoides dan colores característicos con la vainillina al 1% en ácido o-fosfórico al 10%. Las sapogeninas triterpénicas pentacíclicas dan color violeta (la reacción ocurre en el hidróxilo del C-3) y las esteroidales no reaccionan o dan color verdoso (la reacción ocurre en el sistema espirostano).<sup>38</sup>

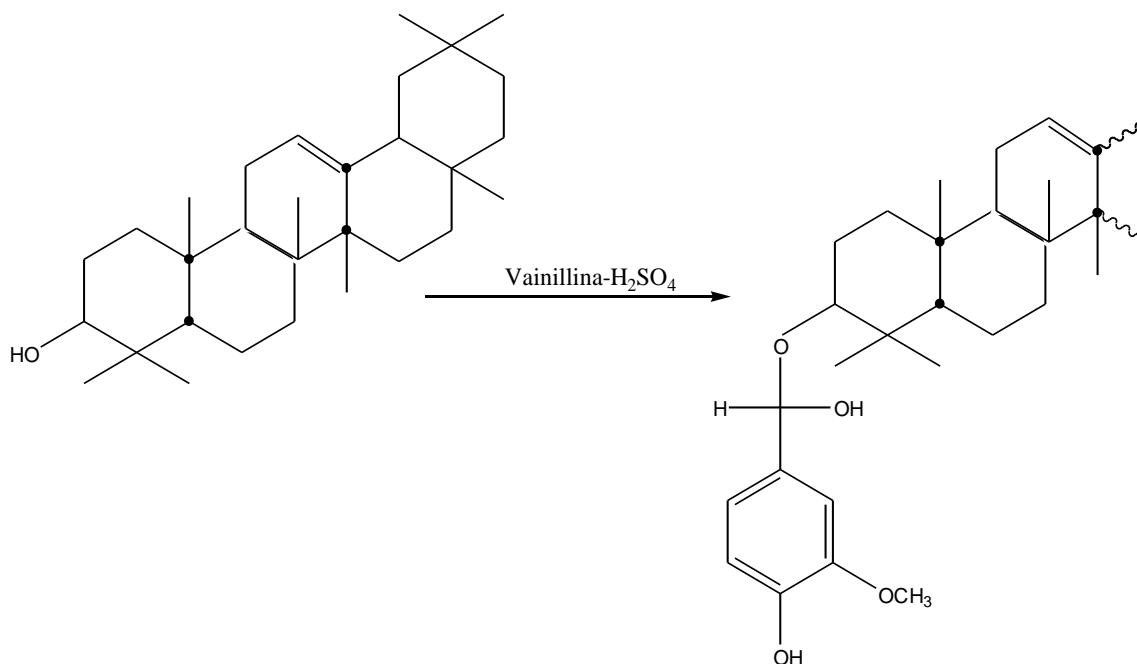
---

<sup>37</sup><http://huitoto.udea.edu.co/~farmacogfit/Esteroides/saponinas/index.htm>

<sup>38</sup>DOMINGUEZ, OP. cit. p.153



**Figura 12.** Reacción de Vainillina con Sapogeninas Esteroidales. (Fuente: BILBAO 1997)



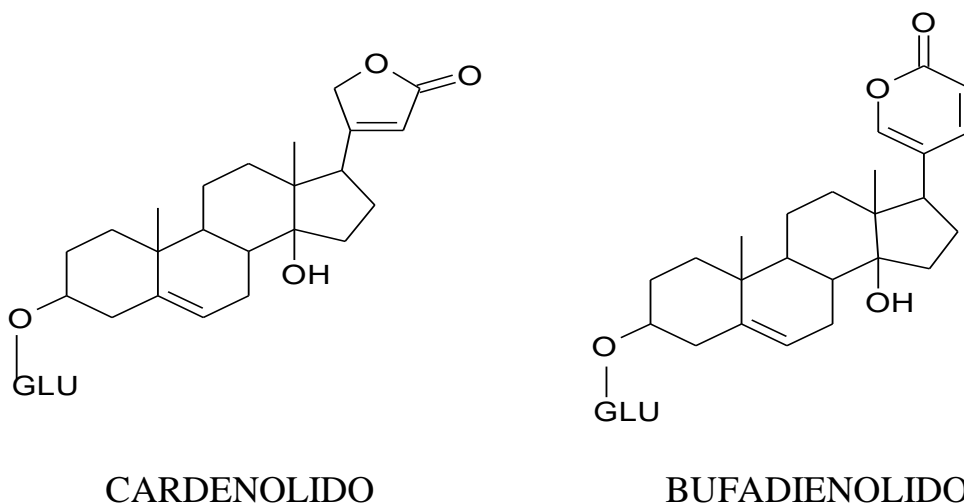
**Figura 13.** Reacción de Vainillina con Sapogeninas Pentacíclicas. (Fuente: BILBAO 1997)

### 1.3.7 GLICÓSIDOS CARDIOTÓNICOS

Son un grupo de esteroides  $C_{23}$  o  $C_{24}$  que presentan siempre grupos hidroxilos en los carbonos C-3 y C-14.

Estos compuestos se dan en plantas como en secreciones de ranas y sapos, son conocidos por sus propiedades venenosas y por su potente efecto en el músculo del corazón. Su acción terapéutica depende del tipo y número de unidades de azúcar y de la estructura del aglicón que posee una lactona unida a C<sub>17</sub>.

Los glicósidos cardiotónicos con una lactona de 5 miembros se conocen como cardenólidos (poseen acción sobre el músculo cardíaco) y los de lactonas de 6 miembros se conocen como bufadienólidos (no tienen acción sobre el músculo cardíaco, pero son tóxicos), los cuales son menos numerosos que los anteriores.



**Figura 14.** Estructuras de Glicósidos Cardiotónicos (Fuente: BILBAO 1997)

Los cardiotónicos van acompañados a un azúcar sin hidroxilaciones en C-2 y C-6 (desoxiazúcar), como glicósidos en el grupo hidroxilo de C-3. También van moléculas de carbohidratos completas.<sup>39</sup>

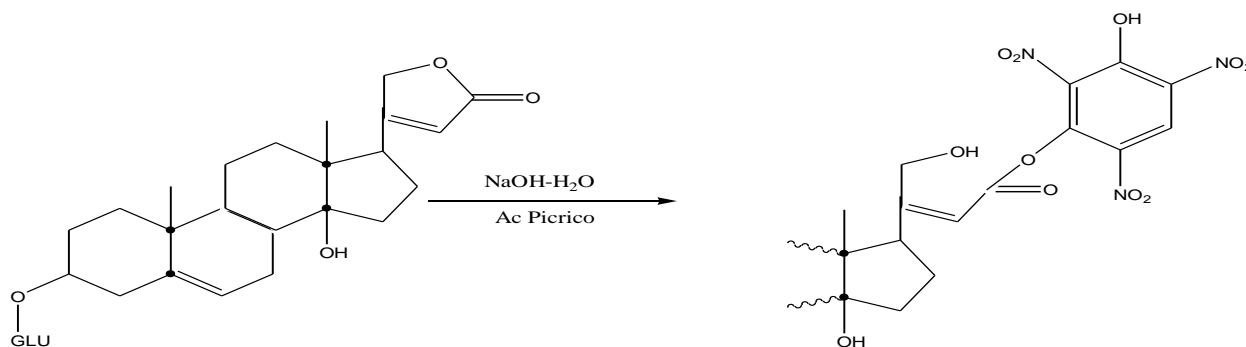
## Ensayos

### Ensayos para el Anillo Lactónico

El anillo lactónico de los glicósidos cardiotónicos reacciona con compuestos aromáticos nitrados generando, con previa ruptura de la lactona y por sustitución nucleofílica en el anillo aromático, compuestos coloreados. En este comportamiento se basan las pruebas de Baljet, Kedde y Raymond.

### Ensayo de Baljet

A la muestra disuelta en alcohol se agrega ácido pícrico y NaOH. La prueba positiva da tonalidad de anaranjado a rojo oscuro.

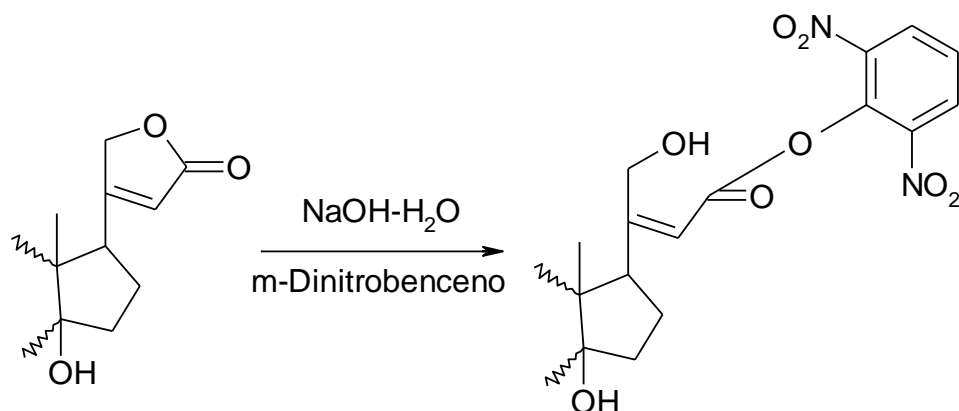


**Figura 15.** Reacción de Baljet (Fuente: BILBAO 1997)

<sup>39</sup>RUIZ, Op. cit. p.158

### Ensayo de Raymond

A la muestra disuelta en alcohol se agrega m-dinitrobenceno y NaOH. Se producen coloraciones violetas que reaccionan rápidamente.



**Figura 16.** Reacción de Raymond (Fuente: BILBAO 1997)

Los glicósidos cardiotónicos reaccionan con el reactivo de Legal (ver ensayos para sesquiterpenlactonas).

### Otros Ensayos:

Para el sistema anular esteroidal se usa la prueba de Liebermann-Burchard, tal como se indicó anteriormente para esteroides.

Por otro lado, el desoxiazúcar se caracteriza por la prueba de Keller-Killiani.<sup>40</sup>

---

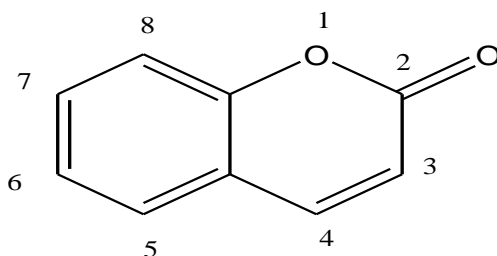
<sup>40</sup>BILBAO, Op. cit. p.65 y 66

### 1.3.8 CUMARINAS



Son sustancias que presentan intensa fluorescencia; comúnmente fotosensibles, se les considera derivados de la lactona del ácido o-hidroxicinámico.<sup>41</sup>

Se han comprobado propiedades antitumorales en algunas cumarinas, actividad antimicrobiana y propiedades biológicas en cumarinas sustituidas con heterociclos en C-3. Además, poseen acción espasmolítica y bactericida.<sup>42</sup>



CUMARINA

**Figura 17.** Estructura y numeración de una cumarina (Fuente BILBAO)

## Ensayos

Las cumarinas se disuelven en soluciones alcalinas acuosas o alcohólicas con aparición amarilla.

---

<sup>41</sup>GROS, G. Eduardo y PAMILIO, B. Alicia. Introducción al estudio de los productos naturales. Organización de los Estados Americanos. Programa regional de desarrollo científico y tecnológico. p.48

<sup>42</sup>GROS; PAMILIO, Ibid., p.50

Como lactonas dan positiva la prueba del hidroxamato férrico (ver ensayos para sesquiterpenlactonas).<sup>43</sup>

### 1.3.9 SESQUITERPENLACTONAS

Las sesquiterpenlactonas son compuestos con 15 átomos de carbono formados a partir del ácido mevalónico por la unión cabeza-cola de 3 unidades de isopreno (2-metil butadieno 1,3). Su grupo principal es un éster cíclico.<sup>44</sup>

#### Clasificación

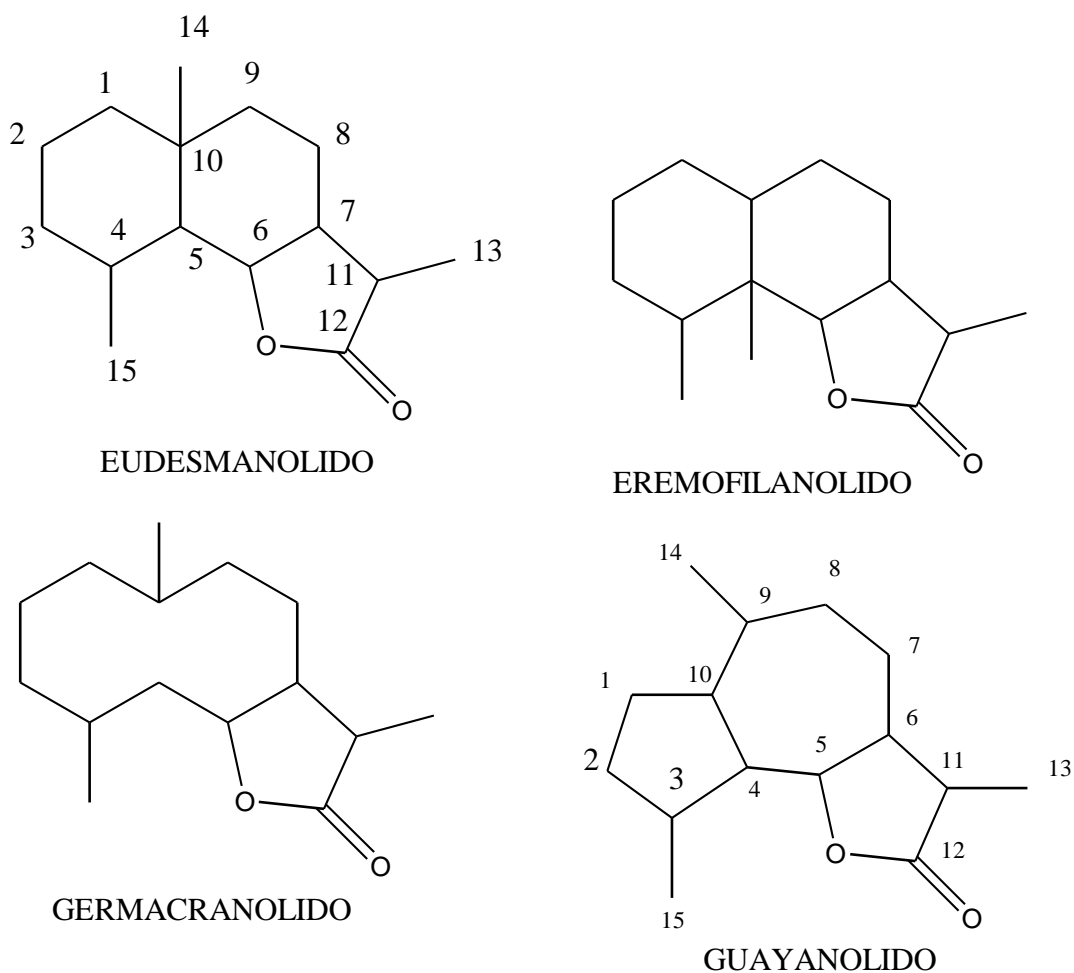
Las sesquiterpenlactonas se clasifican de acuerdo al tipo de núcleo que posean con la terminación ólido que indica la existencia de un grupo funcional lactona. Por ejemplo las que tienen el núcleo tipo Germacrano se les llama Germacranólidos, las que tienen el núcleo tipo Eremofilano son Eremofilanólidos, las que contengan núcleo tipo Eudesmano son Eudesmonólidos, etc.<sup>45</sup>

---

<sup>43</sup>BIBAO, Op. cit. p.85

<sup>44</sup>Ibid., p.78

<sup>45</sup><http://huitoto.udea.edu.co/~farmacogfit/Sesquiterpenlactonas/index.html>



**Figura 18.** Lactonas terpénicas (Fuente: BILBAO 1997)

### **Estado natural**

Se les puede encontrar en forma libre principalmente y raramente en forma glicosídica.

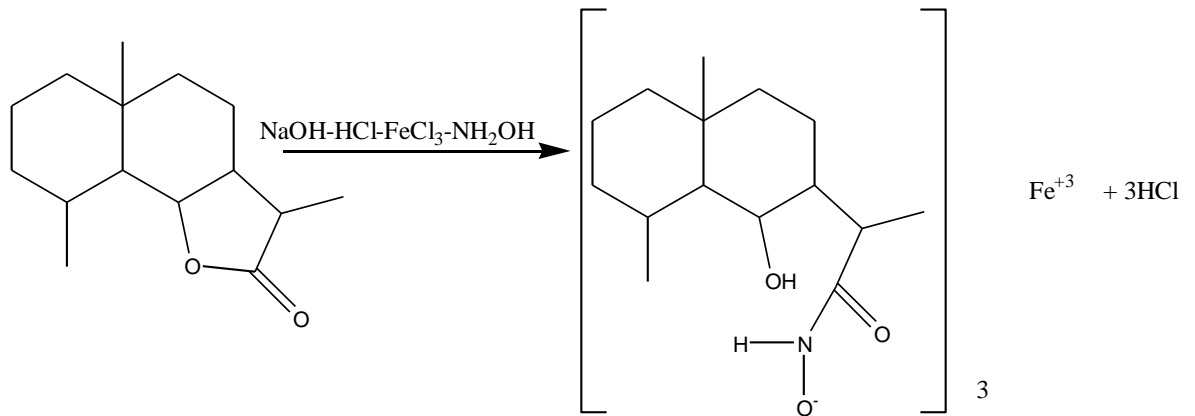
### **Ensayos**

No existe una prueba específica para reconocer sesquiterpenlactonas en

muestras biológicas, sin embargo pueden utilizarse los siguientes ensayos:

### Ensayo de Hidroxamato férrico:

La muestra se disuelve en etanol, se añade solución de clorhidrato de hidroxilamina y KOH. Se enfría y se acidula con HCl. Se añade cloruro férrico y se forma una coloración violeta. Esta prueba la dan positiva en general todas las sustancias con funcionalidad éster o lactona. Ejemplo: las cumarinas, y se basa en la formación de un complejo entre el ácido hidroxámico formado y el cloruro férrico.

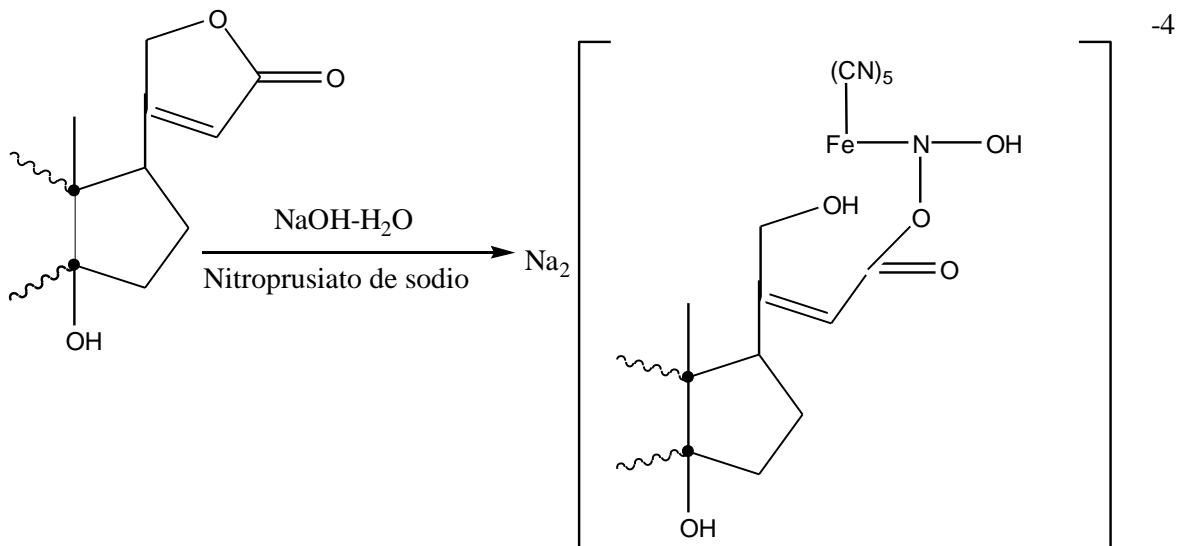


**Figura 19.** Reacción de Hidroxamato Férrico. (Fuente: BILBAO 1997)

### Ensayos para lactonas insaturadas:

#### Ensayo de Legal

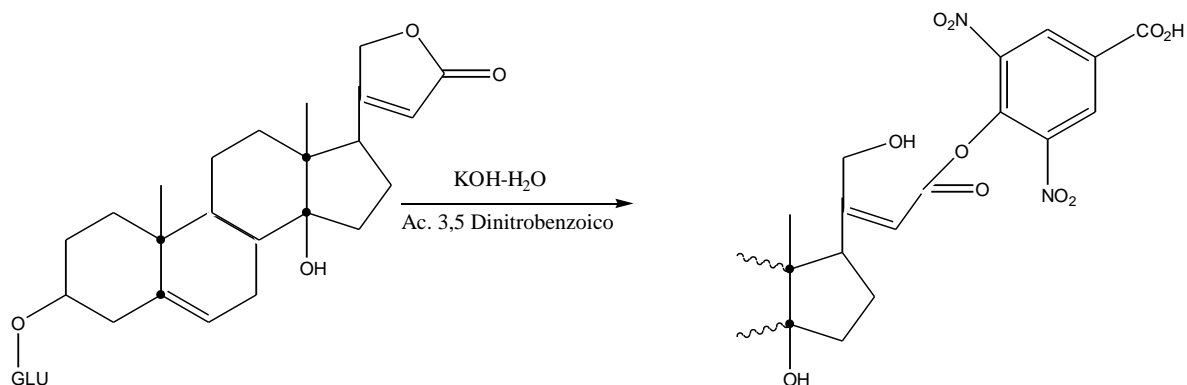
Las sesquiterpenolactonas con anillos lactona, insaturados producen coloración rosa cuando se disuelven en piridina, se añade nitroprusiato de sodio y un álcali. La prueba también la dan positiva las lactonas  $\alpha$ - $\beta$  insaturadas cuando no se controla el pH, ya que se isomerizan en medio alcalino. La prueba también la dan los cardenólidos.



**Figura 20.** Reacción de Legal. (Fuente: BILBAO 1997)

### Ensayo de Kedde

A la muestra disuelta en alcohol se añade ácido 3,5-dinitrobenzoico y KOH. Se producen coloraciones violetas o azules que desaparecen después de una hora. La prueba también la dan positiva los cardenólidos.



**Figura 21.** Reacción de Kedde. (Fuente: BILBAO 1997)

## Otros ensayos

Las sesquiterpenlactonas producen coloraciones cuando se tratan con ácido pícrico e hidróxido de sodio (ensayo de Baljet) y con m-dinitrobenzoceno e hidróxido de sodio (ensayo de Raymond).<sup>46</sup>

<sup>46</sup><http://huitoto.udea.edu.co/~farmacogfit/Sesquiterpenlactonas/index.html>

### 1.3.10 CAROTENOIDES

Los carotenoides en su mayoría son pigmentos liposolubles de colores

amarillo, naranja y rojo.

Los carotenoides son polienos. Casi todos los hidrocarburos carotenoides tienen la fórmula molecular  $C_{40}H_{56}$  y son derivados biosintéticamente a partir de dos unidades de geranil-geranil-pirofosfato.

### **Clasificación**

Los carotenoides se clasifican en dos grupos: carotenos y xantofilas. Los carotenos sólo tienen carbono e hidrógeno (Ejemplo: el  $\beta$ -caroteno), mientras que las xantofilas además contienen oxígeno (Ejemplo: la luteína).

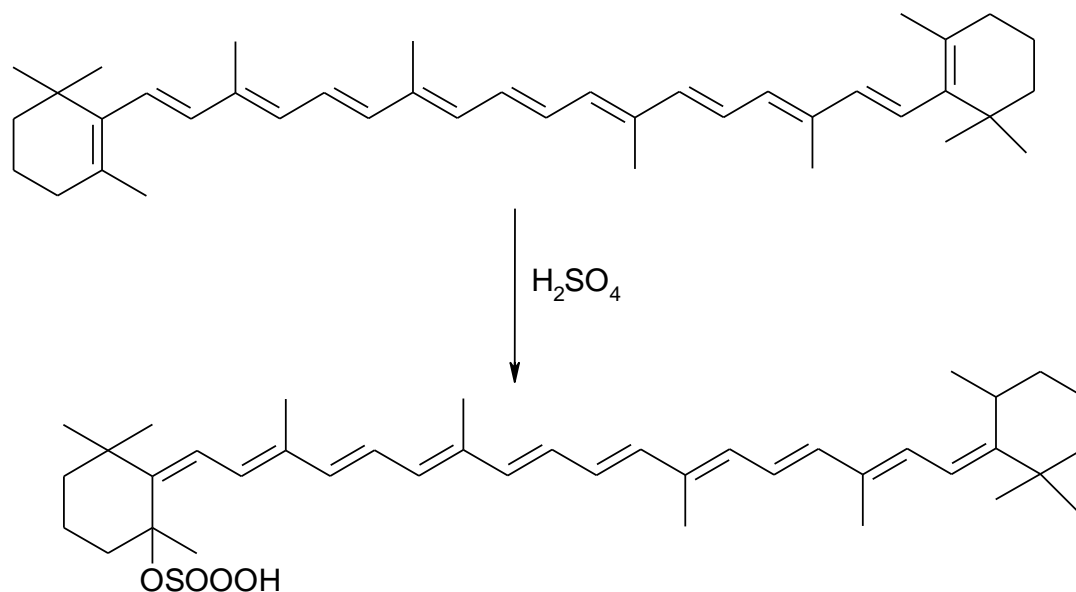
### **Estado natural**

Los carotenoides se encuentran en forma libre, como ésteres de ácidos grasos o como glicósidos. Sin embargo los glicósidos carotenoides son raros.

### **Ensayos**

Los carotenoides dan un color azul intenso con ácido sulfúrico

concentrado y con una solución clorofórmica de tricloruro de antimonio.<sup>47</sup>



**Figura 22.** Reacción con  $H_2SO_4$ . (Fuente: BILBAO 1997)

### 1.3.11 CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos son polihidroxialdehidos y polihidroxicetonas o compuestos que por hidrólisis se convierten en aquellos.

Los carbohidratos pueden ser monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos.

---

<sup>47</sup><http://huitoto.udea.edu.co/~farmacogfit/Carotenoides/index.html>

Los carbohidratos que reducen los reactivos de fehling , benedict o tollens se conocen como azúcares reductores , y todos los carbohidratos que contiene un grupo hemiacetal o hemicetal dan pruebas positivas.<sup>48</sup>



Los carbohidratos que sólo contienen grupos acetal o cetal no dan pruebas positivas con estas soluciones y se llaman azúcares no reductores.<sup>49</sup>

## **Ensayos**

### **Ensayo de Molish**

Sirve para el reconocimiento de todo tipo de azúcares. Los cuales en medio ácido fuerte se deshidratan formando furfurales. Estos furfurales al reaccionar con el  $\forall$ -naftol originan complejos de intenso color.

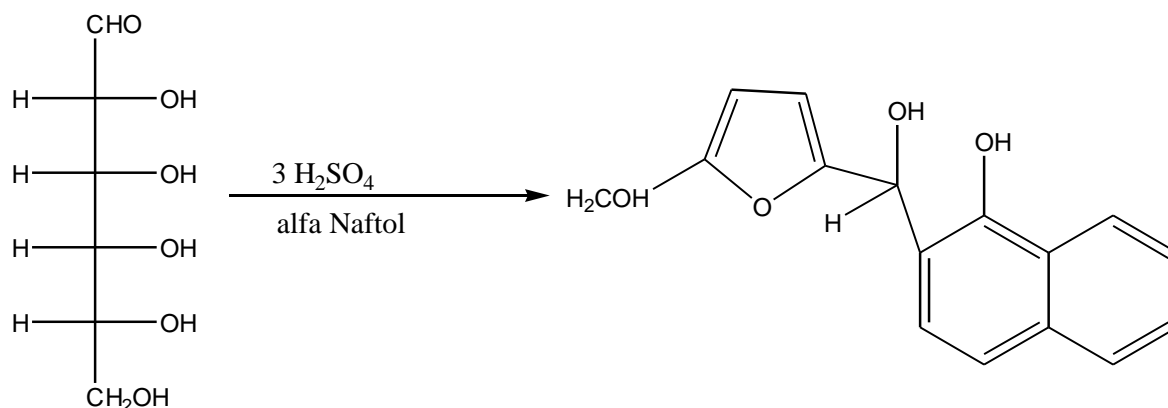
Molish positiva: formación de un anillo de color violeta en la interfase.<sup>50</sup>

---

<sup>48</sup>MORRISON, Robert T. Química Orgánica. 5ª Edición. México. Addison-Wesley Iberoamericana. 1990. p.1258

<sup>49</sup>Ibid., p.1285

<sup>50</sup><http://132.248.56.130/orgánica/lab2/135.htm>



**Figura 23.** Reacción de Molish. (Fuente: BILBAO 1997)

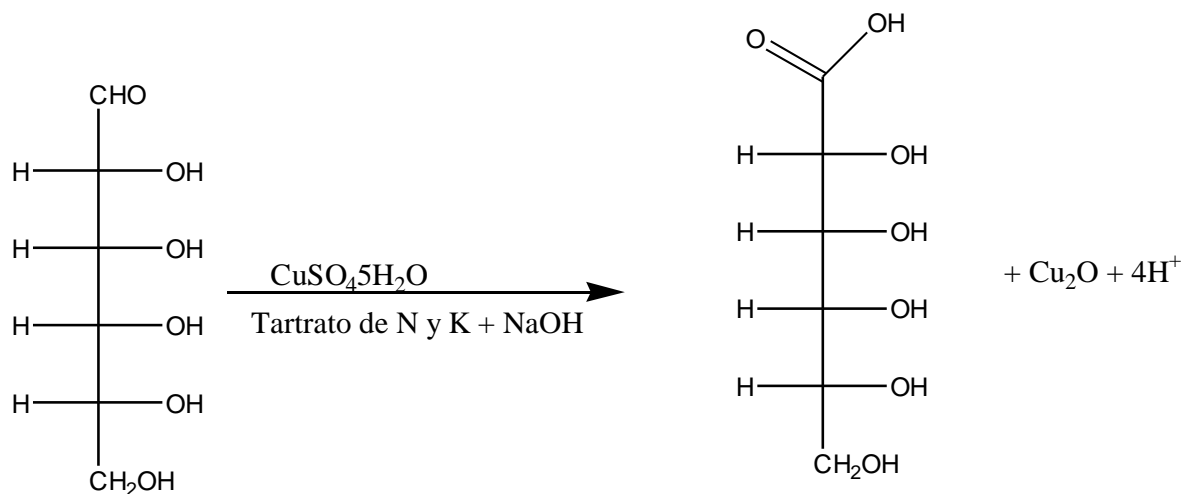
### Ensayo de fehling

Sirve para el reconocimiento de azúcares reductores. El poder reductor que puede presentar los azúcares proviene de su grupo carbonilo, que puede ser oxidado a grupo carboxilo con agentes oxidante suaves. Si el grupo carbonilo se encuentra combinado no puede presentar este poder reductor.

Los azúcares reductores, en medio alcalino son capaces de reducir el ion  $\text{Cu}^{+2}$  de color azul a  $\text{Cu}^{+}$  de color rojo. Para ello el grupo carbonilo del azúcar se oxida a grupo carboxilo.

El cobre se reduce si forma un precipitado de  $\text{Cu}_2\text{O}$  de color rojizo.<sup>51</sup>

<sup>51</sup><http://www.unav.es/bioquímica/bqfarmacia/practicas.pdf>.



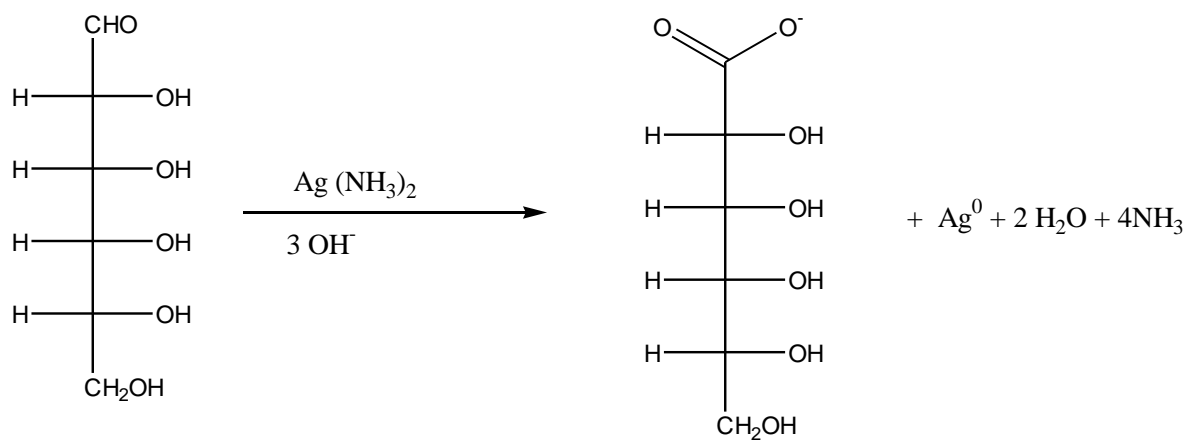
**Figura 24.** Fehling. (Fuente: BILBAO 1997)

### Ensayo de Tollens

Sirve para el reconocimiento de monosacáridos. Los monosacáridos son capaces de reducir en medio amoniacal, al ion  $\text{Ag}^+$  a  $\text{Ag}^0$ , que se deposita en las paredes del tubo.

Si el ensayo es positivo se forma un espejo de plata en las paredes del tubo.<sup>52</sup>

<sup>52</sup><http://www.unav.es/bioquímica/bqfarmacia/practicas.pdf>



**Figura 25.** Reacción de Tollens. (Fuente: BILBAO 1997)

## **2. PARTE EXPERIMENTAL**

### **2.1 RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL**

Las muestras para el análisis fitoquímico preliminar fueron recolectadas por los alrededores del laboratorio de investigaciones en postcosecha, Universidad del Quindío, Municipio de Armenia, Departamento del Quindío.

Tres ejemplares de la misma fueron llevados al Herbario de la Universidad del Quindío (HUQ), para la verificación de su identidad taxonómica, y permanecen en el HUQ bajo el código: T. Rivera, S. Rivera No.1

### **2.2 CLASIFICACIÓN BOTÁNICA**

Reino: Vegetal

Subreino: Espermatófitas o Fanerógamas

División: Angiospermas

Clase: Dicotiledóneas

Subclase: Simpétalas

Orden: Tubiflora

Suborden: Solanineae

Familia: Solanaceas.<sup>53</sup>

---

<sup>53</sup>GIRALDO, B. David y MURILLO O. Javier. Las Solanaceas. Universidad del Quindío. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Química en productos vegetales. Armenia. 1989



**Figura 26.** Foto de la *Solanum stellatiglandulosum* Bitter

## **2.3 METODOLOGÍA**

### **2.3.1 Análisis fitoquímico**

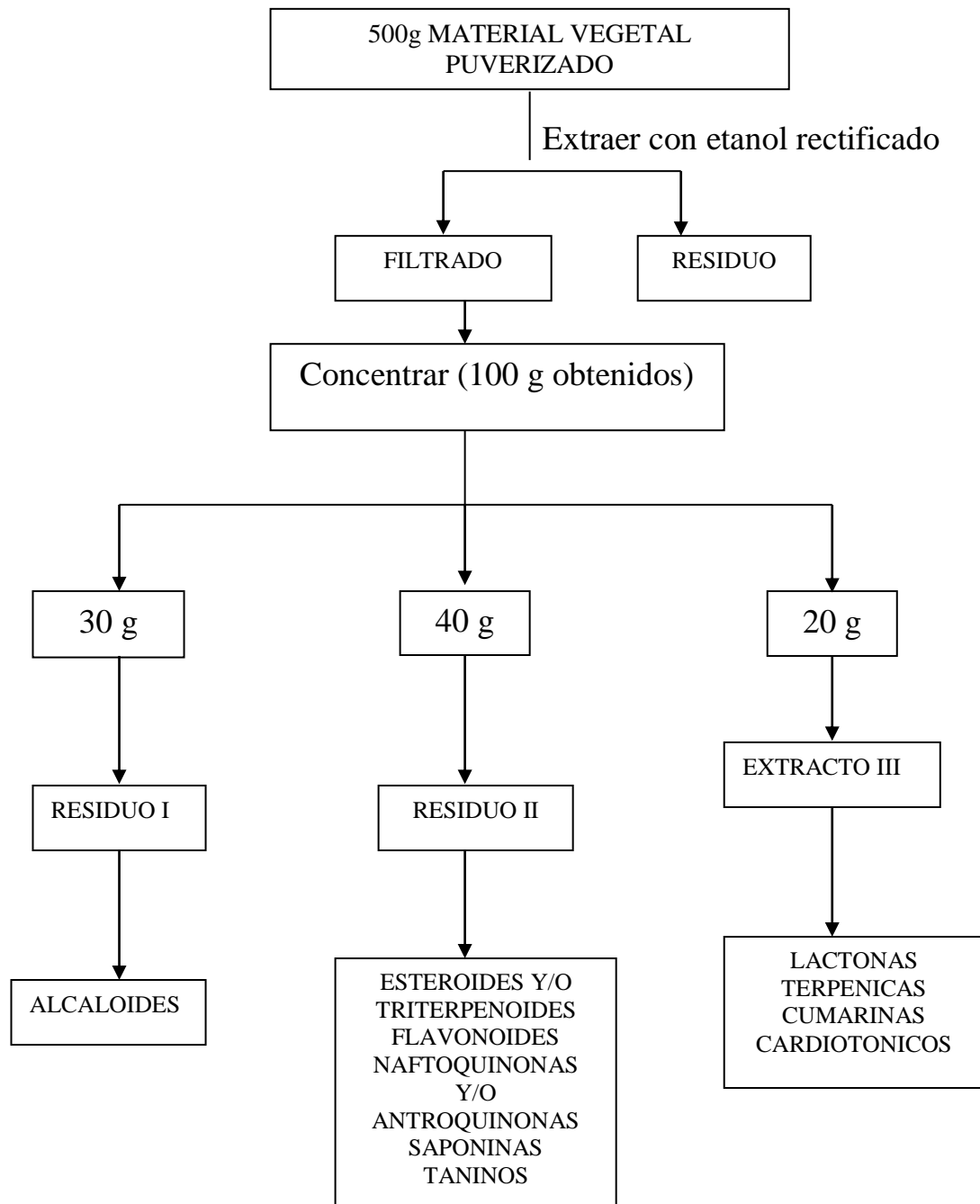
El primer paso consistió en la recolección del material vegetal el cual se secó a 40 °C en estufa, después fue molido y tamizado. Se tomaron 500 g de hojas y se llevó a cabo la extracción por percolación con etanol para obtener el extracto crudo, este procedimiento se efectuó de igual manera para los frutos. Para el análisis fitoquímico preliminar se utilizó el método especificado por A. Sanabria.

Se estandarizaron solventes empleados para que garantizaran la respuesta de los respectivos reactivos.

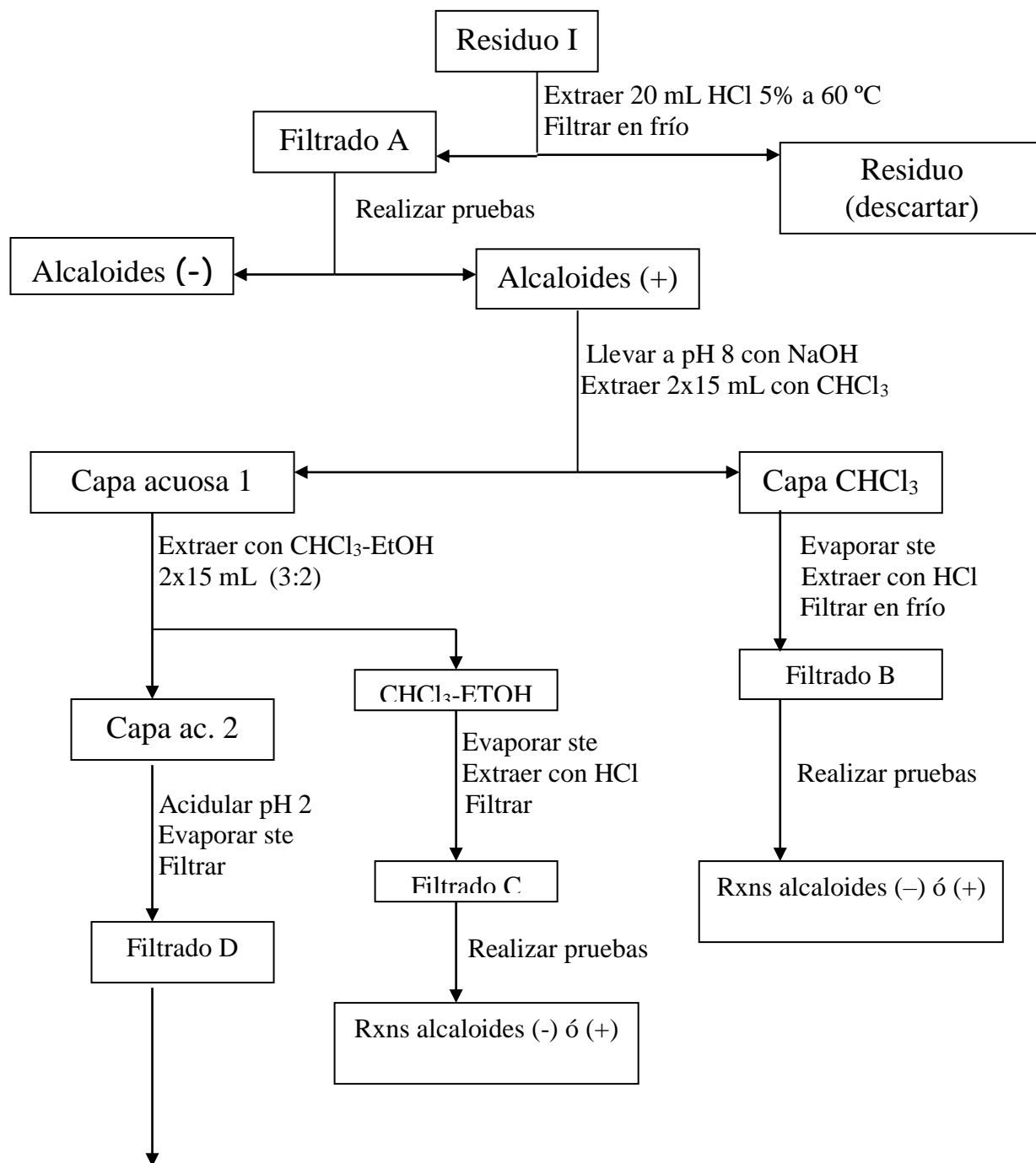


**Figura 27.** Foto del montaje de la percolación

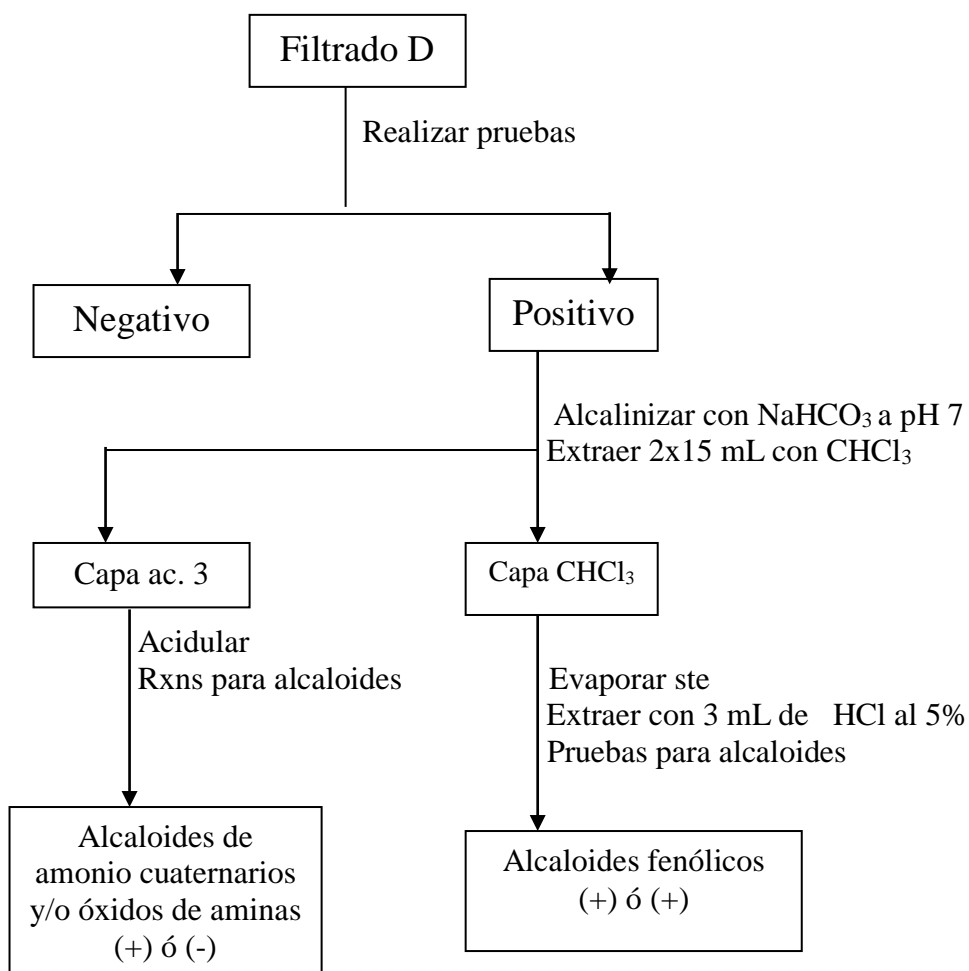




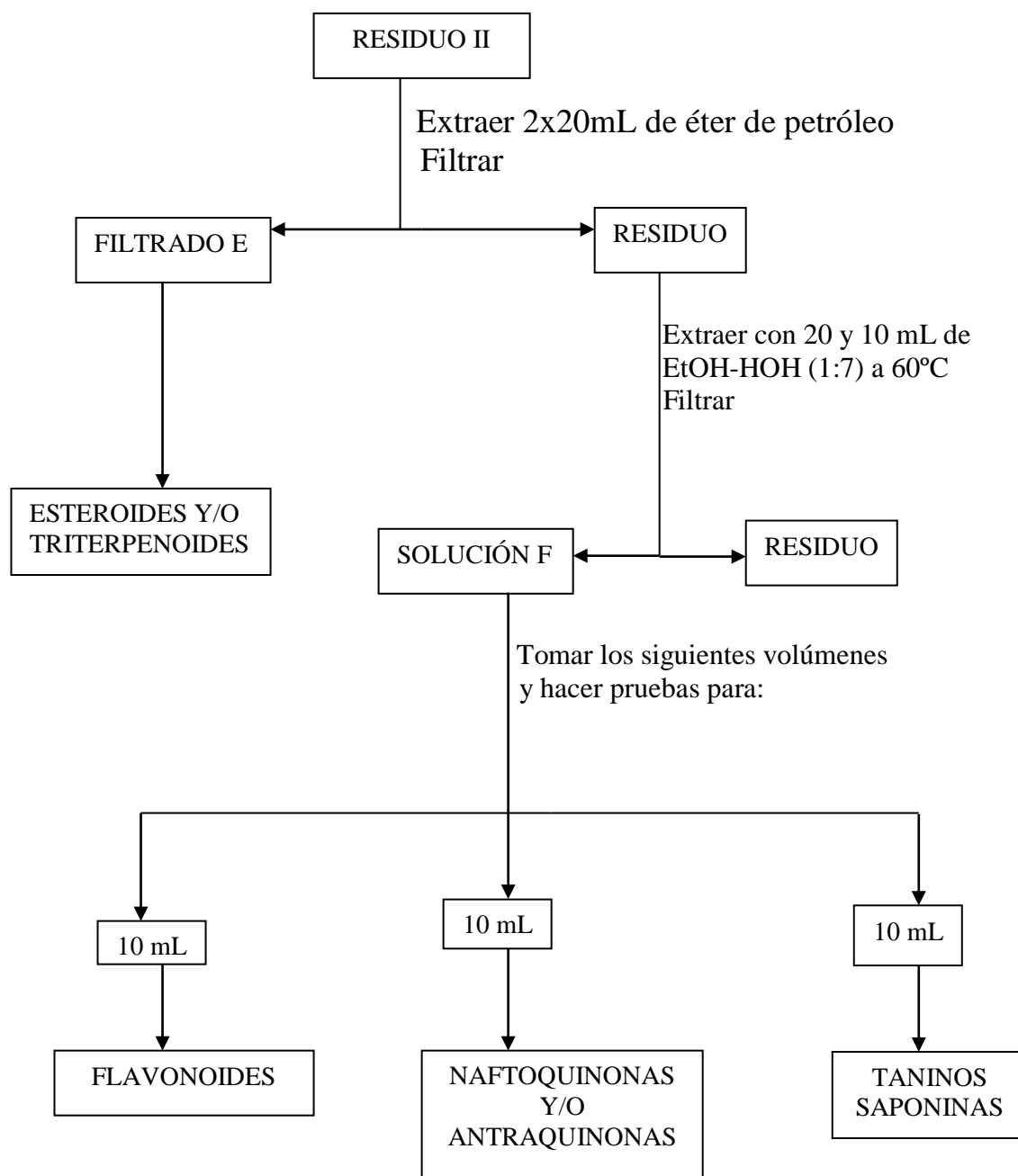
**Diagrama 1.** Obtención de Extracto Etanólico Total (Fuente: Sanabria 1983)



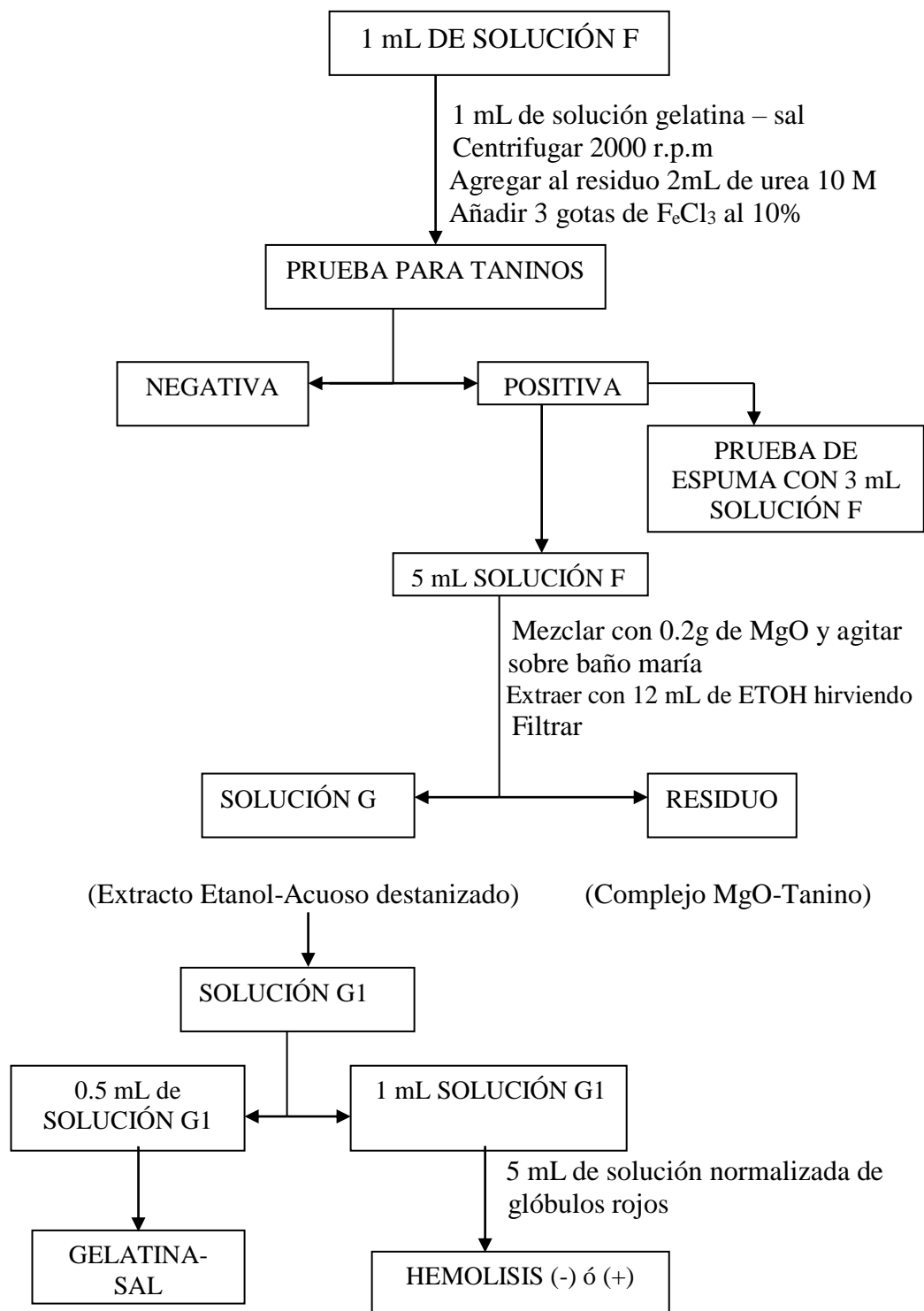
**Diagrama 2.** Análisis preliminar de alcaloides; primera parte (Fuente: Sanabria 1983)



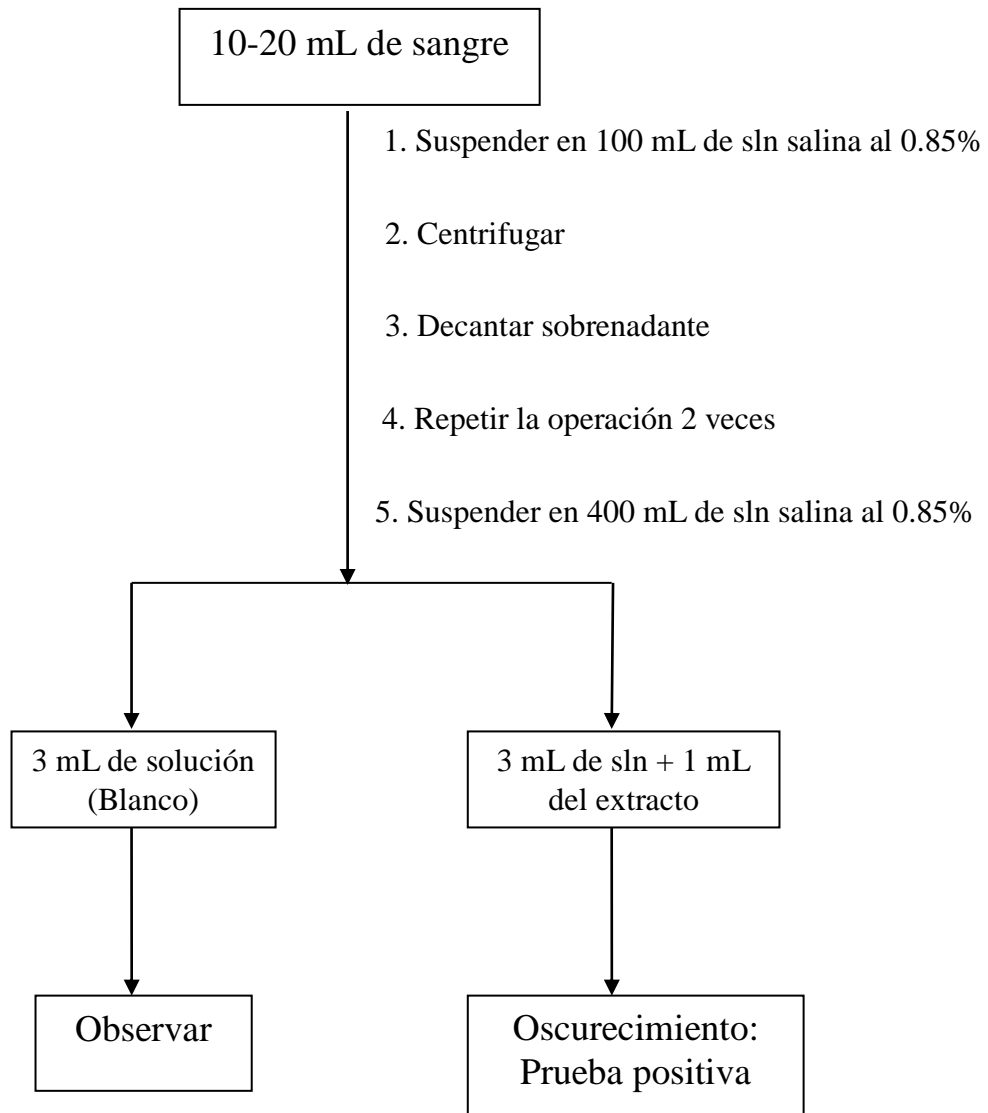
**Diagrama 3.** Análisis preliminar de alcaloides; segunda parte (Fuente: Sanabria 1983)



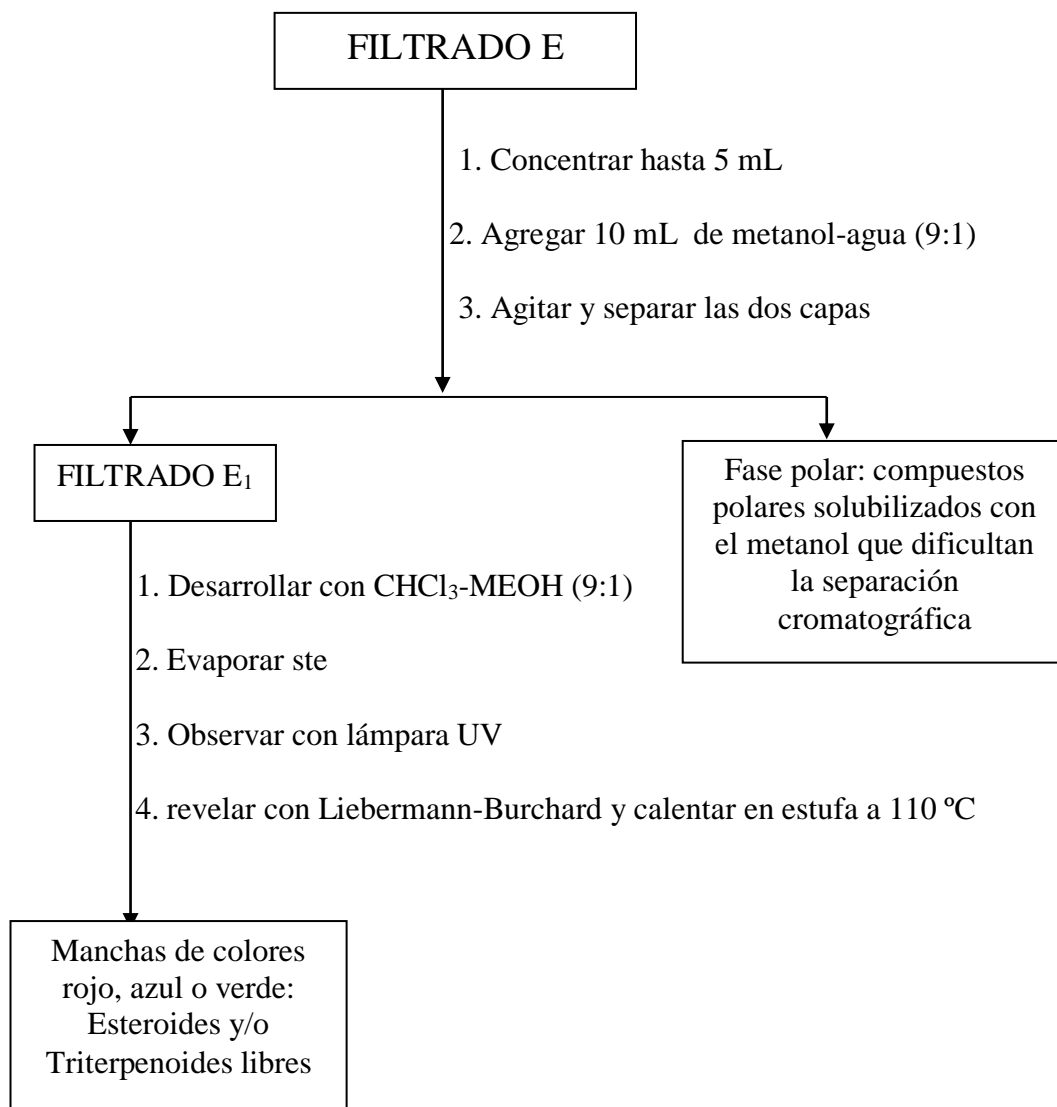
**Diagrama 4.** Análisis de Esteroides y/o Triterpenoides, Naftoquinonas y/o Antraquinonas, Taninos y Saponinas. (Fuente: Sanabria 1983)



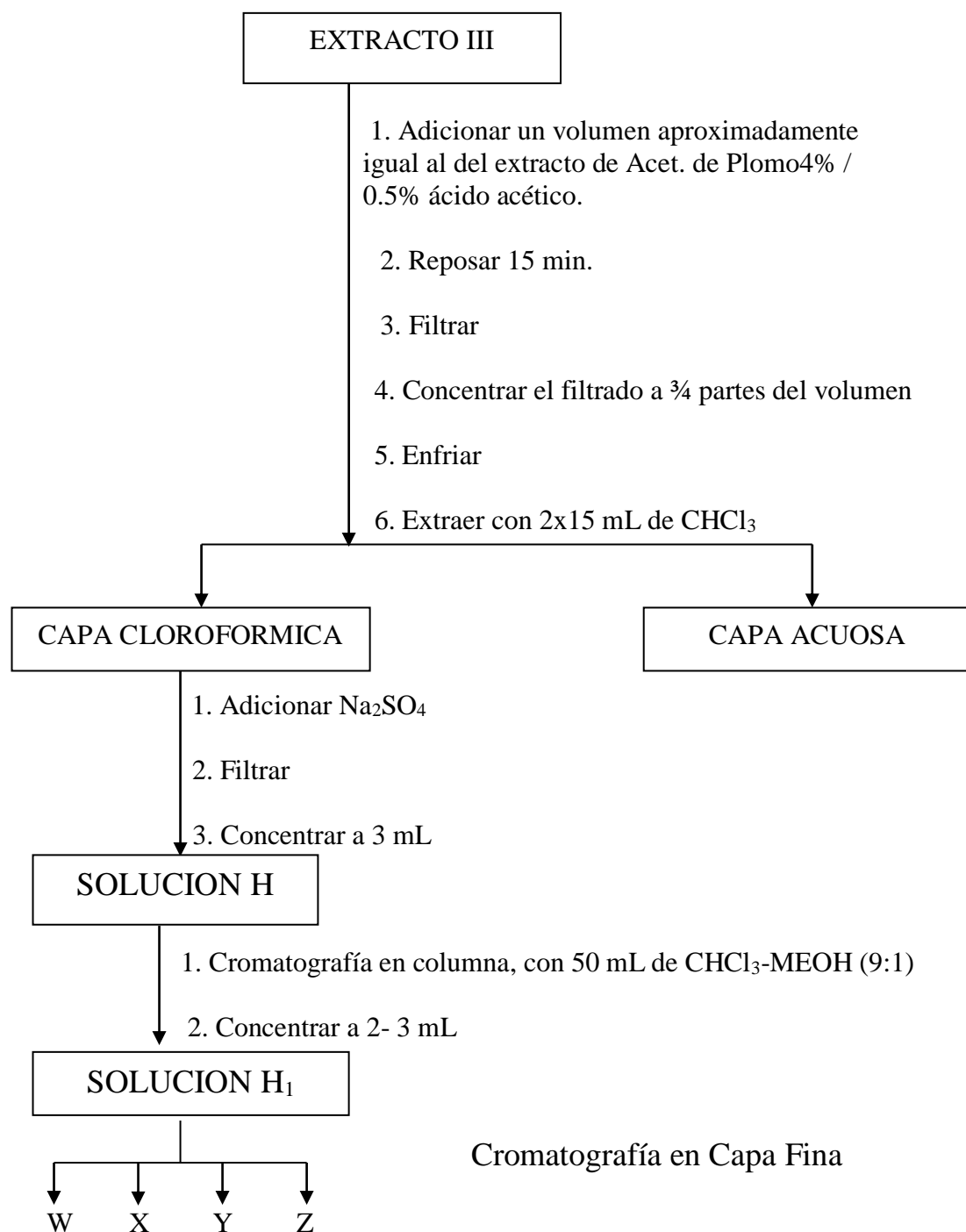
**Diagrama 5.** Análisis de Taninos y Saponinas (Fuente: Sanabria 1983)



**Diagrama 6.** Prueba de Hemólisis (Fuente: Sanabria 1983)

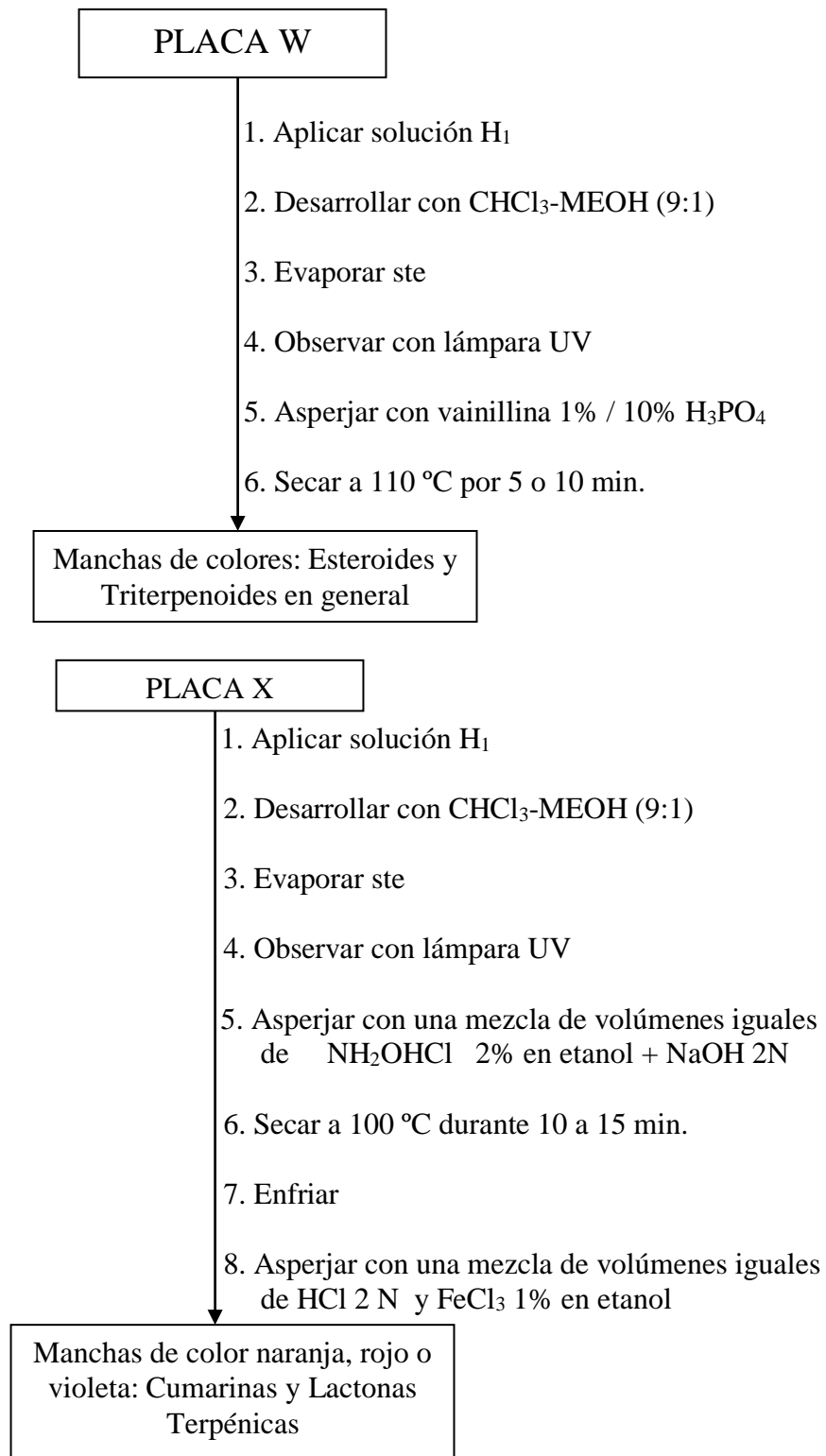


**Diagrama 7.** Análisis de Esteroides y/o Triterpenoides (Fuente: Sanabria 1983)



**Diagrama 8.** Análisis Preliminar de Cardiotónicos, Cumarinas y Lactonas Terpénicas (Fuente: Sanabria 1983)





**Diagrama 9.** Desarrollo de placas W y X (Fuente: Sanabria 1983)

PLACA Y

1. Aplicar solución H<sub>1</sub>
2. Desarrollar con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MEOH-HOH (87:12:1)
3. Evaporar ste
4. Observar con lámpara UV
5. Asperjar con una solución al 2% de ác. 3,5-dinitrobenzoico en metanol
6. Secar a T° ambiente
7. Asperjar con KOH 2N

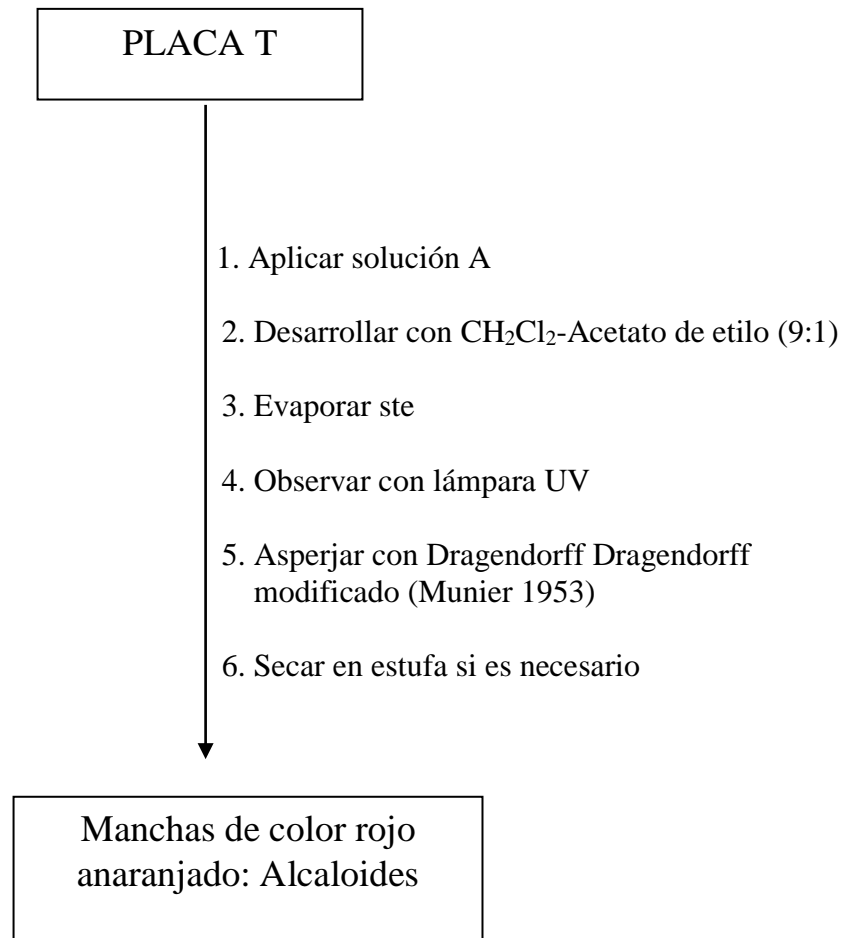
Manchas de color violeta: Cardenólidos  
y  $\gamma$ -lactonas  $\alpha\beta$  - insaturadas.

PLACA Z

1. Aplicar solución H<sub>1</sub>
2. Desarrollar con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MEOH-HOH (87:12:1)
3. Evaporar ste
4. Observar con lámpara UV
5. Asperjar con vainillina 1% / 10% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>
6. Secar a 110 °C por 5 o 10 min.

Color azul violáceo: Cardiotónicos  
Coloraciones rojas, rosas, violetas, azules, verdes;  
Esteroides y/o Triterpenoides

**Diagrama 10.** Desarrollo de placas Y y Z (Fuente: Sanabria 1983)



**Diagrama 11.** Desarrollo de la placa T

El filtrado que se utilizó como muestra para la placa T fue el filtrado A del análisis preliminar de alcaloides.

## **2.4 METODO PARA EL BIOENSAYO CON *Artemia salina* Leach**

1. Incubación de huevos para la obtención de larvas: 40 mg de huevos de *Artemia salina* Leach más 400 mL de NaCl al 3.7% en agua potable comercial (Manantial, Brisa, Caribe, etc.); la utilización de agua comercial en lugar de agua destilada se debe al bajo nivel de DO (Oxígeno Disuelto) en el agua destilada, la cual para su obtención es sometida a un fuerte proceso de destilación que elimina la mayor parte del oxígeno disuelto en ella; este cambio permite eliminar del procedimiento el suministro de aire a través de bombas. El recipiente se oscurece con papel carbón en su exterior y a las 48 horas a temperatura ambiente e iluminación constante las larvas de *Artemia salina* Leach son tomadas de a diez para someterlas a las diferentes concentraciones de los extractos.

2. Preparación de extractos y adición de larvas: Extracto crudo evaporado a sequedad en concentración de 1mg/mL. El solvente debe ser solución salina (NaCl al 3.7% en agua comercial); de esta solución se preparan ocho diluciones (6, 10, 24, 50, 100, 240, 500 y 1000 ppm) por cinco réplicas, paralelamente se preparan cinco blancos por dilución de extracto de la siguiente forma: se toman diez larvas en un vial y se completa el volumen de cada uno a cinco mililitros con solución salina.

3. Análisis estadístico, obtención de la DL50: Con los datos obtenidos se determina la DL50 con el 95% de confianza utilizando el método Probit.<sup>54</sup>

---

<sup>54</sup>OSORIO, Op. cit. p.110

### **3. RESULTADOS DE PRUEBAS FITOQUÍMICAS PRELIMINARES**

Para la lectura de los resultados debe tenerse en cuenta la siguiente simbología:

Presencia en concentración abundante del metabolito [+++]

Presencia en concentración moderada [++]

Presencia del metabolito en poca concentración [ + ]

Ausencia del metabolito [ - ]

Resultado dudoso en la prueba, falso positivo ( + )

Además de las pruebas propuestas por A. Sanabria para la identificación preliminar de metabolitos se realizaron otras pruebas con el fin de obtener una mayor confiabilidad en los resultados tales como: vapores de  $\text{NH}_4\text{OH}$  para flavonoides, Keller-Killiani para desoxiazúcares,  $\text{CoCl}_2$  para esteroides y triterpenoides, Baljet para glicósidos cardiotónicos y comportamiento de quinonas en medio ácido y básico.

### 3.1 HOJAS DEL FRUTILLO

**Tabla 3.** Resultados de Pruebas Fitoquímicas en Hojas

ALCALOIDES					
PRUEBA	HCl 5%	SOLUBLES CHCl <sub>3</sub>	SOLUBLES CHCl <sub>3</sub> -EtOH	ALCALOIDES FENOLICOS	AMONIO CUATERNARIO Y/O ÓXIDOS DE AMINAS
Dragen- dorff	+++	++	+++	++	+++
Mayer	+++	+	+++	+	+
Wagner	++	++	++	+	++
Valser	++	++	+	+	-

FLAVONOIDES	Shinoda	+++
	Vapores de NH <sub>4</sub> OH	++
	HCl 5%	++
QUINONAS	Börntrager	-
	Comp. Medio ácido	(+)
	Comp. Medio básico	+++
TANINOS	Gelatina - sal	+++
	FeCl <sub>3</sub>	+++
SAPONINAS	Hemólisis	+++
	Espuma	++
CARDIOTONICOS Y LACTONAS TERPENICAS	Baljet	-
	Kedde	-
DESOXIAZUCAR	Keller-Killiani	-
AZUCARES	Felhing	++
	Molish	++
	Tollens	+
CAROTENOIDES	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-
ESTEROIDES Y/O TRITERPENOIDES	CCD asperjada con Lieberman	+++
	CCD asperjada con CoCl <sub>2</sub> al 2% en H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 10%	+++

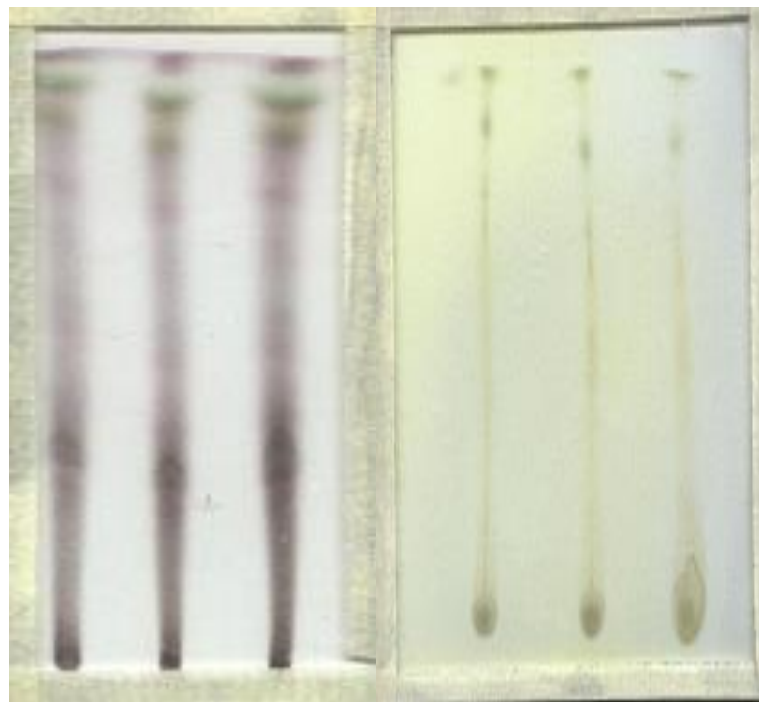


**Tabla 4.** Resultados de Pruebas Fitoquímicas en Hojas 1

CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA HOJAS						
	Presentó fluorescencia (manchas rosadas y verdes) bajo la luz UV	Placa w	Placa X	Placa Y	Placa Z	Placa T
CUMARINAS			-			
CARDIOTONICOS	Presentó fluorescencia (manchas rosadas y verdes) bajo la luz UV				+++	
LACTONAS TERPENICAS	Presentó fluorescencia (manchas rosadas y verdes) bajo la luz UV			-		
ESTEROIDES Y/O TRITERPENOIDE	Presentó fluorescencia (manchas rosadas y verdes) bajo la luz UV .Se observó una variedad de colores (verde, violeta, rojo, amarillo), el color que más sobresalió fue el violeta.	+++				
ALCALOIDES	Después de asperjar se observó manchas color rojo anaranjado					++

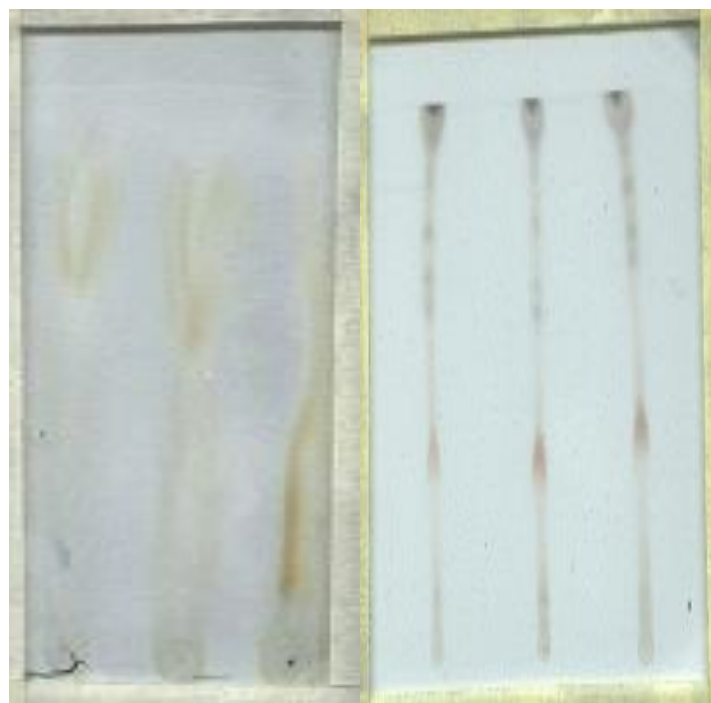
### 3.1.1 NOTAS DE HOJAS

- No se realizó la prueba para alcaloides de amonio cuaternario porque no se pudo conseguir el reactivo de Reineckato de amonio.
- Se utilizó como patrón para esteroides el colesterol (ver cromatografía asperjada con  $\text{CoCl}_2$  al 2% en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 10%), se toma como prueba positiva manchas azul-violetas.
- El eluente cloruro de metileno-metanol-agua (87:12:1) no logró separaciones efectivas, por lo cual se recurrió a otros solventes y se encontró que la mezcla cloroformo-metanol (9:1) producía mejores separaciones, por tal motivo éste fue el eluente que se utilizó para correr las placas Y y Z. Para la placa T el mejor eluente fue la mezcla Diclorometano-Acetato de etilo (9:1).



Vainillina

Dragendorff



Vapores de  $\text{NH}_4\text{OH}$

Liebermann-Burchard

**Figura 28.** Cromatografías de Hojas

### 3.2 FRUTOS DEL FRUTILLO

**Tabla 5.** Resultados de Pruebas Fitoquímicas en Frutos

<b>ALCALOIDES</b>	<b>SIN DESENGRASAR</b>	<b>DESENGRASADO</b>
<b>PRUEBA</b>	<b>HCl 5%</b>	<b>HCl 5%</b>
Dragendorf	-	-
Mayer	-	-
Wagner	-	-
Valsler	-	-

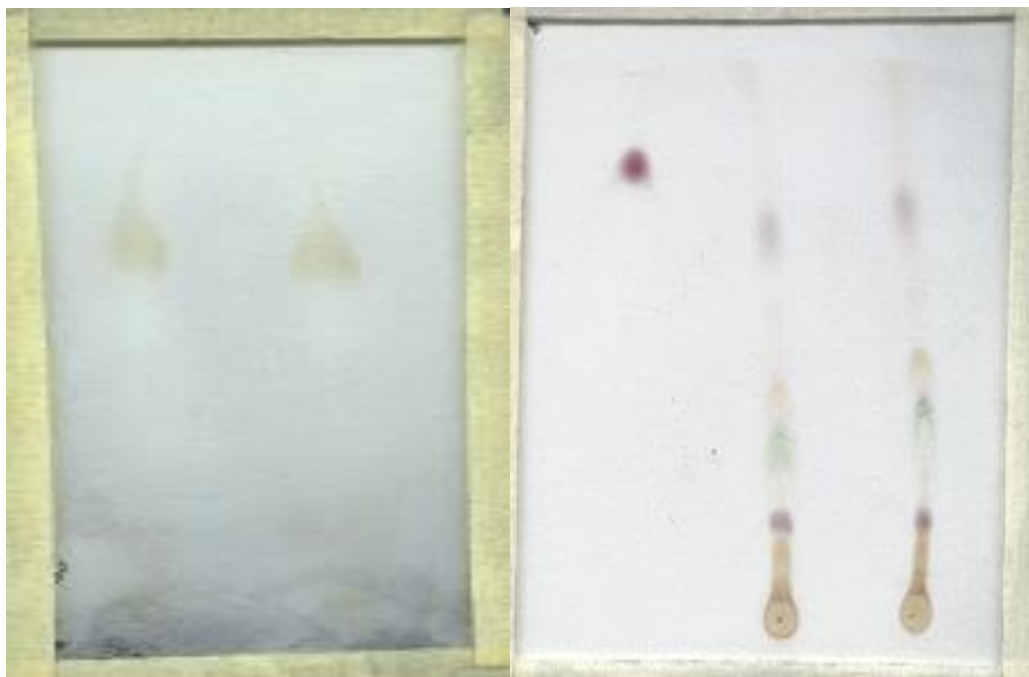
FLAVONOIDES	Shinoda	++
	Vapores de NH <sub>4</sub> OH	+
	HCl 5%	++
QUINONAS	Börntrager	-
	Comp. Medio ácido	-
	Comp. Medio básico	+++
TANINOS	Gelatina - sal	+++
	FeCl <sub>3</sub>	+++
SAPONINAS	Hemólisis	+++
	Espuma	+++
CARDIOTONICOS Y LACTONAS TERPENICAS	Baljet	-
	Kedde	-
DESOXIAZUCAR	Keller-Killiani	-
AZUCARES	Felhing	+++
	Molish	+++
	Tollens	++
CAROTENOIDES	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-
ESTEROIDES Y/O TRITERPENOIDES	CCD asperjada con Lieberman	+++
	CCD asperjada con CoCl <sub>2</sub> al 2% en H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 10%	+++

**Tabla 6.** Resultados de Pruebas Fitoquímicas en Frutos 1

CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA FRUTOS					
		Placa w	Placa x	Placa Y	Placa Z
CUMARINAS	Manchas rosadas		-		
CARDIOTONICOS	Manchas rosadas				+++
LACTONAS TERPENICAS	Manchas rosadas			-	
ESTEROIDES Y/O TRITERPENOIDES	Manchas rosadas	+++			

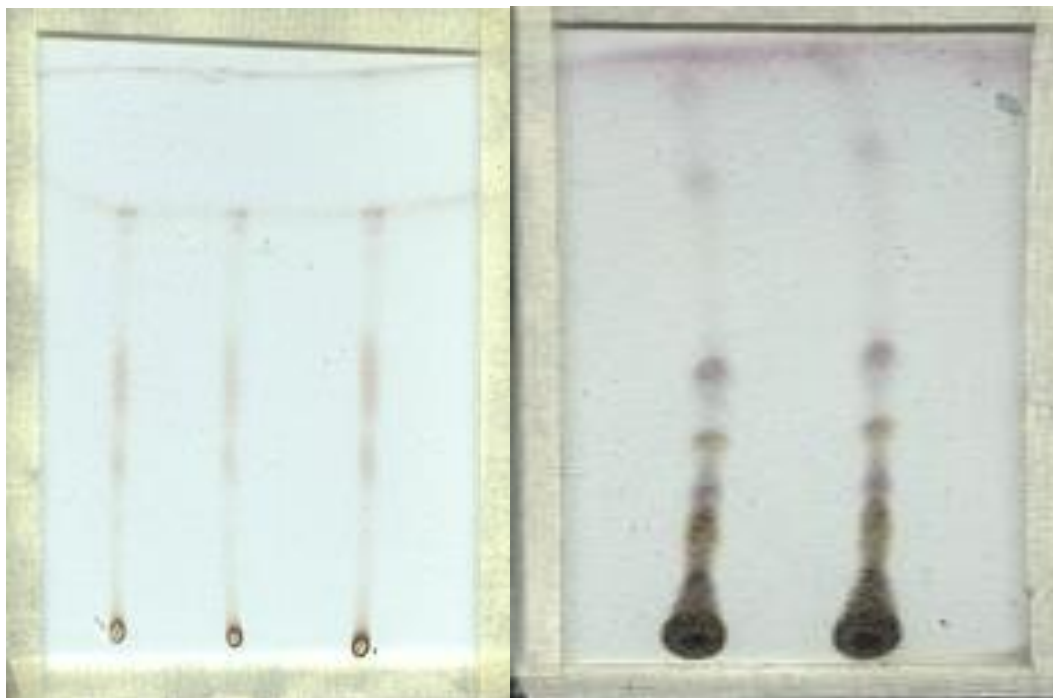
### 3.2.1 NOTA DE FRUTOS

El eluente cloruro de metileno-metanol-agua (87:12:1) no logró separaciones efectivas, por lo cual se recurrió a otros solventes y se encontró que la mezcla cloformo-metanol (9:1) producía mejores separaciones, por tal motivo éste fue el eluente que se utilizó para correr las placas Y y Z.



Vapores de  $\text{NH}_4\text{OH}$

$\text{CoCl}_2$



Liebermann-Burchard

Vainillina

**Figura 29.** Cromatografías de Frutos

## **4. ANÁLISIS DE RESULTADOS FITOQUÍMICOS**

### **4.1 TANINOS**

Este metabolito se presenta en abundancia en hojas y frutos. El tanino sería derivado del ácido protocatéquico por el color verde que se observó.<sup>55</sup>

### **4.2 QUINONAS**

En las hojas y frutos se obtienen resultados positivos para quinonas reducidas. Estas quinonas reducidas se presentan en abundancia.

### **4.3 FLAVONOIDES**

De acuerdo a los resultados obtenidos hay presencia abundante de flavonoides en hojas y moderada en frutos. Por las pruebas realizadas estos flavonoides pueden ser leucoantocianidinas y flavonoides con el núcleo  $\gamma$ -benzopirona.

### **4.4 ALCALOIDES**

Existe una gran cantidad de metabolitos y estructuras que producen interferencias en el análisis de alcaloides. Estos compuestos son aminoácidos, proteínas, compuestos con grupos carbonilo  $\alpha$ - $\beta$  insaturados, entre otros.<sup>56</sup>

---

<sup>55</sup>BILBAO, Op. cit. 33

<sup>56</sup>SANABRIA, Op. cit. 18



El método propuesto por A. Sanabria para la identificación de alcaloides ayuda a disminuir estas interferencias; por tal motivo este método ofrece resultados más confiables. La literatura reporta que la familia Solanaceae contiene alcaloides.<sup>57</sup> Teniendo en cuenta esto y los resultados obtenidos hay presencia abundante de alcaloides en las hojas de esta especie.

En el fruto no hay presencia de alcaloides.

#### **4.5 ESTEROIDES Y/O TRITERPENOIDES**

Este metabolito se presenta en abundancia en hojas y frutos.

#### **4.6 SAPONINAS**

La literatura reporta que algunas especies del género *Solanum* (ver composición química y dotación farmacológica) contienen saponinas. De acuerdo a esto y a los resultados las saponinas están presentes en abundancia en hojas y frutos. Estas saponinas podrían ser triterpénicas por pertenecer a la especie *Solanum stellatiglandulosum* Bitter a la clase de las dicotiledóneas<sup>58</sup> y por la ausencia de las bandas características del sistema espirostanos (ver análisis de espectros IR).

#### **4.7 GLICÓSIDOS CARDIOTÓNICOS**

A pesar de que las pruebas con el reactivo vainillina-ácido ortofosfórico dieron positivas (esta prueba no es específica para cardiotónicos) se

---

<sup>57</sup>DR. P. FONT, Op. cit. p.562

<sup>58</sup>GIRARDO, Op. cit. 14

descarta la presencia de este metabolito en las hojas y frutos ya que las pruebas para reconocer el anillo lactónico y el desoxiazúcar dieron negativas.

#### **4.8 CUMARINAS**

Aunque la prueba del hidroxamato férrico dió negativa no descartamos la posibilidad de la existencia de este metabolito en las hojas y frutos ya que se observó fluorescencia (manchas rosadas y verdes) bajo la luz ultravioleta y según reporta la literatura las cumarinas presentan fluorescencia (azul o verde) bajo la luz ultravioleta.<sup>59</sup>

#### **4.9 LACTONAS TERPÉNICAS**

Se descarta la presencia de este metabolito en hojas y frutos.

#### **4.10 CAROTENOIDES**

No hay presencia de este metabolito ni en hojas ni en frutos.

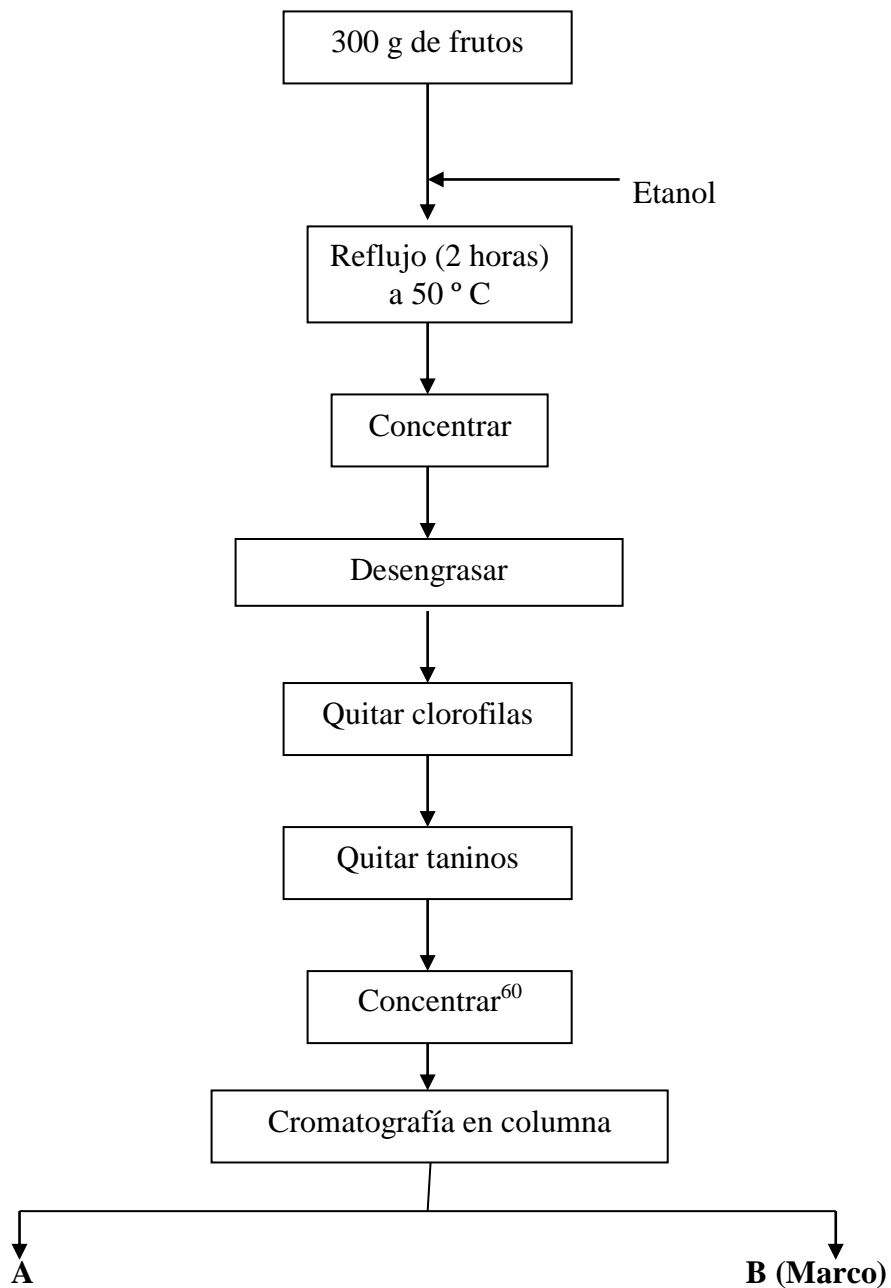
#### **4.11 AZÚCARES**

Hay presencia abundante de azúcares en los frutos y moderada en las hojas. Por las pruebas de Tollens y Fehling hay presencia de aldosas y cetosas.

---

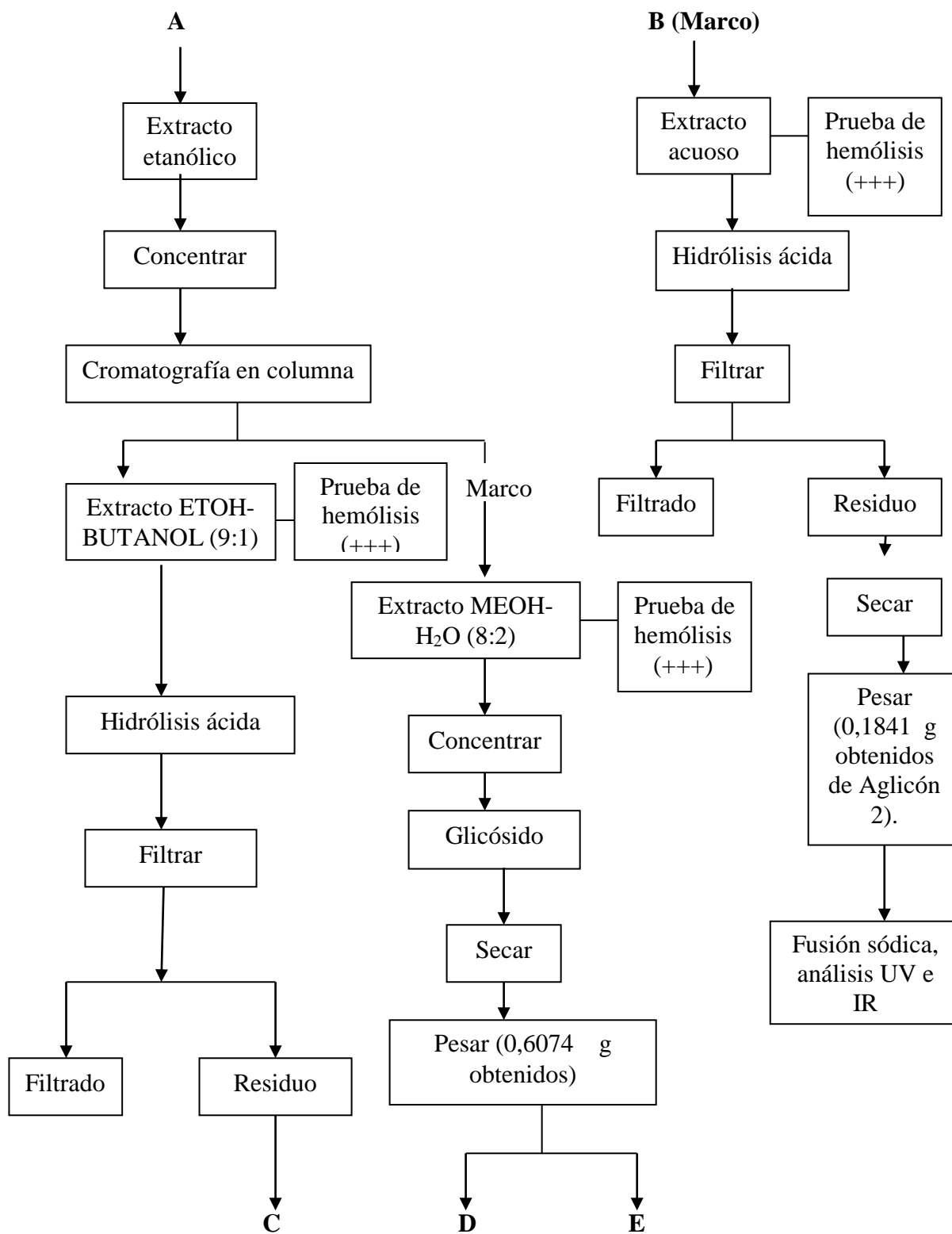
<sup>59</sup>SANABRIA, Op. cit. 84

## 5. PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE LA SAPONINA Y SAPOGENINAS

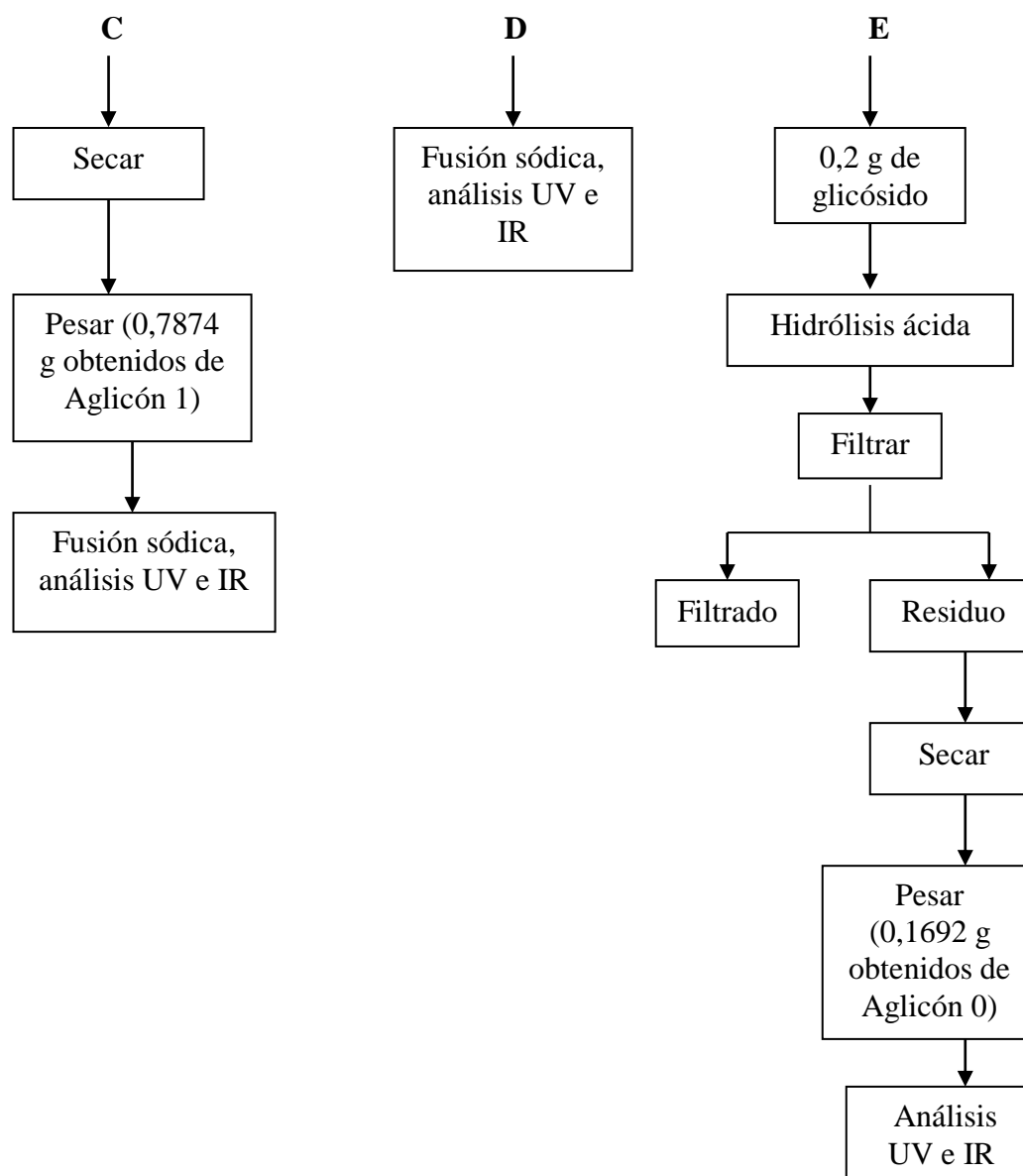


**Diagrama 12.** Obtención de la saponina y las sapogeninas; primera parte.

<sup>60</sup>DOMINGUEZ, Op. cit. p.152



**Diagrama 13.** Obtención de la saponina y las saponinas; Segunda parte.

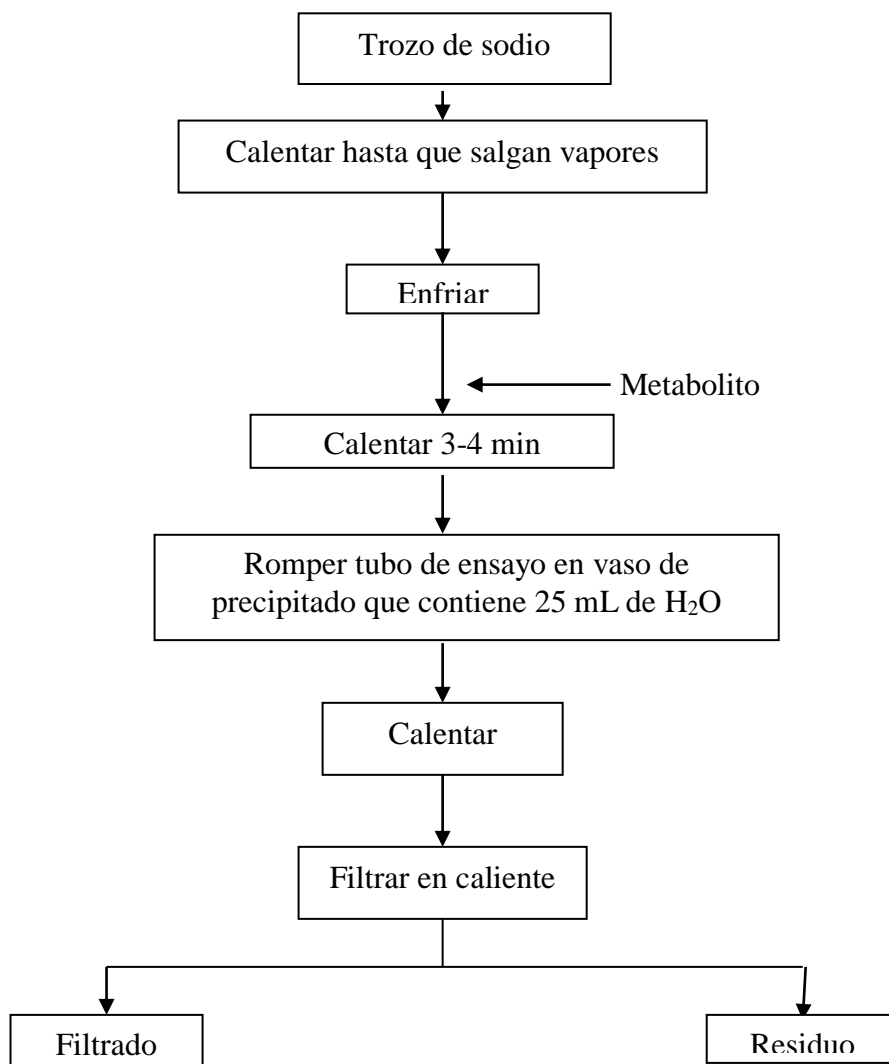


**Diagrama 14.** Obtención de la saponina y las sapogeninas; Tercera parte

Se esperó un mes para obtener un precipitado (la saponina) en el extracto metanol-agua (8:2); en los otros dos extractos el precipitado no se formó a pesar de que los tres extractos se sometieron a las mismas condiciones por tal motivo se procedió hacer la hidrólisis ácida de éstos para ver si de esta manera se podían obtener precipitados (las sapogeninas).

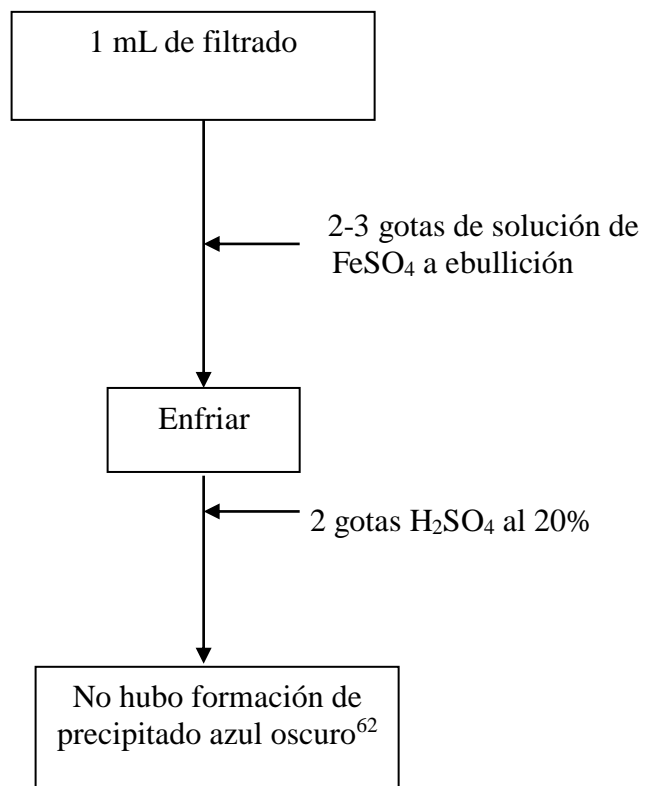
## 5.1 FUSIÓN SÓDICA

Algunas especies del género *Solanum* poseen alcaloides, como la solasonina, que se comportan como saponinas<sup>61</sup>. Esto podría ocurrir, motivo por el cual se procedió a una fusión sódica y comprobar si los metabolitos obtenidos tenían en su estructura nitrógeno.



**Diagrama 15.** Fusión sódica; primera parte

<sup>61</sup><http://bilbo.edu.uy/~planta/Cursos/material/saponinas.pdf>

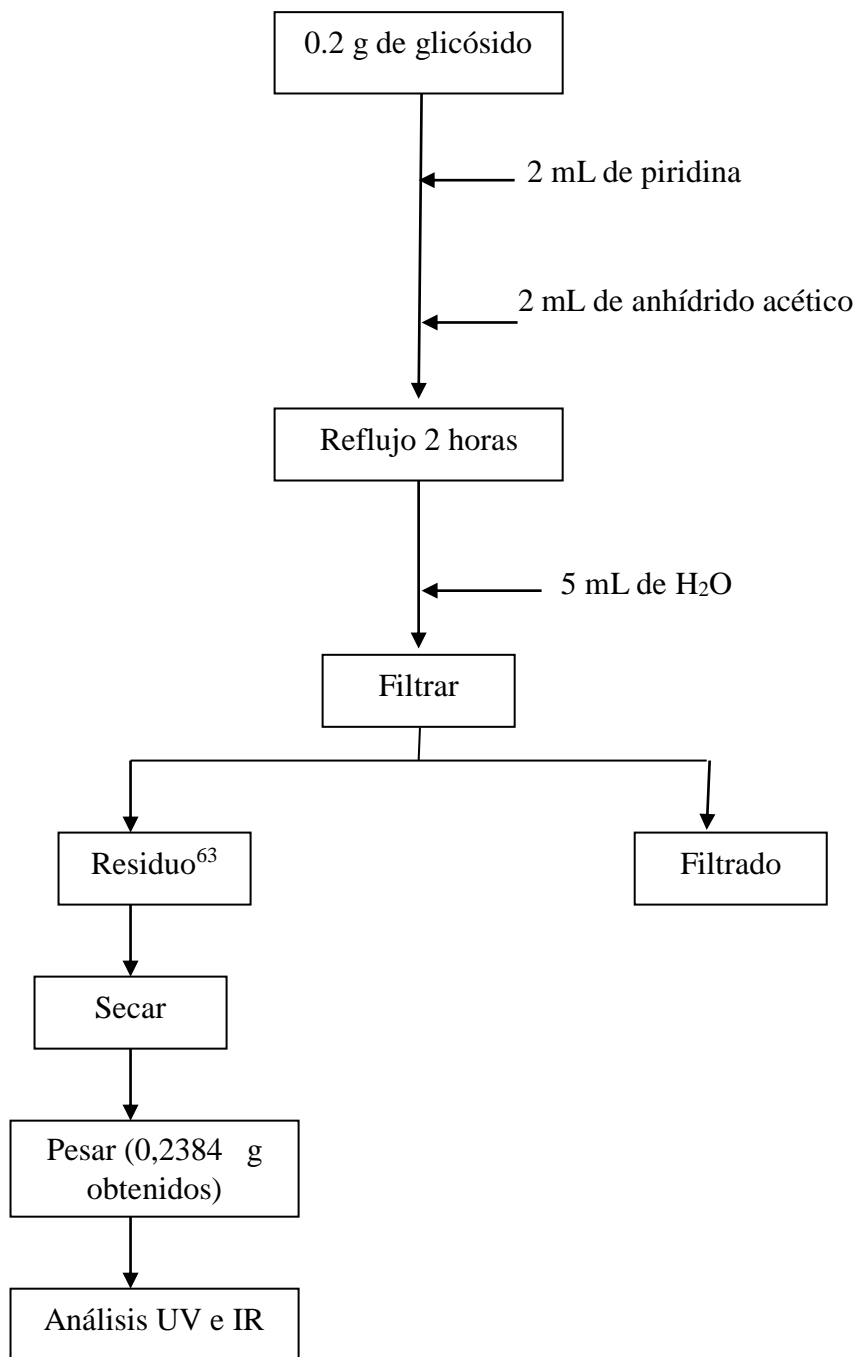


**Diagrama 16.** Fusión sódica; segunda parte

---

<sup>62</sup>VILLA, Rojas Jais Nover. Manual de Análisis Orgánico. Universidad del Quindío. 1995. p.100-101

## 5.2 OBTENCIÓN DEL DERIVADO



**Diagrama 17.** Obtención del Derivado

<sup>63</sup>DOMINGUEZ, Op. cit. p.152



### 5.3 SOLUBILIDADES DE LOS METABOLITOS

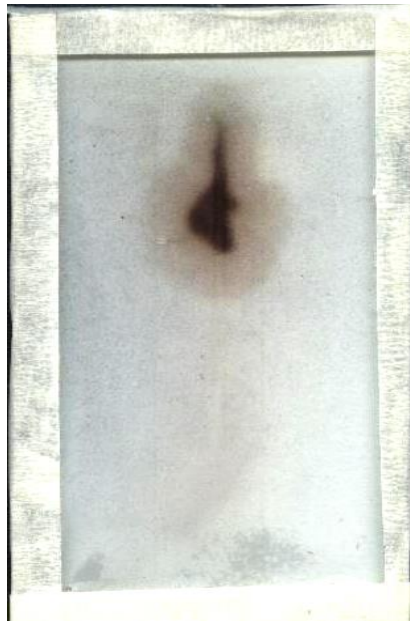
**Tabla 7.** Solubilidades de los metabolitos

Solvente	Glicósido	Aglicón 0	Aglicón 1	Aglicón 2
Agua	+	-	-	-
Metanol	-	+	-	+
Etanol	-	+	+	+
DMSO (Dimetilsufóxido)	+	+	+	+
Acetato de amilo	-	-	-	-
Acetona	-	±	±	-
Diclorometano	-	-	-	-
Cloroformo	-	-	-	-

## 5.4 PRUEBAS ADICIONALES

**Tabla 8.** Pruebas adicionales Glicósido

<b>Prueba</b>	<b>Glicósido</b>
2,4 Dinitrofenilhidracina	negativo
Vainillina	positivo
Solubilidad	Clasificación S <sub>2</sub> *



Vainillina

**Tabla 9.** Pruebas adicionales Aglicón 0

<b>Prueba</b>	<b>Aglicón 0</b>
2,4 Dinitrofenilhidracina	positivo
Lucas	Positivo (alcoholes terciarios y secundarios)
Tollens	negativo

**Tabla 10.** Pruebas adicionales Aglicón 2

<b>Prueba</b>	<b>Aglicón 2</b>
Lucas	Positivo (alcoholes terciarios y secundarios)
Solubilidad	Clasificación N**

\***S<sub>2</sub>**: compuestos solubles en agua, pero insolubles en éter. Comprende sales solubles en agua, compuestos polihidroxilados, ácidos policarboxílicos, hidroxiácidos, polihidrofenoles y carbohidratos simples.

\*\***N**: alcoholes, aldehídos y cetonas, ésteres, éteres, hidrocarburos insaturados y algunos aromáticos, acetales, anhídridos, lactonas, polihidroalcoholes, fenoles de alto peso molecular.<sup>64</sup>

---

<sup>64</sup>CARDENAS B, France E. Manual de prácticas de análisis orgánico I y II. Universidad del Quindío. Facultad de Educación. Tecnología en productos vegetales. 1990. p.90.

## 5.5 NOTAS DE LAS PRUEBAS ADICIONALES

- Al Aglicón 1 no se le pudieron hacer pruebas adicionales porque ya no se tenía más muestra.
- Estas pruebas adicionales se hicieron con el fin de tener apoyos en la interpretación del espectro IR.

## 5.6 RENDIMIENTO

**Tabla 11.** Rendimiento

Metabolitos obtenidos	Rendimiento
Glicósido	0,2025 %
Aglicón 0	0,0564 %
Aglicón 1	0,2625 %
Aglicón 2	0,0614 %

Estos rendimientos son en función de los g ramos utilizados para la obtención de los metabolitos (ver pág 74).

## 6. ANÁLISIS INSTRUMENTAL DE LOS METABOLITOS OBTENIDOS

### 6.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

Estos espectros fueron realizados en la Universidad del Valle y en la Universidad del Tolima.

Como no se pudo conseguir el espectro infrarrojo de una saponina triterpénica para que sirviera como punto de comparación, se optó por consultar los valores de las vibraciones de saponinas y compuestos triterpénicos reportados en la revista *Journal of Natural Products*.<sup>65, 66, 67, 68, 69, 70</sup>

---

<sup>65</sup>WATANABE Kazuki. *Journal of natural products*. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 66. Number 6. p. 881. 2003.

<sup>66</sup>TAPONDJOU, Leon A. *Journal of natural products*. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 66. Number 9. p. 1268. 2003.

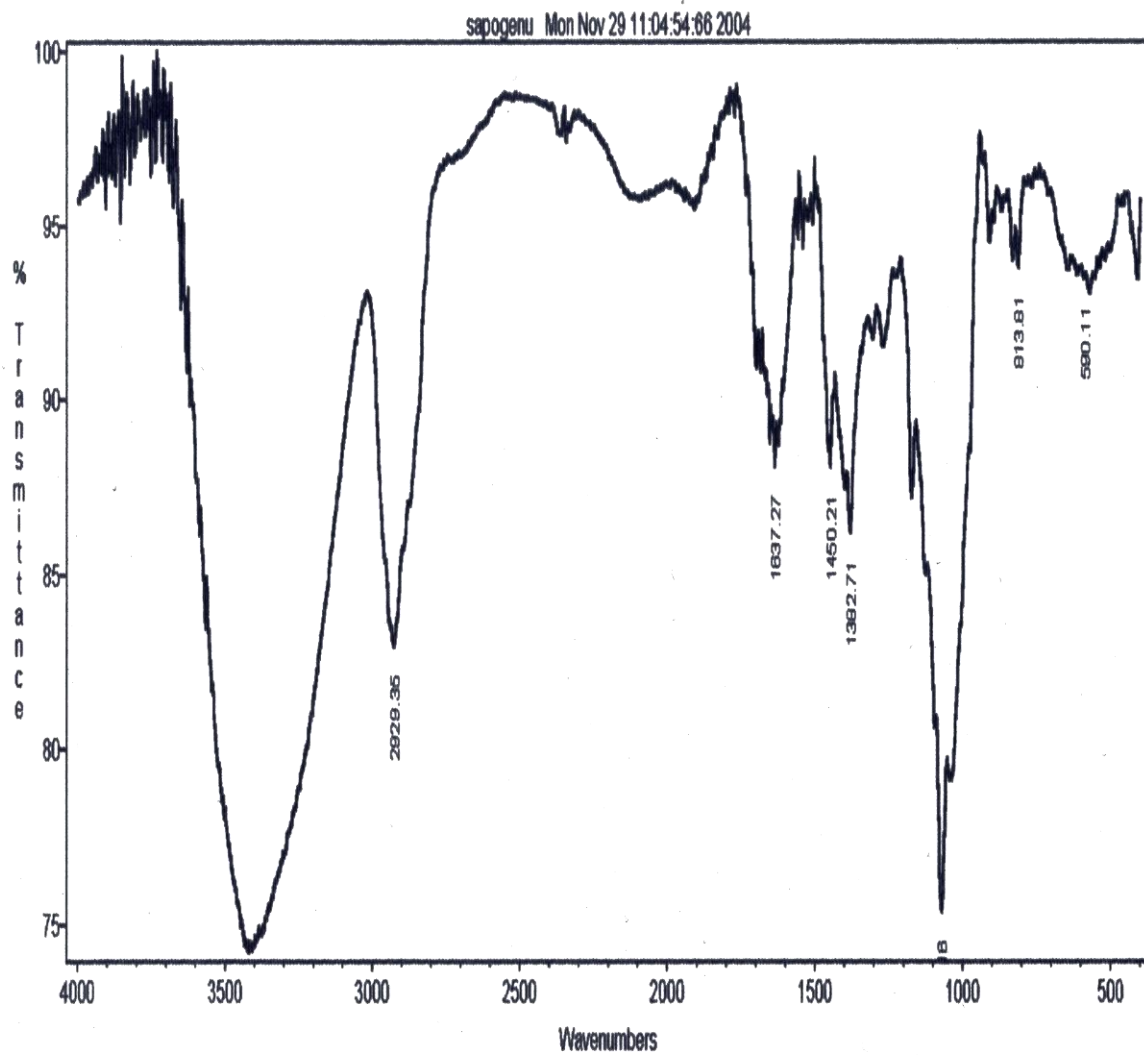
<sup>67</sup>SHIN, Myoung H. *Journal of natural products*. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 66. Number 10. p. 1354-1355. 2003.

<sup>68</sup>CHANG, Chi-I. *Journal of natural products*. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 67. Number 1. p. 91-93. 2004.

<sup>69</sup>ITO, Aiko. *Journal of natural products*. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 67. Number 2. p. 203-204. 2004.

<sup>70</sup>OHSAKI, Ayumi. *Journal of natural products*. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 67. Number 3. p. 470-471. 2004.

### 6.1.1 Análisis de bandas para el Glicósido



**Peak Report**

File: C:\FIRST\DATA\GALAXY\SAPOGENU.RAS

Title: sapogenu Mon Nov 29 11:04:54:66 2004

Filter: None

cm-1	%T	cm-1	%T	cm-1	%T
3413.40	74.3000	1074.16	75.4243	2929.35	82.9959
1382.71	86.2652	1637.27	88.1110	1450.21	88.1546
590.11	93.5337	813.81	93.8644		

**Figura 30.** Espectro IR del Glicósido

**Banda en 3413.40 cm<sup>-1</sup>**

Por la forma e intensidad esta banda corresponde a tensiones O-H de alcoholes.

**Banda en 1074.16 cm<sup>-1</sup>**

Esta banda corresponde a las tensiones C-O de alcoholes y por el valor de la frecuencia se puede tratar de un hidroxilo cíclico.

**Banda en 2929.35 cm<sup>-1</sup>**

Esta absorción corresponde a la tensión =C-H de olefina. Se descarta que sea tensión Ar-H ya que no se observan en el espectro las otras vibraciones que acompañan a los aromáticos como por ejemplo las vibraciones de deformación del C-H que aparecen entre los 900-675 cm<sup>-1</sup> y son las bandas más fuertes del espectro.<sup>71</sup>

**Banda en 1637.27 cm<sup>-1</sup>**

Esta banda corresponde a las vibraciones tensiones C=C de olefina la cual es coherente con la banda observada a los 2929.35 cm<sup>-1</sup>.

---

<sup>71</sup>SILVERSTEIN, BASSLER, MORRIL. - Spectrometric Identification of Organic Compounds. Fifth Edition. 1991. p.108-109.

### **Banda en 1450.21cm<sup>-1</sup> y 1382.71cm<sup>-1</sup>**

La banda a los 1382.71cm<sup>-1</sup> corresponde a la vibración de deformación simétrica C-H del grupo metilo y la banda a los 1450.21cm<sup>-1</sup> es la vibración de deformación asimétrica.<sup>72</sup>

### **Banda en 813.81cm<sup>-1</sup>**

Corresponde a vibraciones tensiones C-C de cicloalcanos, las cuales son débiles de acuerdo a lo que se observa en el espectro.

## **6.1.2 Análisis de bandas para los Aglicones**

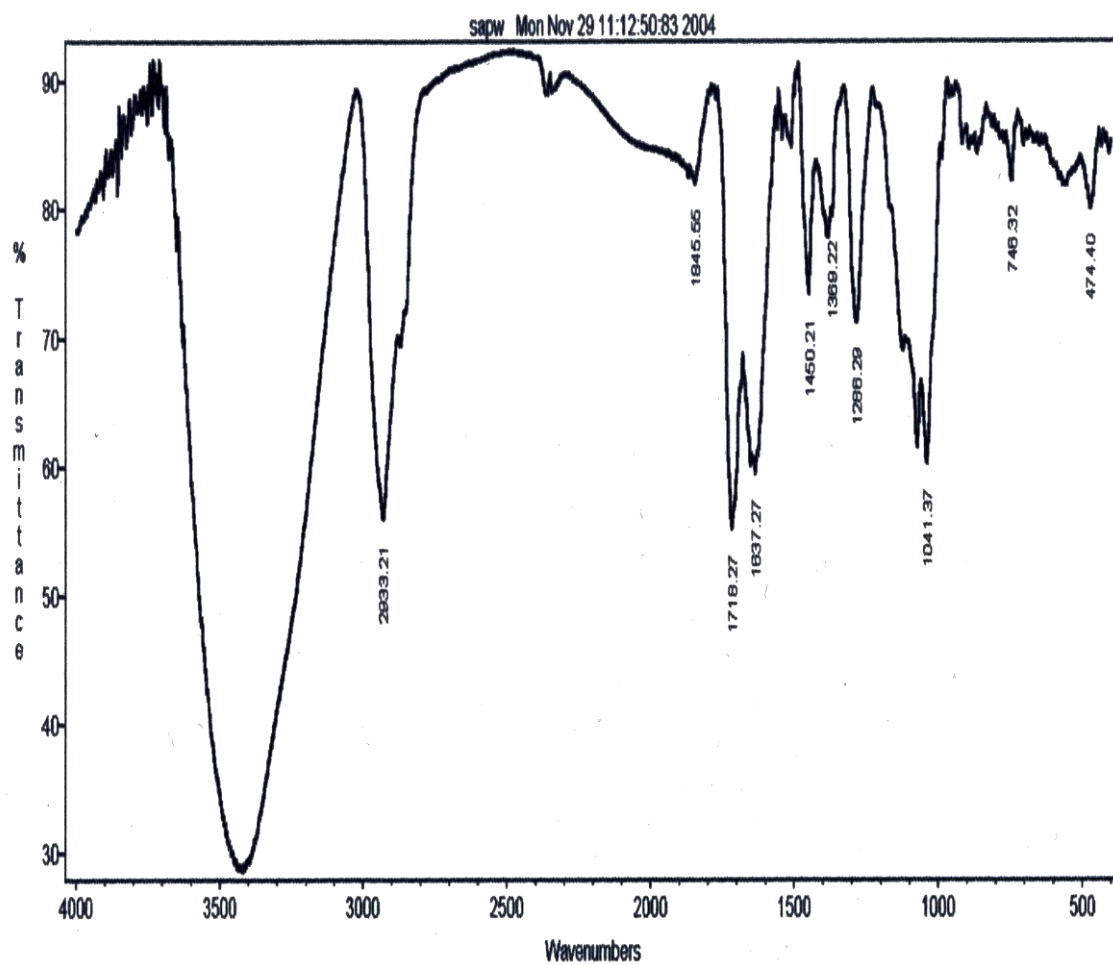
Ya que los espectros de estos compuestos presentan bandas similares a las del glicósido sólo se hará reseña a las variaciones que aparezcan en éstos.

---

<sup>72</sup>ORTEGA, López Juan y BLANCO, Fernández Manuel. Identificación de compuestos orgánicos por espectroscopia infrarroja. Madrid Centro de estudios y experimentación de obras públicas. 1982. p.31



### 6.1.2.1 Aglicón 0:



**Peak Report**

File: C:\FIRST\DATA\GALAXY\SAPW.RAS

Title: sapw Mon Nov 29 11:12:50:83 2004

Filter: None

cm-1	%T	cm-1	%T	cm-1	%T
3421.12	28.7700	1718.27	55.2363	2933.21	56.0835
1637.27	59.6273	1041.37	60.3862	1286.29	71.3469
1450.21	73.6411	1369.22	79.6665	474.40	80.2263
1845.55	82.0741	746.32	82.3448		

**Figura 31.** Espectro IR del Aglicón 0

**Banda en 1845.55 cm<sup>-1</sup>**

Corresponde a la banda armónica de flexión en el plano =C-H de olefinas.

**Banda en 1286.29 cm<sup>-1</sup>**

Corresponde a las vibraciones de flexión en el plano del C-H olefínico.

**Banda en 1041.37 cm<sup>-1</sup>**

Esta banda corresponde a las tensiones C-O de alcoholes, éstos alcoholes podrían ser terciarios o secundarios por la prueba de Lucas (ver página 82).

**Banda en 746.32 cm<sup>-1</sup>**

Corresponde a las vibraciones de deformación C-H del metilo.

**Banda en 474.40 cm<sup>-1</sup>**

Esta absorción corresponde a las vibraciones de deformación C-C, las cuales ocurren a frecuencias inferiores a 500cm<sup>-1</sup>, según se reporta en la literatura<sup>73</sup> y esto es lo que se observa en el espectro.

---

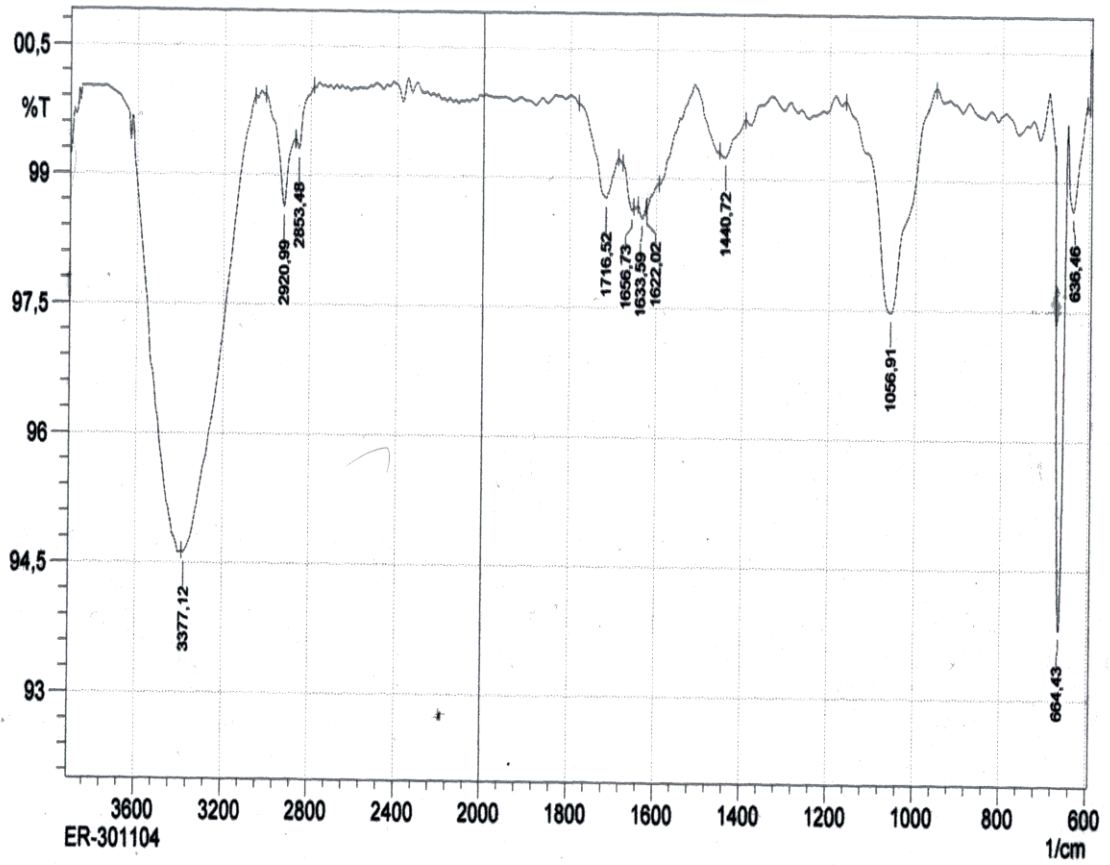
<sup>73</sup>ZULUAGA, Corrales Fabio; YATES, Brian y INSUASTY, Obando Braulio. Análisis Orgánico Clásico y Espectral. Universidad del Valle. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Santiago de Cali. 2000. p.83

### **Banda en 1718.27 cm<sup>-1</sup>**

El aglicón durante la hidrólisis y/o almacenamiento o manipulamiento se pudo haber oxidado levemente y probablemente se presente algo de cetona (a pesar de la mediana intensidad de la señal, para la cual la esperaríamos mayor, aunque también depende de la concentración en que se encuentre), lo cual explicaría la señal a los 1718.27 cm<sup>-1</sup>, la presencia de este grupo carbonilo se apoya con la prueba de la 2,4 dinitrofenilhidrazina la cual fue positiva.

### 6.1.2.2. Aglicón 1

 Departamento de Química  
Universidad del Valle



Analista: Luis Eduardo Hurtado

FECHA: 01/12/2004

APODIZATION:

SCANS:

RESOLUCION:

Figura 32. Espectro IR del Aglicón 1

**Banda en 2853.48 cm<sup>-1</sup>**

Esta banda se debe a tensiones de los enlaces C-H de los metilos y metilenos.

**Banda entre 1656.73-1622.02 cm<sup>-1</sup>**

Esta banda corresponde a las vibraciones de tensión C=C de olefina.

**Banda en 1440.72 cm<sup>-1</sup>**

Corresponde a la vibración de flexión del C-H del metileno.

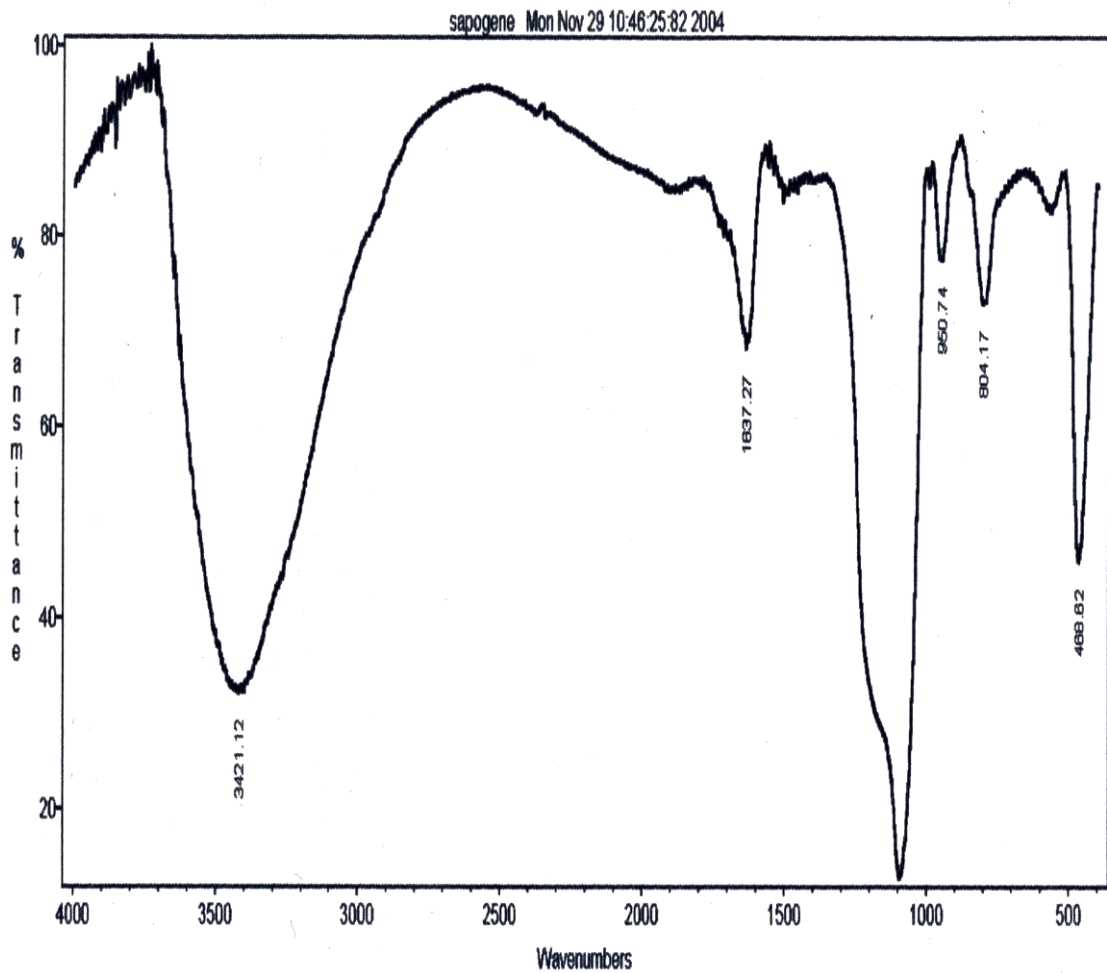
**Banda en 664.43 y 636.46cm<sup>-1</sup>**

Corresponden a las vibraciones de flexión fuera del plano de los enlaces C-H olefínicos.

**Banda en 1716.52 cm<sup>-1</sup>**

El aglicón durante la hidrólisis y/o almacenamiento o manipulamiento se pudo haber oxidado levemente y es posible que se presente algo de cetona (a pesar de la mediana intensidad de la señal, para la cual la esperaríamos mayor, aunque también depende de la concentración en que se encuentre), lo cual explicaría la señal a 1716.52 cm<sup>-1</sup>

### 6.1.2.3 Aglicón 2



Peak Report

File: C:\FIRST\DATA\GALAXY\SAPOGENE.RAS

Title: sapogene Mon Nov 29 10:46:25:82 2004

Filter: None

cm-1	%T	cm-1	%T	cm-1	%T
1095.37	13.0410	3421.12	32.3315	468.62	46.1315
1637.27	68.4680	804.17	73.1823	950.74	77.7535

**Figura 33.** Espectro IR del Aglicón 2

**Banda en 1095.37 cm<sup>-1</sup>**

Esta banda corresponde a las tensiones C-O de alcoholes, éstos alcoholes podrían ser terciarios o secundarios por la prueba de Lucas (ver página 82).

**Banda en 950.74 y 804.17cm<sup>-1</sup>**

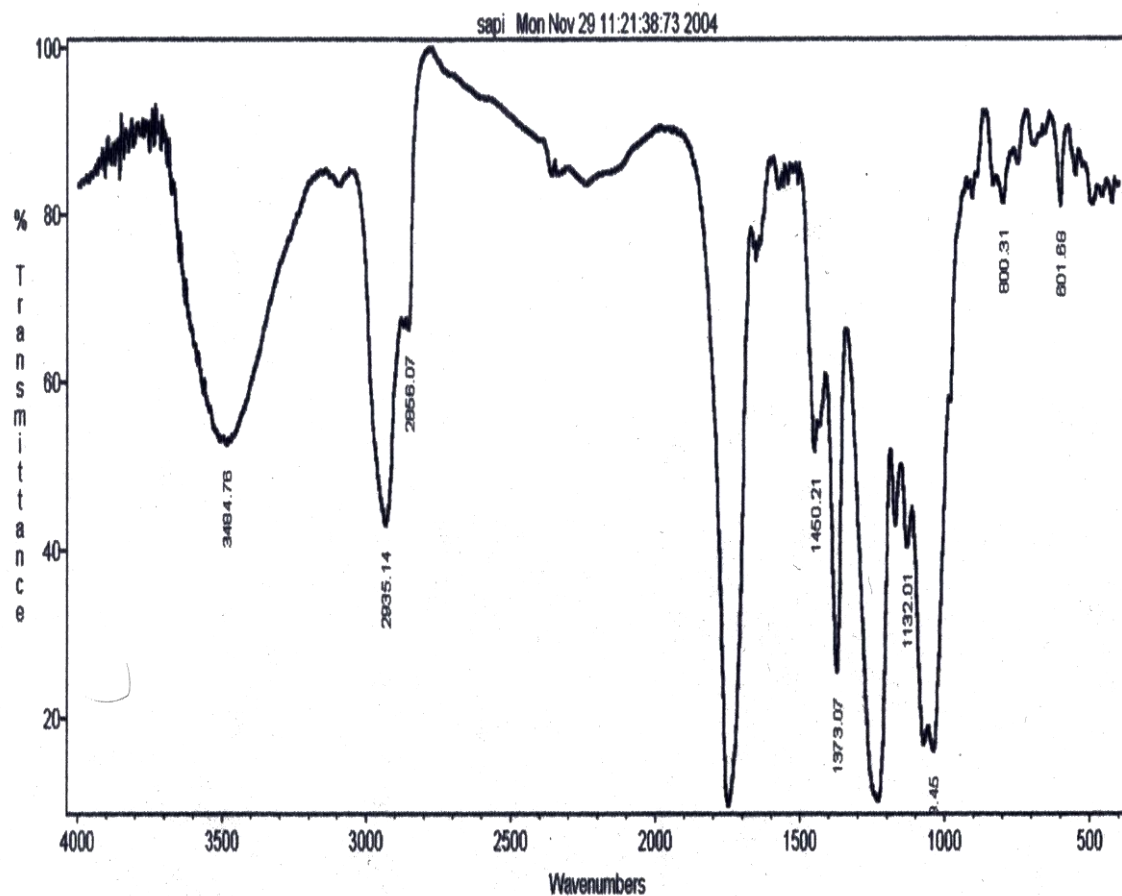
Estas absorciones se deben a las tensiones C-C de cicloalcanos, los cuales son débiles de acuerdo a lo que se observa en el espectro.

**Banda en 468.62 cm<sup>-1</sup>**

Esta banda corresponde a las vibraciones de deformación de C-C.

### 6.1.3 Análisis de bandas para el Derivado del Glicósido

Igual que para el análisis de los aglicones aquí sólo se hace reseña de las variaciones que aparecen con respecto al glicósido.



#### Peak Report

File: c:\first\data\galaxy\sapi.ras

Title: sapi Mon Nov 29 11:21:38:73 2004

Filter: None

cm-1	%T	cm-1	%T	cm-1	%T
1749.13	9.7661	1234.22	10.2937	1039.45	16.2774
1373.07	25.6347	1132.01	40.6394	2935.14	43.1718
1450.21	51.9150	3484.76	52.8172	2856.07	66.3932
801.68	81.2517	800.31	81.5478		

Figura 34. Espectro IR del Derivado del Glicósido



### **Banda en 2856.07 cm<sup>-1</sup>**

Esta banda se debe a tensiones de los enlaces C-H de los metilos y los metilenos.

### **Banda en 1749.13 cm<sup>-1</sup>**

Esta banda corresponde a la tensión C=O de un grupo éster según reporta la literatura de estos temas.<sup>74</sup>

### **Banda en 1234.22 y 1132.01 cm<sup>-1</sup>**

La absorción a los 1234.22 cm<sup>-1</sup> corresponde a la tensión asimétrica de la tensión C-O-C y la absorción a los 1132.01 cm<sup>-1</sup> es la tensión simétrica. De estas dos absorciones la primera es la más importante. De allí que se observe que ésta haya sido la más intensa.

Posiblemente los metabolitos obtenidos sería una saponina y sapogeninas triterpénicas ya que las bandas observadas en los espectros IR de éstos coinciden con las bandas que presentan algunas saponinas y/o estructuras pentacíclicas<sup>75</sup>, además no se observan las bandas típicas de la cadena espiroacetal para saponinas y sapogeninas esteroidales<sup>76</sup> y por pertenecer

---

<sup>74</sup>AVRAM, Margareta. Infrared Spectroscopy. Wiley-Intercience. A Division of John Wiley & Sons. New York. London. Sydney. Toronto. 1992 p.421

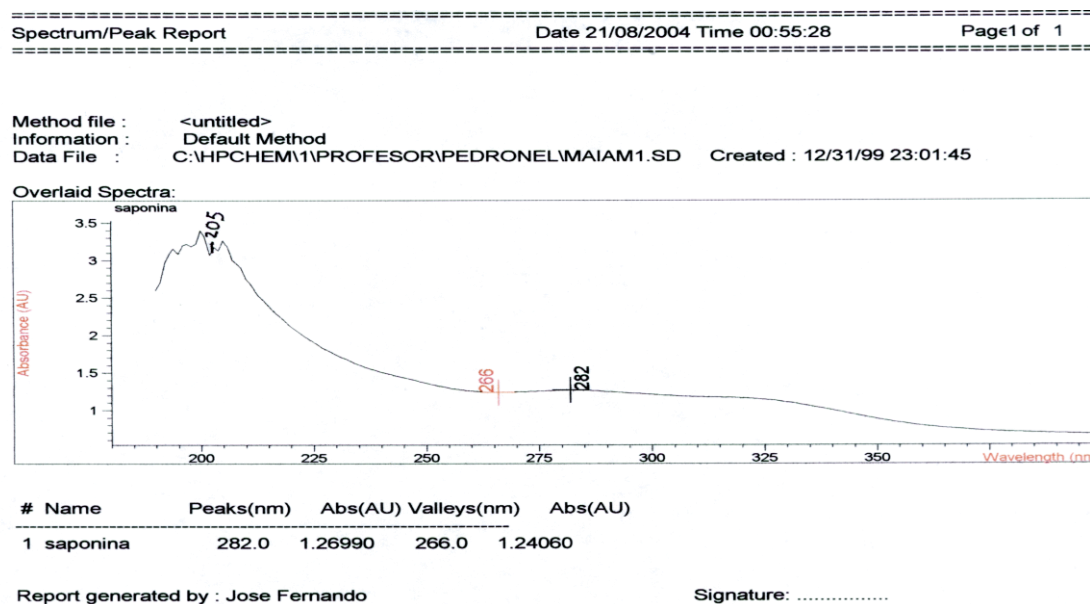
<sup>75</sup> KOILE Kazuo. Journal of natural products. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 66. Number. 12. 2003. p.1598

<sup>76</sup>DOMINGUEZ, Op. cit. p.154

la especie *Solanum stellatiglandulosum* Bitter a la clase de las dicotiledóneas.<sup>77</sup>

## 6.2 ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA

### 6.2.1 Glicósido obtenido



Compuesto en agua

**Figura 35.** Espectro UV del glicósido

Las saponinas con insaturación presentan en el UV una señal entre 205-210 nm<sup>78</sup> cuya intensidad aumenta con el incremento de grupos unidos al doble enlace. En el espectro UV del glicósido se observa una absorción a los 205 nm. Ésta se justifica por el grupo cromóforo (doble

---

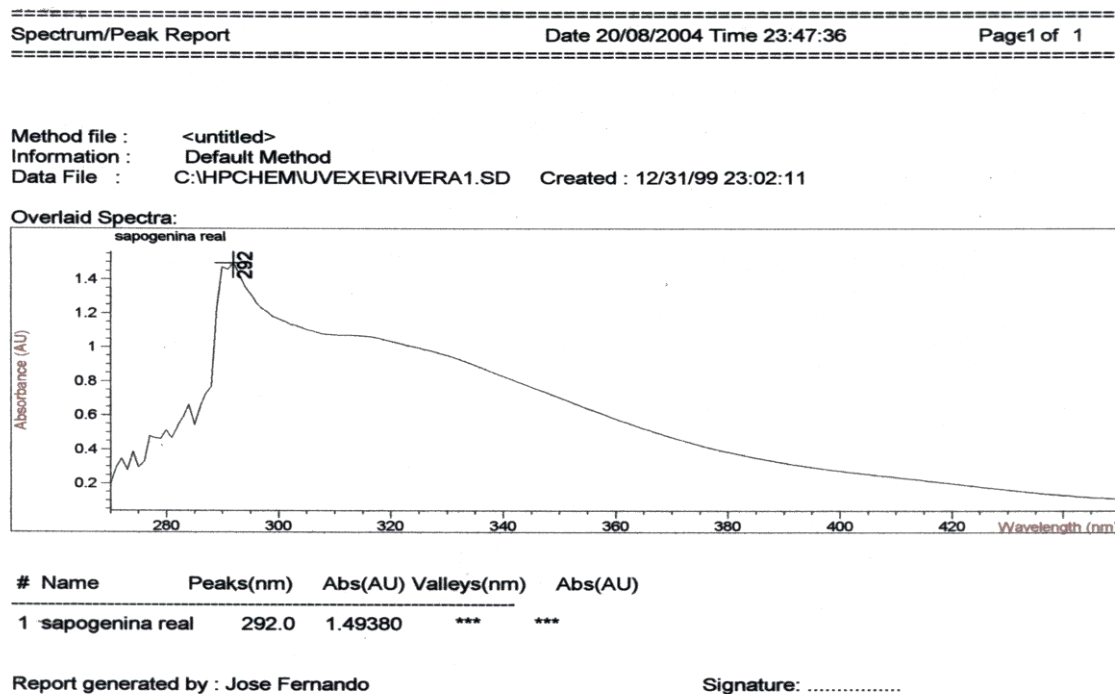
<sup>77</sup>GIRARDO, Op. cit. 14

<sup>78</sup>DOMINGUEZ, Op. cit. p.154

enlace) presente en la estructura del compuesto.

Los espectros UV de las saponinas triterpélicas de la especie *Nephelium maingayi* Hiern presentan dos señales de absorción, siendo la señal más débil la más desplazada hacia el rojo<sup>79</sup> coincidiendo con las absorciones observadas para el compuesto de nuestro estudio.

## 6.2.2 Aglicones obtenidos



Compuesto en etanol

**Figura 36.** Espectro UV del Aglicón 0

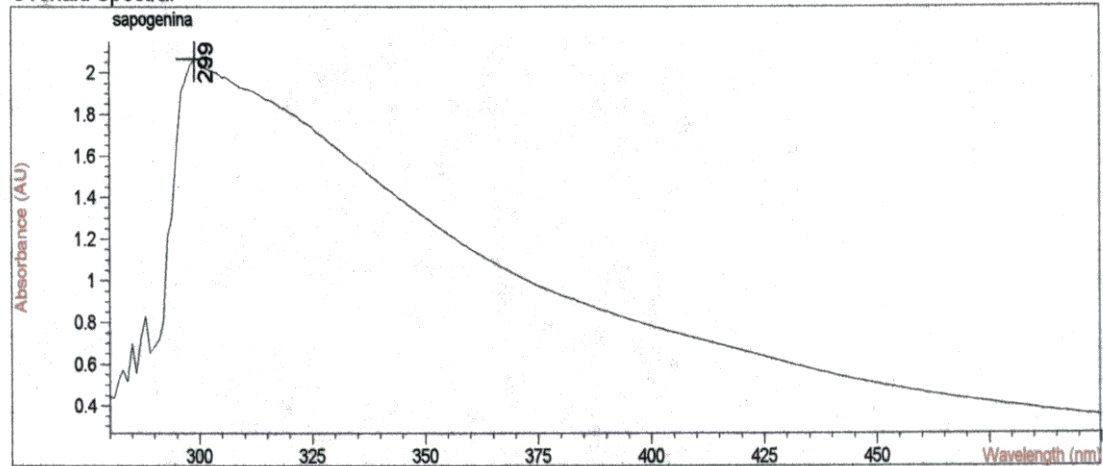
<sup>79</sup>TAPONDJOU, Leon A. Journal of natural products. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 66. Number. 9. 2003. p.1598.

Method file : &lt;untitled&gt;

Information : Default Method

Data File : C:\HPCHEM\1\PROFESOR\PEDRONEL\TOA1.SD Created : 12/31/99 23:02:13

## Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks(nm)	Abs(AU)	Valleys(nm)	Abs(AU)
1	sapogenina 1	299.0	2.06430	***	***

Report generated by : Jose Fernando

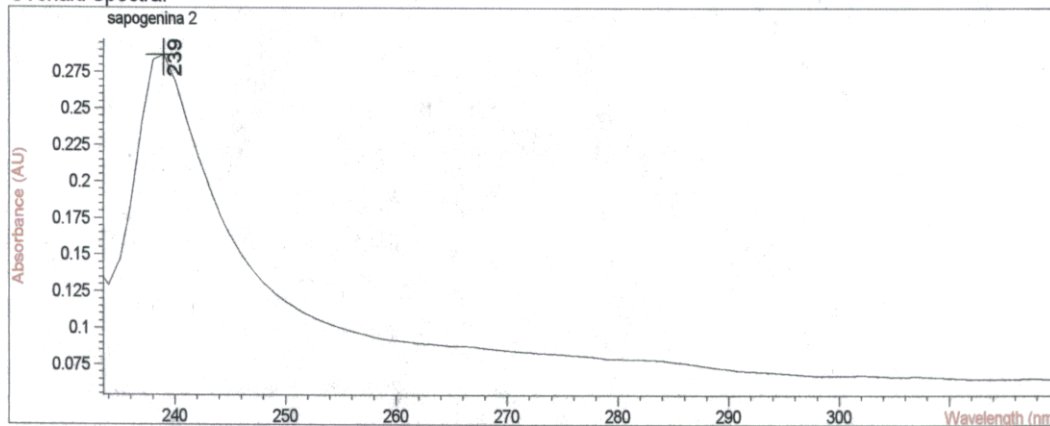
Signature: .....

Compuesto en etanol

Figura 37. Espectro UV del Aglicón 1

Method file : <untitled>  
Information : Default Method  
Data File : C:\HPCHEM\UVEXE\LEONARA1.SD Created : 12/31/99 23:01:55

## Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks(nm)	Abs(AU)	Valleys(nm)	Abs(AU)
1	sapogenina 2	239.0	0.28664	***	***

Report generated by : Jose Fernando

Signature: .....

\*\*\* End Spectrum/Peak Report \*\*\*

Compuesto en etanol

**Figura 38** .Espectro UV del Aglicón 2

En el espectro UV se observa un máximo de absorción a los 292 nm para el aglicón 0, a los 299 nm para el aglicón 1 y a los 239 nm para el aglicón 2. Estas absorciones se deben a la insaturación presente en sus estructuras.

Los aglicones 0 y 1 tienen sus absorciones más desplazadas hacia el rojo comparadas con el aglicón 2, esto pudo haber sido ocasionado por el grupo carbonilo (cetona producto de la oxidación como se mencionó anteriormente para el análisis infrarrojo de los aglicones 0 y 1) que estaría afectando la absorción de la insaturación.

La absorción de la transición  $n \rightarrow \pi^*$  del carbonilo quedaría solapada por la absorción de la transición  $\pi \rightarrow \pi^*$  de la olefina que es de mayor intensidad.

### 6.2.3 Derivado del Glicósido

Spectrum/Peak Report

Date 21/08/2004 Time 00:58:24

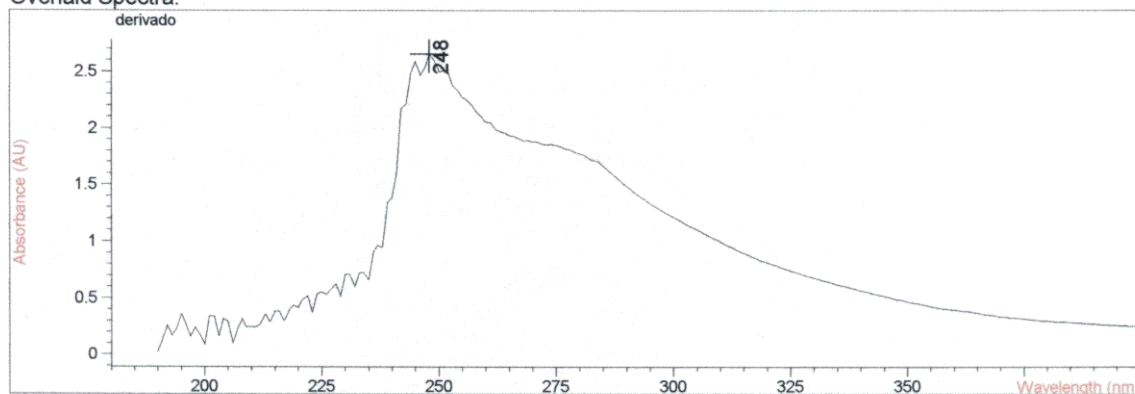
Page 1 of 1

Method file : <untitled>

Information : Default Method

Data File : C:\HPCHEM\1\PROFESOR\PEDRONEL\SUMAK1.SD Created : 12/31/99 23:01:50

Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks(nm)	Abs(AU)	Valleys(nm)	Abs(AU)
1	derivado	248.0	2.65040	***	***

Report generated by : Jose Fernando

Signature: .....

Compuesto en cloroformo

**Figura 39** .Espectro UV del derivado del glicósido

En el compuesto UV del glicósido se observó una señal a los 205 nm. Ésta señal sería la que se observa en el espectro UV del derivado a los 248 nm y su desplazamiento batocrómico se justificaría por la incorporación del grupo carbonilo del éster en la estructura.

La absorción de la transición  $n \rightarrow \pi^*$  del carbonilo queda solapada por la absorción de la transición  $\pi \rightarrow \pi^*$  de la olefina que es de mayor intensidad.

No fue posible hacer uso de Cromatógrafo de gases debido a que el equipo presentaba problemas.



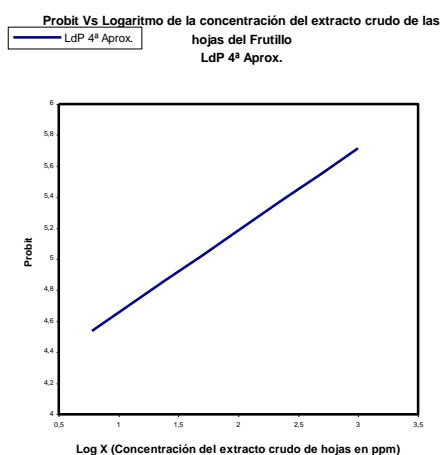
## 7. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE CITOTOXICIDAD

### 7.1 EXTRACTO CRUDO DE HOJAS

**Tabla 12.** Resultados de citotoxicidad Hojas      **Tabla 13.** Resultados en Blancos

Larvas muertas en los extractos						Larvas Muertas en los blancos					
Concentración	1	2	3	4	5	Concentración	1	2	3	4	5
1000	7	8	9	9	8	1000	0	1	0	0	0
500	7	8	8	7	6	500	1	0	0	0	0
240	7	6	6	7	6	240	0	0	1	0	0
100	6	7	5	5	6	100	1	2	0	0	0
50	6	4	4	5	5	50	0	1	1	0	0
24	4	4	5	5	5	24	0	0	0	0	0
10	4	3	5	5	4	10	0	0	1	0	0
6	4	4	3	4	3	6	1	1	0	0	0

**Tabla 14.** Dosis Letal Media Hojas



Intervalo con el 95% de confianza para la DL50 (ppm)	
Desde	Hasta
12,777609551	154,735688
<b>DL50 = 44,4651796</b>	

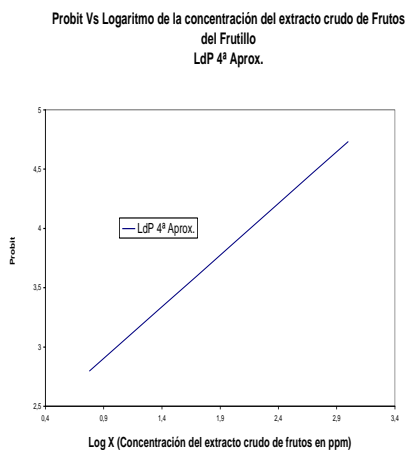
## 7.2 EXTRACTO CRUDO DE FRUTOS

**Tabla 15.** Resultados de citotoxicidad Frutos

**Tabla 16.** Resultados en Blancos

Larvas muertas en los extractos						Larvas Muertas en los blancos					
Concentración	1	2	3	4	5	Concentración	1	2	3	4	5
1000	5	6	5	5	5	1000	0	0	0	0	1
500	3	4	3	2	2	500	0	1	0	1	0
240	2	2	1	1	1	240	0	0	0	0	0
100	2	1	1	1	1	100	2	0	0	0	0
50	2	1	1	1	0	50	0	0	2	0	0
24	1	0	1	1	1	24	0	0	2	0	1
10	1	1	1	0	0	10	0	0	1	0	0
6	0	1	0	1	1	6	0	1	0	0	1

**Tabla 17.** Dosis Letal Media Frutos



Intervalo con el 95% de confianza para la DL50 (ppm)	
Desde	Hasta
477,3588839	7522,626833
<b>DL50 = 1894,99149</b>	

## **8. ANÁLISIS DE RESULTADOS DE LA PRUEBA DE CITOTOXICIDAD**

### **8.1 EXTRACTO CRUDO DE HOJAS**

El DL50 arrojado por el análisis estadístico es de 44,4651796 ppm. Esta connotación indica que la especie *Solanum stellatiglandulosum Bitter* posee en sus hojas metabolitos secundarios con actividad citotóxica.

### **8.2 EXTRACTO CRUDO DE FRUTOS**

Este extracto presenta menor efecto en comparación con el de las hojas. No obstante es capaz de producir cambios fisiológicos en el crustáceo causando la muerte a la mitad de ellos en una dosis de 1894,99149 ppm.

## 9. CONCLUSIONES

En las hojas se encontraron en abundancia alcaloides, taninos, saponinas, hidroquinonas, flavonoides y esteroides y/o triterpenoides. En presencia moderada azúcares. Aunque éstos sean metabolitos primarios acompañan en forma de glicósidos a muchos metabolitos secundarios. Por lo tanto se incluyen en los resultados. (Los términos abundante y moderado se emplean aquí con relación a la simbología de la página 61)

No se encontraron glicósidos cardiotónicos, lactonas terpénicas ni carotenoides. Posiblemente habría presencia de cumarinas.

En los frutos se encontraron en abundancia taninos, saponinas, hidroquinonas, azúcares, esteroides y/o triterpenoides. En presencia moderada se encontraron flavonoides. No se encontraron alcaloides, glicósidos cardiotónicos, lactonas terpénicas ni carotenoides. Posiblemente habría presencia de cumarinas.

Por los análisis instrumentales y por pertenecer la especie *Solanum stellatiglandulosum* Bitter a la clase de las Dicotiledóneas la saponina y sapogeninas obtenidas podrían ser de tipo triterpénica cuyas estructuras son similares.

La especie *Solanum stellatiglandulosum* Bitter presenta actividad citotóxica frente a la *Artemia salina* Leach.

La diferencia en los resultados de la DL50 entre frutos y Hojas podría responsabilizarse a la presencia de alcaloides en las hojas.

## 10. RECOMENDACIONES

Para elucidar la estructura química de los metabolitos obtenidos, se recomienda análisis más especializados como RMN protónico y de C<sup>13</sup>, Masas y consultar literatura más especializada.

Se recomienda realizar otros tipos de bioensayo que permitan vislumbrar el potencial de la especie *Solanum stellatiglandulosum Bitter*.

Se recomienda continuar con el estudio fitoquímico de la *Solanum stellatiglandulosum Bitter*.

Se recomienda que se estimule la investigación a través de convenios con otras universidades, adquisición de material bibliográfico y mayor presupuesto para la investigación de proyectos de grado.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

- AVRAM, Margareta. Infrared Spectroscopy. Wiley-Interscience. A Division of John Wiley & Sons. 1992 .
- BILBAO, R. Maria del rosario. Análisis Fitoquímico Preliminar. Oficina de publicaciones de la Universidad del Quindío. Armenia. Junio. 1997.
- BRUNETON, Jean. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Zaragoza. Acribia. 1991.
- CHANG, Chi-I. Journal of natural products. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 67. Number 1. p. 91-93. 2004.
- DOMINGUEZ, Xorje. Métodos de Investigación Fitoquímica. Editorial Limusa, S.A. 1993.
- DR. P. FONT, Quer. Plantas Medicinales. El Dioscórides Renovado. Editorial Labor, S.A. 10ª Edición. 1987.
- GARCIA, Barriga Hernando. Flora Medicinal de Colombia. Tercer Mundo Editores. 1992.
- GENTRY, Alwyn H. A Field Guide to the Families and Genera of Woody Plants of Northwest South America. Conservation International. Washington, D.C.

- GROS, G. Eduardo y PAMILIO, B. Alicia. Introducción al estudio de los productos naturales. Organización de los Estados Americanos. Programa regional de desarrollo científico y tecnológico.
- HUBERT, Jhon J. Bioassay, Kendall / Hunt Published Company; Dubuque, Iowa USA. 1980.
- ITO, Aiko. Journal of natural products. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 67. Number 2. p. 203-204. 2004.
- OHSAKI Ayumi. Journal of Natural Products. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 67. Number.3 2004.
- MAHABIR. P. Gupta. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. Convenio Andrés Bello. Editorial Cytel. 1ª Edición. Santa Fe de Bogotá. 1999.
- MORRISON, Robert T. Química Orgánica. 5ª Edición. México. Addison-Wesley Iberoamericana. 1990.
- NORMAS TECNICAS INCONTEC (Normas Técnicas Colombianas). Presentación y elaboración de trabajos escritos y tesis de grado. Norma 1486 Documentación, presentación de tesis, trabajo de grado y otros trabajos de investigación. Santa Fe de Bogotá.
- OHSAKI, Ayumi. Journal of natural products. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 670. Number 3. p. 470-471. 2004



- ORTEGA, López Juan y BLANCO, Fernández Manuel. Identificación de compuestos orgánicos por espectroscopia infrarroja. Madrid Centro de estudios y experimentación de obras públicas. 1982.
- OSORIO, Grisales J. Análisis del procedimiento para la determinación de la DL50 a través del método probit en un bioensayo. Revista de investigación Universidad del Quindío. Vol. 4. Número 12. p.110
- PELLETIER, S. William. Alkaloids: Chemical and biological perspectivas. A Wiley Interscience Publication. Jhon Wiley & Sons. New Cork. 1983.
- Recomendaciones de la O.M.S para gobiernos y consumidores acerca del uso de tratamientos tradicionales. Revista Panamericana de Salud Pública. Vol. 16. Número 3. Septiembre 2004.
- RUIZ, Gil Pilar. Productos Naturales. Dirección de publicaciones, Universidad de Navarra. Universidad Pública de Navarra, 2202.
- SANABRIA, Galindo A. Análisis Fitoquímico Preliminar, Metodología y su aplicación en la evaluación de 40 plantas de la familia Compositae. Bogotá, D.E. 1983.
- SHIN, Myoung H. Journal of natural products. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 66. Number 10. p. 1354-1355. 2003.
- SILVERSTEIN, BASSLER, MORRIL.- Spectrometric Identification of Organic Compounds. Fifth Edition. 1991.

TAPONDJOU, Leon A. Journal of natural products. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 66. Number 9. p. 1268. 2003.

Universidad del Tolima. Química Orgánica II: Metabolitos secundarios en microorganismos, plantas y animales.

WATANABE Kazuki. Journal of natural products. Publisher by the American Chemical Society and the American Society of Pharmacognosy. Vol. 66. Number 6. p. 881. 2003.

VILLA, Rojas Jais Nover. Manual de Análisis Orgánico. Universidad del Quindío. 1995.

ZULUAGA, Corrales Fabio; YATES, Brian y INSUASTY, Obando Braulio. Análisis Orgánico Clásico y Espectral. Universidad del Valle. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Santiago de Cali. 2000.

<http://agrarias.vach.cl/webpapa/botanica.html>

<http://almeriware.net/almediam/articulos/articulos-090-formulacion.htm>

<http://bilbo.edu.uy/~planta/Cursos/material/saponinas.pdf>

<http://www.companias.bibliomed.com/lib/ShowDoc.cfm>

<http://www.iespana.es/natureduca/med-sustanc.glucosidos.htm>

<http://huitoto.udea.edu.co/~farmacogfit/Carotenoides/index.html>

<http://huitoto.udea.edu.co/~farmacogfit/Esteroides/Saponinas/index.htm>

<http://huitoto.udea.edu.co/~farmacogfit/Sesquiterpenlactonas/index.html>

<http://www.monografias.com/trabajos14/dosis-letal/dosis-letal.shtml#dos>

<http://www.plantasmedicinales.org/farmacognosia/feb2002/taninos.htm>

<http://www.unav.es/bioquímica/bqfarmacia/practicass.pdf>

<http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/IDEA/2007225/lecciones/capitulo1/04-que-se-siente.htm>

