

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**“CONTRIBUCION AL ESTUDIO FITOQUIMICO DEL
Arum maculatum M. (Aro manchado, Corazón de María).”**

T E S I S

PRESENTADA POR

MARIA HORTENSIA ACOSTA Z.

PREVIA A LA OPCION DEL TITULO DE

LICENCIADA

EN

QUIMICA FARMACEUTICA

DICIEMBRE DE 1970



581.63d
A136C
1970
F.C.Q.
93



U N I V E R S I D A D D E E L S A L V A D O R

Rector en Funciones

Arq. Gonzalo Yáñez Díaz

Secretario

Dr. Joaquín Figueroa Villalta

F A C U L T A D D E C I E N C I A S Q U I M I C A S

Decano

Dr. Julio César Morán Ramírez

Secretario

Dr. Elías Alvarado Cornejo

JURADO CALIFICADOR DE TESIS

Dra. Hilda Mercedes P. de Novoa

Dra. Zoila Echegoyen de Cruz

Dr. José Antonio Recinos Sánchez

D E D I C A T O R I A

A DIOS TODOPODEROSO.

A MIS QUERIDOS PADRES:

*Tomás Acosta López
Eva Zaldaña de Acosta.*

A MIS TIOS:

*J. Raúl Rivera Zaldaña
Clelia H. Zaldaña.*

A MIS HERMANOS:

*Joaquín Ernesto, Sylvia Eva
y Cecilia Victoria.*

A MI PRIMO:

Jorge Alberto Zaldaña.

A Héctor Homero Marroquín M. con especial cariño.

A mis profesores, compañeros y amigos.

A G R A D E C I M I E N T O

AL Dr. JOSE ANTONIO RECINOS S.

*Por su colaboración como
Asesor para la elabora---
ción de esta tesis.*

AL DEPARTAMENTO DE QUIMICA FARMACEUTICA.

*Por facilitar los medios
para el desarrollo del --
presente trabajo.*

A todas las personas que cooperaron para su realización.-

" *CONTRIBUCION AL ESTUDIO FITOQUIMICO*
DEL Arum maculatum M. (Aro manchado,
Corazón de María) "

I N D I C E

	<i>pag.</i>
I <i>INTRODUCCION.</i>	1
II <i>ESTUDIO BOTANICO</i>	9
III <i>MATERIALES Y METODOS.</i>	17
IV <i>RESULTADOS.</i>	34
V <i>DISCUSION.</i>	43
VI <i>CONCLUSION</i>	46
VII <i>BIBLIOGRAFIA</i>	49

I N T R O D U C C I O N

Lo que motiva a la investigación de los risomas - del *Arum maculatum* (Aro manchado, Corazón de María), es - tratar de descubrir saponinas de naturaleza esteroidal, consideradas de gran importancia en la industria farmacéu- tica moderna. Por lo que ésta especie vegetal puede pre- sentar mucha utilidad por sus posibles usos en hormonas.- También puede ser considerada en la industria de produc- tos alimenticios.

De su raíz tuberosa se extrae una fécula en el co- mercio inglés, conocida como Sagú de Portland, que es una harina comestible muy pura y excelente como alimento para niños y convalecientes. Esta fécula sólo se aprovecha en otras partes para quitar las pecas.

En el comercio se presentan los tubérculos del ta- maño de una castaña sin corteza, blanca interiormente y - casi sin olor. Analizada esta raíz se ha visto que contie- ne una sustancia gomosa, un principio acre, un ácido vege- tal, materia azucarada, gran cantidad de fécula y leño. - El principio acre es venenoso. La sustancia cáustica y ve- nerosa de esta planta, se debe a un principio volátil, -- muy parecido al de los Acónitos y Anémonas.

Del Aro manchado se extrae un veneno muy activo.- Al mascar la raíz parece de pronto insípida, pero al poco rato se observa un sabor acre y ardiente y se presentan - los síntomas siguientes: dolores agudos en la boca y en - el estómago, vómitos, calambres, deposiciones albinas, en- friamiento de las extremidades, pulso lento y debil, con-

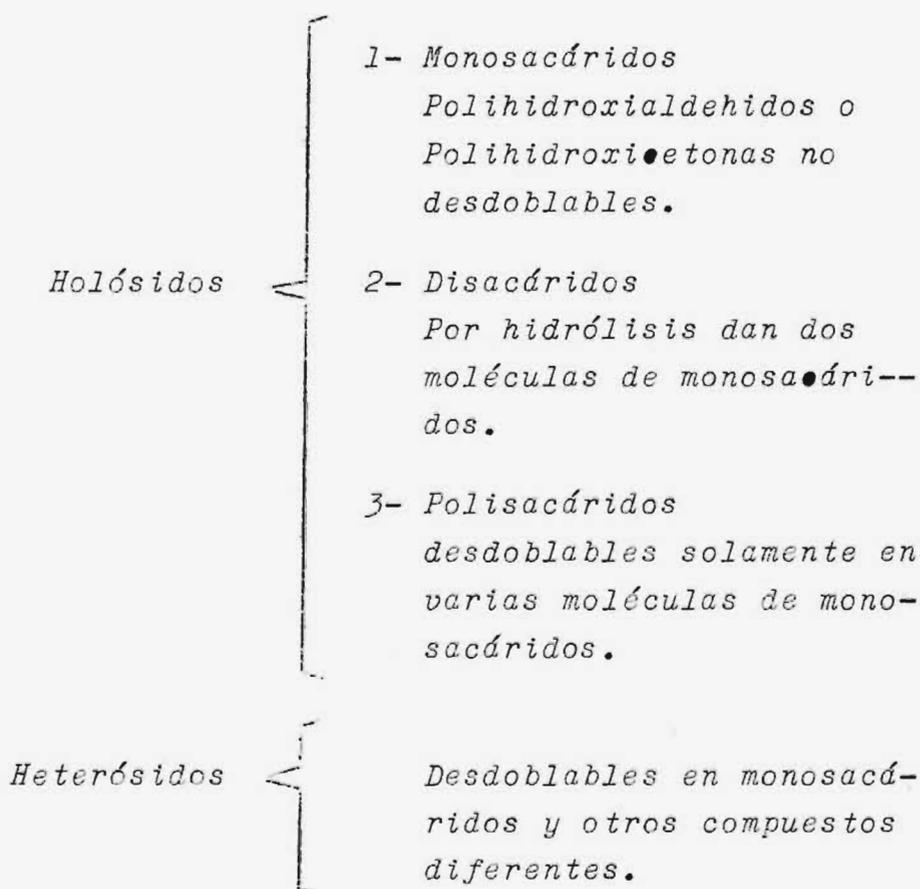
tracción muscular. Si el envenamiento es grave, se produce una hinchazón de la lengua, de la parte interna de las mejillas y de la garganta, tan grande que puede impedir la administración de los fármacos y el enfermo muere por asfixia o por el tétano. Para estos casos el tratamiento que se sigue es el siguiente: Cuando no se ha tragado el veneno y sólo se ha masticado la planta, los dolores agudos que se presentan en la boca, se corregirán con lavados repetidos de agua ligeramente acidulada. En cambio, cuando se ha tragado el veneno, hay que recurrir en primer lugar, a los vómitos, lo mas enérgicos posibles. Se administrará estimulantes generales, como el café cargado, alcohol, y otras sustancias que provoquen revulsión y eviten el enfriamiento. (4), (11).

El Aro manchado, es una planta venenosa, pero presenta propiedades y usos medicinales. Exteriormente se usa el té (preparado con cincuenta gramos de este vegetal por un litro de agua) para lavar heridas y la pasta del bulbo picado y amasado, para curar las úlceras rebeldes. Las hojas y raíces secas reducidas a polvo, se usan para los mismos fines. El sumo de las raíces y de las hojas, mezclado con aceite, también da buenos resultados en la cura de heridas y úlceras. Los campesinos usan esta planta para curar heridas gusanosas del ganado.

Los risomas del *Arum maculatum* contienen sustancias que pueden ser clasificadas dentro del grupo de los glúcidos. Se ha consultado diversa bibliografía al respec-

to (5), (6), (7), (8), (10), (14), considerando que es importante dar a conocer la forma en que estas sustancias o principios activos se encuentran en la naturaleza, como también algunas de sus propiedades, químicas, físicas y biológicas.

CLASIFICACION DE LOS GLUCIDOS:



Las tres subdivisiones que forman el grupo de *Holósidos* comprenden como hidratos de carbono mas importantes, los azúcares, los almidones y las celulosas.

Los *Heterósidos* o glucósidos son compuestos que -

cuando se hidrolizan, por acción enzimática o mediante ácidos diluídos, producen un azúcar reductor y uno o varios productos que no son azúcares y que reciben el nombre de aglucones. Los heterósidos pueden hallarse en las diversas partes de las plantas, en las que parecen haberse formado en un proceso de desintoxicación de aglucones, formados en el metabolismo de las mismas o quizás también, como reserva inócua para procesos posteriores, necesarios para el desarrollo de la planta. Cuando se tritura la planta, enzima y glucósido entran en contacto.

Los heterósidos o glucósidos se clasifican teniendo en cuenta el átomo que forma la unión entre el azúcar y el aglucón y se subdividen según sus funciones químicas o su acción biológica o fisiológica:

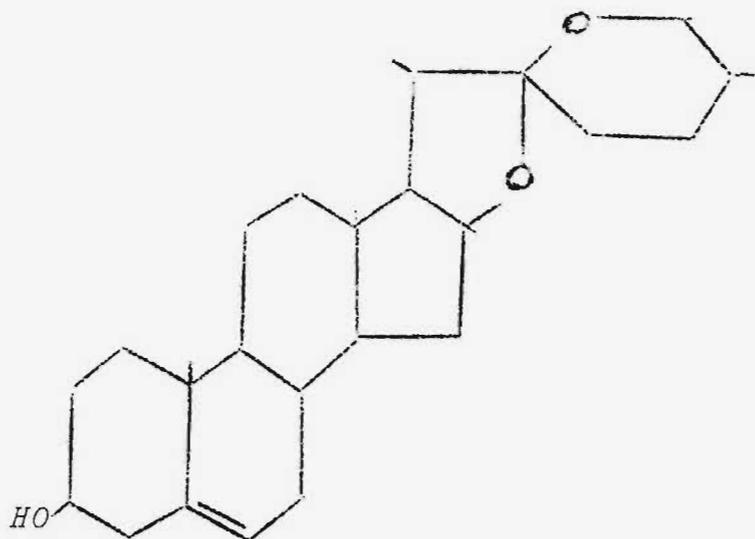
Heterósidos	{	O - Heterósidos
	{	S - Heterósidos
	{	N - Heterósidos

Saponinas:

Son combinaciones de azúcares y agliconas o sapogeninas y pertenecen al grupo de los O - heterósidos. Existen dos clases de saponinas: Las triterpenoides llamadas saponinas ácidas y las esteroides o saponinas neutras, que difieren en la estructura de la sapogenina del glicósido.-

Se ha demostrado que el acetato y el mevalonato se incorporan en tales compuestos. Cabe llegar a la conclu---

sión de que la principal vía biosintética que conduce a -
ambos tipos de sapogenina, esteroides y triterpenoides, -
es similar y entraña el acoplamiento término terminal de
unidades de acetato. Sin embargo ocurre una ramificación
probablemente después de la formación de escualeno que --
conduce a los esteroides en una dirección y a los triter-
penoides cíclicos en la otra. Por medio de un diagrama se
explicará como ocurre la ramificación:



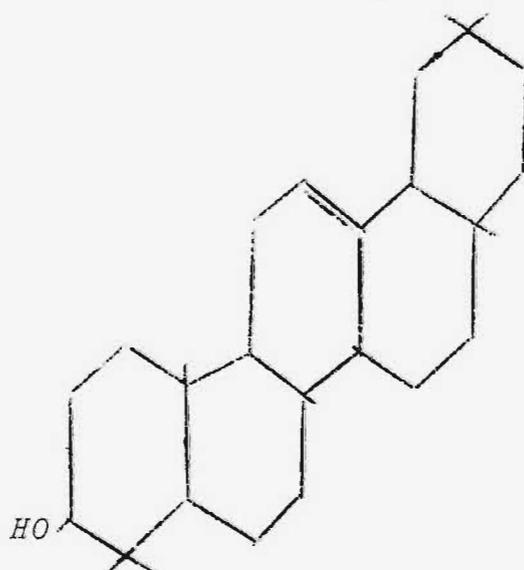
Núcleo esteroide espiro acetílico (Diosgenina)

ACETATO

MEVALONATO

ESCUALENO

COLESTEROL



Triterpenoide pentacíclico (B - Amirina)

Saponinas y Sapogeninas Triterpenoides:

La mayoría de las sapogeninas triterpenoides, se obtienen de las saponinas correspondientes por hidrólisis ácida, aunque hay unas cuantas que existen en estado libre.

Las saponinas triterpenoides, se emplean en la fabricación de ladrillo acústico, extinguidores de incendio tipo espuma, pastas dentífricas, champues, jabones líquidos, para producir espuma en bebidas, para la determinación del oxígeno en la sangre, etc. En cambio las sapogeninas de las saponinas triterpenoides no tienen aplicaciones industriales. La mayoría de las sapogeninas son pentacíclicas y se dividen en tres grupos representados por la A- y B-amirina y el lupeol.

Saponinas y Sapogeninas Esteroides:

Las saponinas esteroideas se encuentran en las hojas, raíces y semillas de muchas plantas. Las sapogeninas constituyentes, están caracterizadas por un núcleo esteroide que en diversas posiciones tiene sustituciones por oxígeno y por una cadena lateral mas o menos complicada.-

Las saponinas esteroideas, además de su acción espumante y hemolítica, presenta una acción tóxica, se les utiliza como veneno para peces. Recientemente el estudio de la estructura de las ~~sapogeninas~~ ha originado su empleo como materias primas para la fabricación de hormonas esteroideas.

E S T U D I O B O T A N I C O

<i>Nombre Científico:</i>	<i>Arum maculatum</i>
<i>Familia:</i>	<i>Aráceas</i>
<i>Nombre Vulgar:</i>	<i>Aro manchado, Corazón de María Aro, Yaro, Alcatrás.</i>
<i>Otros Idiomas:</i>	<i>Inglés: Crespig Dragón Port.: Tinhorão Fran.: Dracorte Rampante.</i>

Descripción:

El *Arum maculatum* es una planta común y ornamental que crece espontáneamente en casi todos los climas, vive principalmente en los Trópicos y es muy abundante en Centro América. Es una planta herbácea que crece en los bosques húmedos y en los parajes sombríos. Especie vecina de las colocacias que se cultivan por sus hojas manchadas. - -

Raíz:

Lo importante de esta planta es su raíz, subterránea, herbácea, perenne, de bulbo amarillo que consiste en un tubérculo oval del tamaño de una nuez, provisto de raicillas, que producen al año siguiente otros tubérculos que reemplazan al primero. Tienen estos tubérculos color amarillo y sabor acre y cáustico.

Tallo:

Subterráneo, bulbo con prolongaciones florales aé-

reas que semejan tallos herbáceos, perénne de color amarillo, succulento, resinoso, un tanto acre y nauseabundo.

Hojas:

Radicales, largamente pecioladas, sagitadas digiti nervadas con manchas rojas o blancas u otros colores en la faz y con manchas negras o rojizas en el envés.

Flores:

La flor está en una espata blanca, en cuyo centro está el espádice, se reconoce facilmente por esta inflorescencia en espádice, de flores unisexuales, monoicas y desnudas que arranca de la axila de la espata envuelta por lo menos al principio.

El espádice parece estar cubierto en parte de flores, la parte superior del eje, forma una especie de clavo o cilindro carnosos, de color amoratado. Suelen estar las flores femeninas en la parte inferior del espádice y las masculinas por encima de ellas. Entre ambas regiones florales y por encima de las flores masculinas se hayan a menudo, filamentos estériles. Se considera, la flor, estar --- constituida por una especie de estuche foliáceo o espiga.-

Fruto:

Los frutos son bayas indehiscentes, de color escar

lata, con semillas ricas en albumen carnosos.

(1), (3), (4), (11), (12), (15), (20).

Figura adjunta.- *Arum maculatum* (Aro manchado, Corazón de María). A, Planta completa; B, Corte del ovario - enseñando los óvulos; C, Espádice despojado en parte de su espata para poder estudiar en T, los órganos femeninos y - en S, los órganos masculinos; D, Infructescencia madura E, Estambre desprendido.

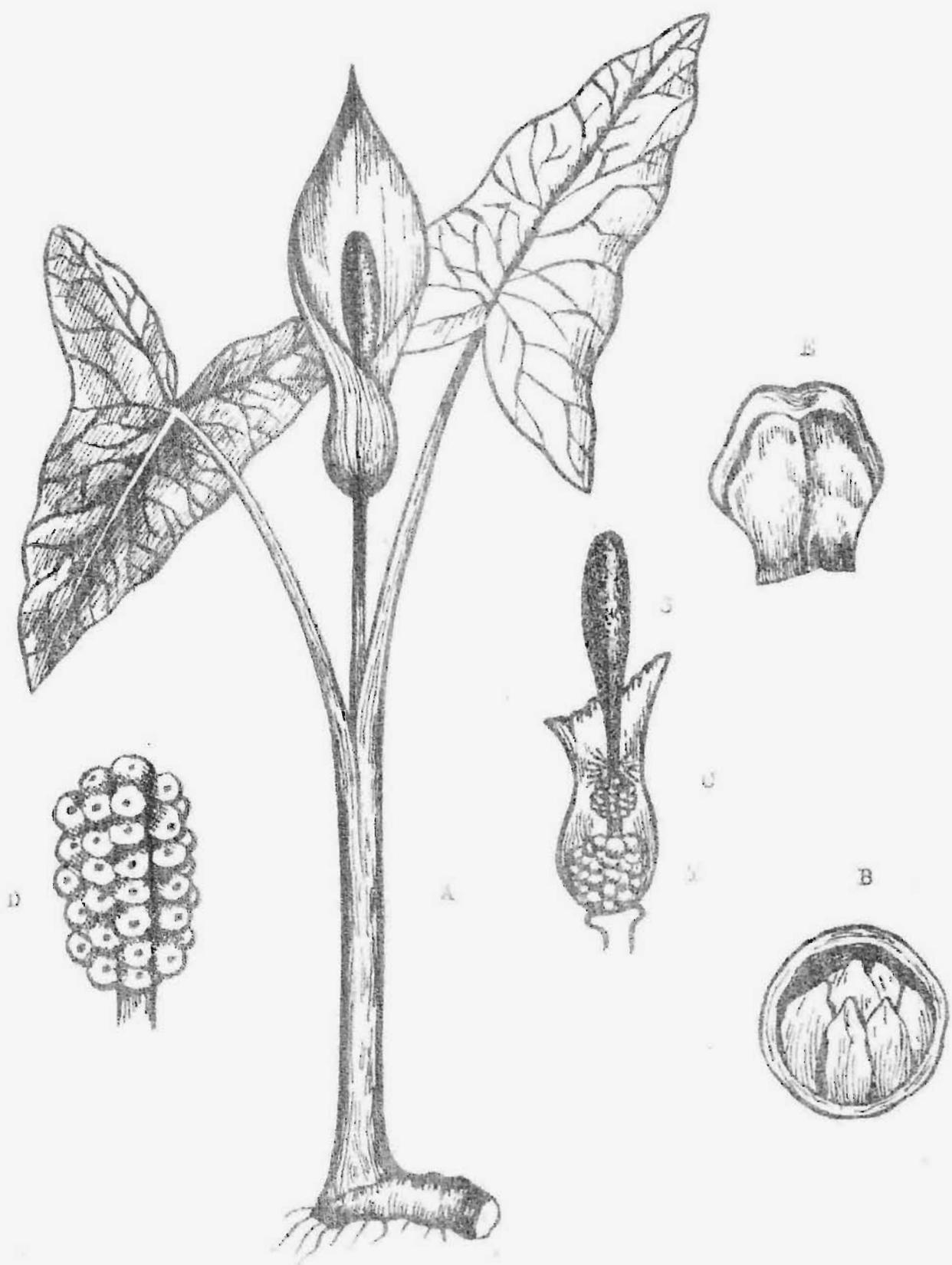


Fig. - *Arum excelsum* (Colombia de la Isla, pro Macbride).

Hojas de *Arum maculatum*

(Aro manchado, Corazón de María)



Foto No. 1

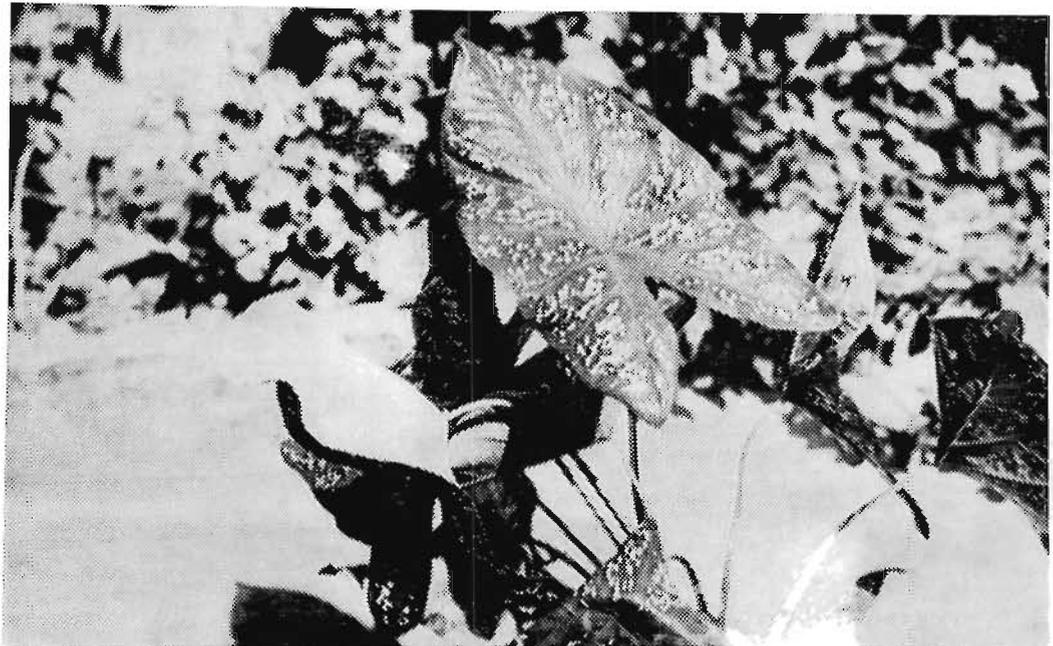


Foto No. 2

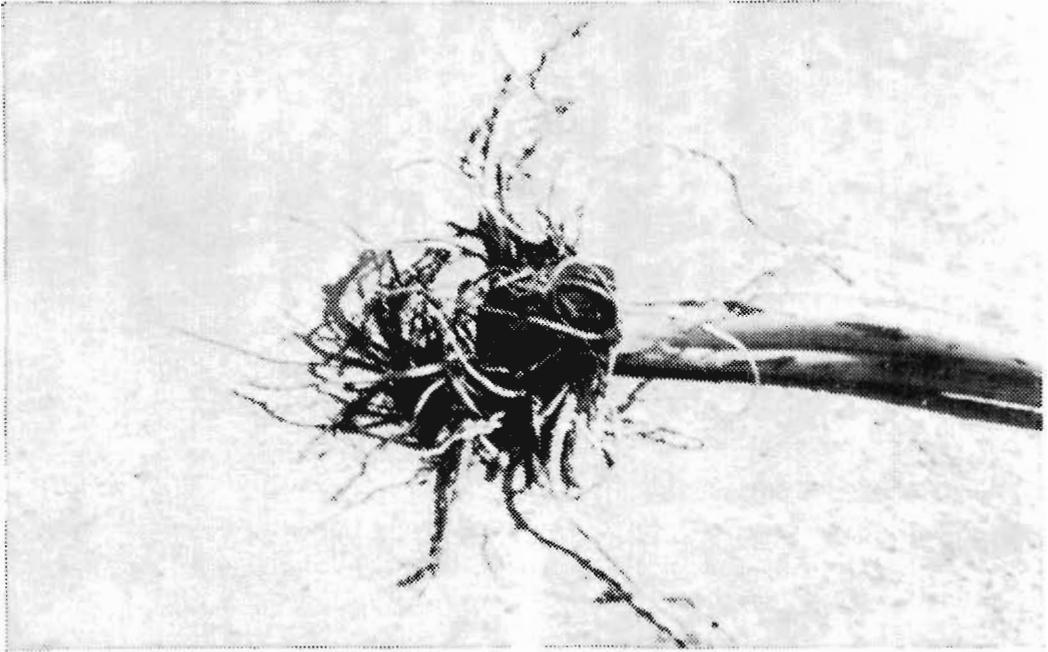


Foto No. 3

Raíz completa y porción de tallo de Arum maculatum

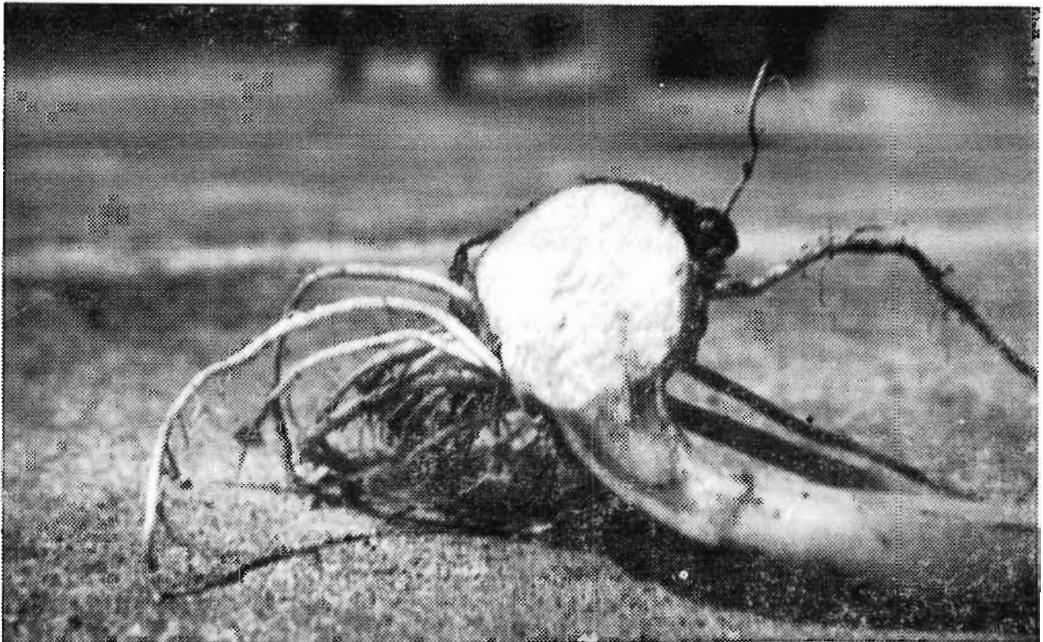


Foto No. 4

Corte de raíz y porción de tallo de Arum maculatum

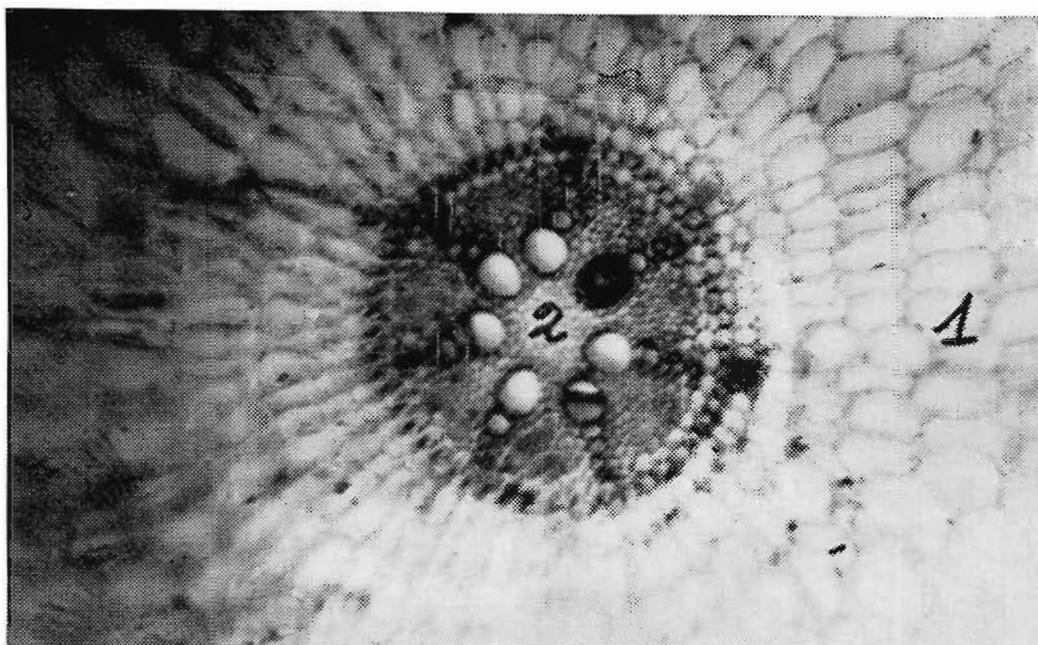


Foto No. 5

Corte transversal de la raíz de *Arum maculatum* 80 x

1 — Corteza 2 — Cilindro Central

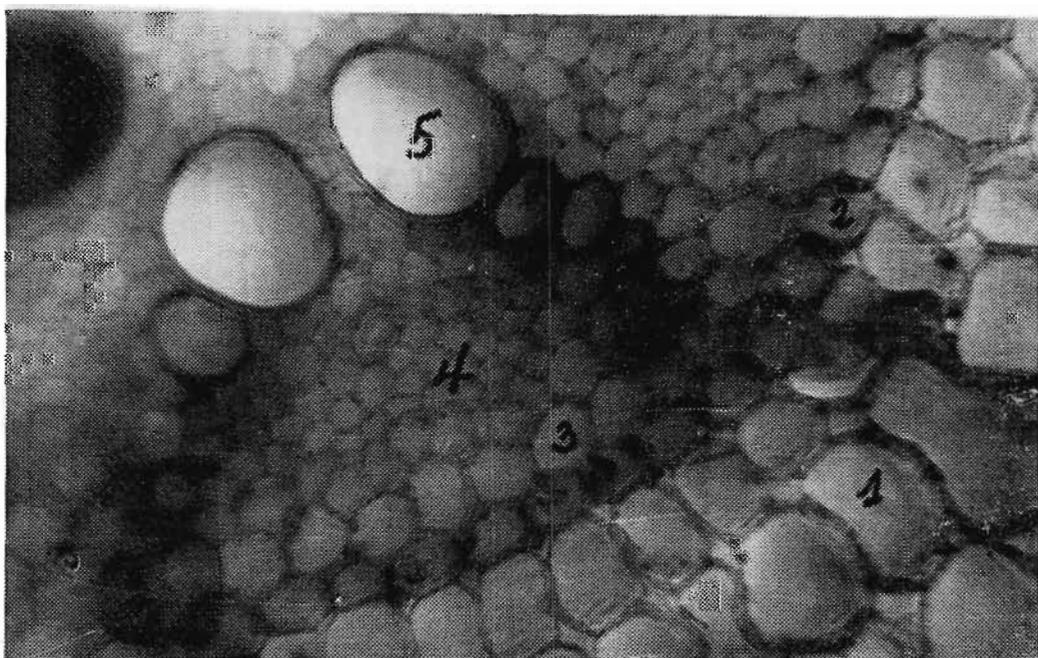


Foto No. 6

Corte transversal de la raíz de *Arum maculatum*, 340 x

1 — Corteza 2 — Endodermis 3 — Periciclo 4 — Floema 5 — Xilema

M A T E R I A L E S

Y

M E T O D O S

A - Material:

1º) a) *Material general:* El de rutina en el laboratorio - de *Farmacognosia y Análisis Químico Orgánico*.

b) *Material Especial:* Para extracciones, alcohol, alcohol-benceno, heptano, éter etílico, agua; para hidrolizar, ácido clorhídrico diluído; para cristalización, acetona, alcohol etílico; para decolorar carbón animal, magnesia calcinada.

2º) *Raíz seca y macerada de Arum maculatum (Aro Manchado, Corazón de María.)*

B - Métodos:

Antes de iniciar la determinación cuantitativa de las diversas sustancias que componen la raíz del Arum maculatum, se llevaron a cabo las pruebas preliminares que se estimaron necesarias.

1.- PRUEBA PRELIMINAR

Detección de Glicósidos:

Los glicósidos tienen propiedades fisicoquímicas - muy heterogéneas, lo cual se refleja en la gran variedad - de métodos diferentes para la extracción a partir de tejidos vegetales, y por añadidura son compuestos fácilmente - hidrolizables; hidrólisis que efectuada ya por las enzimas que generalmente los acompañan o por el calor durante el -

proceso de extracción.

Se macera la muestra con alcohol de 95º, se filtra y el solvente se evapora; el residuo se trata con éter sulfúrico, se le añaden gotas de solución alcohólica al 20% de alfa-naftol recientemente preparada seguida de unas gotas de ácido sulfúrico concentrado, a los pocos minutos aparece un anillo verde violáceo en la superficie de contacto (2)

Detección de Glicósidos Antracénicos:

Los glicósidos Antracénicos se demuestran mediante el Test de Born Träger.

Se prepara una solución macerando 1 gr. de la muestra pulverizada en 100 cc. de agua por dos horas, con agitación frecuente; se filtra, se toman 10 cc. del filtrado y se diluye con agua hasta 100 cc. Se agita con 10 cc. de benceno; la capa bencénica se separa y se agita con 5 cc. de SR. de amoníaco; se observará una coloración rosada en la capa amoniacal. (2)

Detección de Glicósidos Cianogenéticos:

Los Glicósidos Cianogenéticos pueden detectarse en drogas vegetales.

Se prepara una solución alcohólica de resina de guayaco y pedacitos de papel filtro se mojan en ella y luego se dejan secar; luego se humedecen estos en una solu---

ción diluida de $SO_4 Cu$ y se ponen en contacto con una superficie recientemente cortada de la droga; la aparición de una coloración azul sobre el papel filtro nos indica - que estamos en presencia de HCN. (2)

Detección de Glicósidos Saponínicos:

Para la determinación de Glicósidos Saponínicos, - se recurrió a métodos químicos, físicos y biológicos. (2)
(5)

Métodos Químicos:

a) Se pulveriza la muestra, se extrae con agua; - una vez filtrada, se toma una parte y se agregan gotas de SR. de anhídrido acético, luego se pone una gota de ácido sulfúrico concentrado de manera que se deje caer por las paredes del tubo donde se practica el ensayo; se notará la formación de una banda roja más o menos intensa en la superficie de contacto.

b) Se toma parte del filtrado obtenido según lo - indicado anteriormente y se calienta con SR. de cloruro - mercurio, se observará la reducción del reactivo y ennegrecimiento si ligeramente se alcaliniza.

c) Método de la Barita, Plomo: Las saponinas forman con estos compuestos combinaciones que precipitan abundantemente.

Se toma una porción del filtrado original y se -- precipita con agua de barita o con acetato básico de plomo. (2)

Métodos Físicos:

Se aprovecha la particularidad de las saponinas - de producir con el agua mediante agitación una espuma persistente.

Se tritura en un mortero los rizomas de la planta luego se agrega suficiente agua y se agita fuertemente, se observa la formación de una fuerte y persistente espuma.-

Métodos Biológicos:

a) Se pulveriza un gramo de la muestra, se extrae con unos 50 cc. de agua; una vez filtrada se le añade 2cc. de sangre desfibrinada, observándose la acción hemolítica

b) Índice Hemolítico: Por medio de esta valora---ción biológica se determina la mayor dilución de saponina en que aún es visible el fenómeno de hemólisis.

El procedimiento para su determinación es el si---guiente: Sustancias que se usan:

- a) Disolución de saponinas en suero fisiológico - al 1%.
- b) Sangre desfibrinada de ganado vacuno al 2% en suero fisiológico.
- c) Suero fisiológico.

Se usan una serie de tubos de hemólisis con cantidades decrecientes de la disolución de saponinas, de la manera siguiente: 3 cc. 2.5, 2, 1.5, 1, 0.8, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1, 0.005 cc. Luego se completa con suero fisiológico hasta 3 cc. y posteriormente se agregan 5 cc. de suspensión de glóbulos rojos al 2%. Se agita nuevamente y se deja reposar 24 horas.

De esta manera se observa que en algunos tubos, -- los glóbulos rojos se sedimentan y el líquido sobrenadante queda claro o ligeramente rosado y en otros tubos quedará completamente rojo. (5)

Detección de Saponinas de Naturaleza Esteroide:

Según los estudios recientes realizados por Marker (14), sobre saponinas de núcleo esteroide y tomando en cuenta su clasificación pueden estas considerarse, derivados del colesterol.

1) Reacción de Liebergman - Burchard (13)

A una solución de cerca de 0.5 mg. de muestra agregar 5 cc. de cloroformo, 0.3 cc. de anhídrido acético y 0.1 cc. de ácido sulfúrico concentrado, agitar fuertemente. Se produce un color rojo que rápidamente cambia a violeta y luego a verde.

2)

Prueba A (13)

Se disuelve una pequeña cantidad de muestra en -- cloroformo y se añade a tres tubos las siguientes sustancias:

- a) Una mezcla de ácido sulfúrico concentrado y -- B-naftol.
- b) Una mezcla de ácido sulfúrico concentrado y antrona.
- c) Acido perclórico.

Prueba B (13)

Se disuelve una pequeña cantidad de la muestra y se añade una solución de m - dinitro benceno alcalina.

3) Reacción para Colesterol (13)

Se hicieron varias pruebas para detectar colesterol, se observa que éstas son muy similares, difieren -- poco en las coloraciones.

a) Se disuelve la muestra en cloroformo y se agrega ácido sulfúrico concentrado, el cloroformo toma color rojo y el ácido muestra un verde fluorescente.

b) Se disuelve la muestra en ácido sulfúrico y se deja reposar por 5 minutos, aparecerá un color amarillo.- Se diluye la solución con agua destilada, se observa que el color desaparece y queda una solución clara.

c) Se disuelve la muestra en ácido sulfúrico y se deja en reposo 5 minutos, se produce un color anaranjado.- Se diluye la solución con agua y el color cambia a amari--llo, luego gradualmente pasa a verde.

Detección de Glucosa (18)

La glucosa es un azúcar muy común en los vegetales ya al propio estado libre o combinada con los aglicones, formando glicósidos.

Su detección es bastante fácil, basándose en su poder reductor.

Como sabemos, el licor de Fehling es el más conocido reactivo para detección de azúcares reductores.

a) *Prueba de Fehling:* Para efectuar el ensayo, se toman partes iguales de Fehling A y Fehling B y se ponen en un tubo de ensayo sobre la muestra, calentando suavemente, en caso positivo aparece un color anaranjado rojizo.

b) *Prueba de Benedict:* Se agrega a la solución de Benedict una gota de solución problema. Aparece un precipitado amarillo anaranjado que confirma la naturaleza reductora.

Prueba de Folin Wu para Azúcar Reductora

Se toman 2 cc. de filtrado azucarado, se le añaden 2 cc. de sulfato de cobre, se ajora a 25 cc. con agua destilada, se calienta en baño maría por 8 minutos y se le añaden 2 cc. de ácido fosfomolibdico. Se hace una prueba en blanco con agua destilada. Ambas soluciones, problema y blanco, son leídas en el Fotocolorímetro de Klett. (16)

Tiempo de formación de la Osazona:

Se colocan 0.2 gr. de azúcar 0.4 gr. de clorhidrato de fenilhidracina, 0.6 gr. de acetato sódico y 4 cc. - de agua en un tubo de ensayo. Se tapa el tubo suavemente con un trozo de algodón y se calienta en baño de agua hirviendo. Se ve el tiempo transcurrido desde que el tubo se coloca en el baño de agua hasta que aparece el precipitado. El tiempo de formación teórico para la Osazona de la d-glucosa es menos de 5 minutos. (18)

Derivados Acetilados y Osazonas:

Se prepararon tres derivados para comprobar que - el azúcar reductor aislado de las raíces secas de *Arum maculatum* es la glucosa.

- a) Acetato de Sodio sólido y anhídrido acético -- (19)
- b) Piridina anhidra y Anhídrido acético (19)
- c) Fenilhidracina (18)

Determinación de la Rotación Específica:

El ángulo de giro del plano de polarización de la luz, en los compuestos ópticamente activos, se determina por medio de un polarímetro.

La determinación de la rotación específica es muy útil en la identificación de azúcares.

Su cálculo se hizo mediante la fórmula:

$$(\alpha_{\text{D}}) t = \frac{100 \cdot \alpha}{L C D}$$

Donde α es el ángulo de rotación que resultó ser positivo (+), la medida se efectuó con la disolución del azúcar; L es la longitud del tubo en decímetros del polarímetro; C, es la concentración de la solución expresada en gr. de soluto en 100 cc. de disolución, se determinó por la prueba de Folin Wu (16); D, es el peso específico del líquido, determinado por el método del pignómetro (18); t, es la temperatura de la solución.

Detección de Proteínas:

Son todas reacciones de coloración. (8)

a) Reacción de Millon:

Se hierve la solución de una proteína con otra de nitrato y nitrito mercúrico, se forma un coágulo o una coloración rojo pardo. Se debe al grupo fenólico. También si se hierve la solución de proteínas con el reactivo de Millon y se agregan unas gotas de solución de NO_2Na al 1%, aparecerá una coloración roja.

b) Reacción Xantoproteica:

Las proteínas se tratan con ácido nítrico concentrado, dan coloración amarilla que pasa a anaranjada - por adición de amoníaco.

c) *Reacción de Páuli:*

El reactivo es ácido sulfanílico diazoado y produce un color rojo en un medio alcalinizado con carbonato de sodio, que pasa al amarillo al acidificar.

d) *Reacción de la Ninhidrina:*

Por ebullición de la solución acuosa o neutra y agregando después el reactivo, aparece una coloración - debido a los productos de hidrólisis de la proteína. -

e) *Reacción de Biuret:*

A la solución de la proteína se agregan unas gotas de solución de sulfato de cobre al 1% y lejía de sosa en exceso, aparece una coloración rosada o violeta. La dan las proteínas y Polipéptidos; pero no los aminoácidos y los dipéptidos. Su nombre es impropio, pues no se debe al Biuret, sino a la presencia de los enlaces peptídicos.

f) *Reacción del Sulfuro de Plomo:*

Se hierve la proteína con solución de sosa cáustica y una sal de plomo. Se forma un precipitado negro de sulfuro de plomo, si en la proteína existen grupos -SH.

g) *Reacción del Alcohol Absoluto:*

Si a la solución de proteína se le añaden algunos ml. de alcohol absoluto observaremos la aparición de un precipitado.

Detección de Alcaloides:

Se tritura la muestra seca y se deja en maceración con cloroformo, luego se añade una mezcla en partes iguales de NH_3 0.05N y cloroformo. Se agita y se filtra, luego se agregan unas gotas de H_2SO_4 2N y se agita; se espera -- que se separen las dos capas, con ayuda de un cuenta gotas se extrae la capa acuosa y se le agregan gotas de reactivo Mayer, Draggendorf, Bouchardot. (2)

Detección de Taninos:

a) Para observar material tánico bajo el microscopio se procede así: Secciones del material fresco a ensayar, se mantienen por varias horas en una solución reactiva que se prepara de la siguiente manera: 2 gr. de CuSO_4 -- se disuelve en 50 cc. de agua y se añade NH_4OH hasta redisolución del precipitado que se forma, se agrega más agua hasta completar 100 cc. Los taninos se observarán de color pardo.

b) Si se desea demostrar en una muestra la presencia de ácido tánico o ácido gálico, se trata la muestra -- con agua caliente, se filtra y se añaden gotas del reactivo de Sanin, el cual precipitará el ácido tánico pero no -- el ácido gálico de sus soluciones acuosas.

c) Una reacción general para detectar taninos consiste en calentar unos gr. de la muestra en agua, enfriar

y filtrar. Sobre el filtrado agregar S.R. de $FeCl_3$. Se observará una coloración que va del verde azul al marrón. -
(2)

Detección de Almidón:

El almidón es el carbohidrato de reserva que existe en mayor cantidad en los tejidos vegetales, fácilmente se pone en evidencia su presencia mediante unas gotas de solución de yodo diluido; los granos de almidón toman un color azul intenso.

Detección de Grasas:

Los aceites fijos se evidencian haciendo un corte muy fino del tejido que se investiga y se deposita sobre un porta objetos que esté sumamente limpio; se le añade una gota de Sudán III en alcohol y se espera 5 minutos para examinarlo al microscopio con gran aumento; se observan glóbulos teñidos de rojo que no son otra cosa que gotas de aceite impregnadas en el colorante agregado.

Detección de Mucílagos:

Se demuestra la presencia de mucílagos en tejidos vegetales cuando secciones de estos se colocan en una solución fuerte de azul de metileno en partes iguales de alcohol absoluto, glicerina y agua; al cabo de varios mi-

nutos se descarta el exceso de tinte lavando los cortes -- con agua y se montan en glicerina sobre un porta objetos. -- Las células que contengan mucílagos exhibirán contenidos azulosos.

Detección de Vitamina C:

Para detectarla se procede así: Un pedazo de papel filtro se impregna con solución reactiva de K_2NO_4 ; una vez seco se pone sobre él una gota de extracto de raíces, se añaden varias gotas de solución de cloruro de benidina. En caso positivo el papel se colorea de azul en toda su extensión, excepto el punto donde se coloca la gota del extracto que permanecerá inalterable. (2)

2.- EXTRACCIONES

Determinación de Saponinas:

a) Se prepara un extracto acuoso por digestión de 100 gr. de raíces secas y pulverizadas de *Arum maculatum* (Aro manchado, Corazón de María) con 500cc. de agua a temperatura de 90° C. durante 2 horas. Se filtra; y después de agotar las raíces se concentran los líquidos de extracción y se calientan al baño maría en una cápsula, hasta -- lograr una consistencia firme, se llevan a un desecador -- de vacío; se extrae con 500 cc. de alcohol absoluto hir-- viendo a reflujo durante una hora. Se asegura el agota---

miento, se concentra a 400 cc. se hierve y se filtra con carbón animal. Al líquido decolorado por carbón se le aña de 5 gr. de óxido de magnesio. Después de filtrar, se preci pita sobre dos volúmenes y medio de éter etílico seco. Se filtra y deseca. Se realizan pruebas cualitativas y -- cuantitativas con esta saponina. (9)

b) Parte de la saponina se somete a hidrólisis -- con HCL diluído (1:1) a reflujo por 4 horas, se precipita en caliente con agua, se filtra y se verifica una segunda extracción con heptano. Se decolora en forma similar a la saponina y se recristaliza en acetona. Se realizan prue-- bas con la sapogenina aislada.

Determinación de Sapogeninas y Glucosa:

a) 300 gr. de raíces secas y pulverizadas, se ma-- ceran con alcohol desnaturalizado con 5% de benceno, se a gota con 3000 cc. se filtra y se concentra a 600 cc. El -- extracto alcohólico anterior, se hidroliza con 30 cc. de ácido clorhídrico y 30 cc. de agua, llevándolo a ebulli-- ción en aparato de reflujo por 4 horas, al cabo de las -- cuales, se agrega en caliente 700 cc. de agua fría, sepa--rándose la sapogenina en forma de un precipitado coposo -- de color pardo oscuro. Se filtra y el papel filtro conte-- niendo el precipitado se lleva con cuidado a un matraz -- que contiene 700 cc. de heptano, se extrae a reflujo du-- rante 2 horas. Se repite la operación para asegurar el --

agotamiento. Se concentra hasta 150 cc. se decolora hirviendo y filtrando con carbón animal. Al líquido decolorado, se le añade 5 gr. de óxido de magnesio. Se recristalizan en acetona y alcohol. Por permanencia en la nevera se obtienen unos copos blancos que se filtran y secan.

b) El líquido separado por filtración de la saponina, se evapora a sequedad y se extrae tres veces con alcohol de 90°, el que queda agotado de azúcar. Se evapora el alcohol hasta consistencia de jarabe y el residuo se disuelve en 50 cc. de agua. Se calienta a 50° C. con carbón animal, se filtra sobre un embudo con doble papel filtro recubierto con carbón animal. Se purifica con hipoclorito de sodio. Sobre el líquido azucarado se investiga la naturaleza del azúcar.

Determinaciones Varias:

Son hechas con raíces secas y pulverizadas de --- *Arum maculatum*, empleando métodos corrientes del laboratorio de Análisis Bromatológico. (17)

- a) Carbohidratos
- b) Proteínas (Métodos de Kjeldahl)
- c) Grasas (Métodos de extracción con éter)
- d) Fibra Cruda (Tratamiento con ácido y álcali)
- e) Humedad
- f) Cenizas.

3.- DETERMINACION DE ESTRUCTURA QUIMICA

*Por medio de espectros infrarrojos, se trató de -
determinar la estructura química de la sapogenina obteni-
da.*

R E S U L T A D O S

1.- PRUEBAS PRELIMINARES

Detección de Glicósidos: Positivo

Detección de Glicósidos Antracénicos: Negativo

Detección de Glicósidos Cianogenéticos: Negativo

Detección de Glicósidos Saponínicos: Positivo

En base a su determinación por métodos químicos, - físicos y biológicos, se tienen los resultados siguientes:

Métodos Químicos:

Las tres pruebas realizadas resultaron positivas.

Método Físico:

Se observó la formación de una fuerte y persistente espuma, tomando la prueba positiva.

Métodos Biológicos:

a) Acción Hemolítica Positiva

b) Índice Hemolítico: Positivo

La mayor dilución en que aún es visible la Hemólisis, fue en el tubo que contenía 0.1 de la disolución de saponina al 1%. Resultando el Índice Hemolítico 1:8000. -

El cálculo se hace de la siguiente manera:

1————— 100

X————— 0.1

$X = 0.001$ gr. de saponina que hemolizan a 0.1 de sangre.-
como tenemos un volúmen total de 8 cc. procedemos:

$$\begin{array}{r} 0.001 \text{-----} 1 \\ 8 \text{-----} X \end{array}$$

$$X = 1:8000$$

Detección de Saponinas de Naturaleza Esteroide:

Se observó que las siguientes reacciones dieron - resultados positivos empleando la saponina aislada según el método descrito en el capítulo anterior.

- 1.- Reacción de Lieberghman - Burchard.
- 2.- Prueba A
- 3.- Reacción para colesterol.

Prueba B.

La prueba con el reactivo de m-dinitro bence no alcalina que es el ensayo para los esteroides que poseen el grupo ceto, resultó negativa.

REPOSICIÓN GENERAL

Detección de Glucosa:

Prueba de Fehling y Benedict: Positiva

Prueba de Folin Wu para azúcar Reductora: Positiva

La concentración de glucosa encontrada según el método descrito en el capítulo anterior fue de 835.2 mg.%

El cálculo se hace de la siguiente manera:

Lectura de solución problema. 880

Lectura de solución blanco. 10

Factor de la glucosa. 0.96

$$(880 - 10) \times 0.96 = 835.20 \text{ mg.}\%$$

Tiempo de formación de la Osazona:

El tiempo resultó ser de 4 minutos 35 segundos. -

Derivados Acetilados y Osazonas:

Los derivados acetilados presentaron puntos de fusión mas exactos que las Osazonas, ya que estas son difíciles de obtener en forma pura.

a) Punto de fusión 111 - 113° C.

b) Punto de fusión 130 - 132° C.

c) Punto de fusión 200 - 201° C.

Determinación de la Rotación Específica:

La rotación específica encontrada siguiendo el mé

todo descrito en el capítulo anterior fue de: + 53.2°

El cálculo se hizo empleando la fórmula:

$$(\alpha)_D^t = \frac{100 \cdot \alpha}{L.C. D.}$$

$$(\alpha)_D^{20} = \frac{100 \times 0.9}{2 \times 0.8352 \times 1.0128} = + 53.2^\circ$$

Detección de Proteínas:

- | | |
|-----------------------------------|----------|
| a) Reacción de Millon: | Positiva |
| b) Reacción Xantoproteica: | Positiva |
| c) Reacción de Pauli: | Positiva |
| d) Reacción de la Ninhidrina: | Positiva |
| e) Reacción de Biuret: | Positiva |
| f) Reacción del Sulfuro de Plomo: | Negativa |
| g) Reacción del Alcohol Absoluto: | Positiva |

Detección de Alcaloides: Positiva

La prueba da mejor resultado empleando las raíces secas y macerando por largo tiempo.

- | | |
|--------------------------|----------|
| Detección de Taninos: | Negativa |
| Detección de Almidón: | Positiva |
| Detección de Grasas | Positiva |
| Detección de Muscílago: | Positiva |
| Detección de Vitamina C: | Negativa |

2.- EXTRACCIONES

Determinación de Saponinas:

a) Se llevaron a cabo pruebas preliminares directamente con la saponina aislada de las raíces secas de *Arum maculatum*, siendo los resultados mejores que empleando las raíces frescas. Las pruebas resultaron positivas.-

b) La sapogenina obtenida por hidrólisis, se sometió a las pruebas preliminares descritas en el capítulo anterior para detectar su naturaleza esteroidea, resultando positiva.

Determinación de Sapogeninas y Glucosa:

a) Se presentó dificultad en la obtención del precipitado de sapogeninas, por su naturaleza higroscópica.- Se necesitó para su purificación repetidas recristalizaciones. Las solubilidades que presentó fueron: mayor solubilidad en caliente, en acetona y alcohol etílico. Soluble en tetracloruro de carbono, cloroformo, benceno, éter etílico y éter de petróleo. Poco soluble en ácido acético e insoluble en agua. Se detectó en forma positiva la naturaleza esteroidea de esta sapogenina, según procedimiento descrito en capítulo anterior. El porcentaje de sapogenina obtenido fue: 0.69 %.

b) Investigada la naturaleza del líquido azucare-

do, separado por filtración de la sapogenina y extraído con alcohol, resultó ser glucosa.

Determinaciones Varias:

Los resultados obtenidos son:

Carbohidratos:	73.04 %
Proteínas:	4.88 %
Grasas:	0.91 %
Fibra Cruda:	2.10 %
Humedad:	12.98 %
Cenizas:	6.09 %

3.- DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA QUIMICA DE LA SAPOGENINA.

a) Interpretación de Espectros.

En los espectros obtenidos por infrarrojo, adjuntos al presente trabajo, se hicieron las siguientes interpretaciones:

En la región de 2850 - 2950, hay picos que indican enlaces C-H pueden ser CH_3 y CH_2 , a 1380 está la comprobación de grupo CH_3 y a 1460 la comprobación de grupo CH_2 . - La banda a 720 indica que hay un número mayor de cuatro - grupos (CH_2). La banda a 1750 sería impureza de grupo carbonilo, los ésteres aparecen en esa región pero no hay -- comprobación en 1300 a 1050, se concluye que esa banda indica una impureza. El infrarrojo indica una cadena alifática larga.

ABSORBANCE

1.0
.80
.60
.50
.40
.30
.20

4000

3500

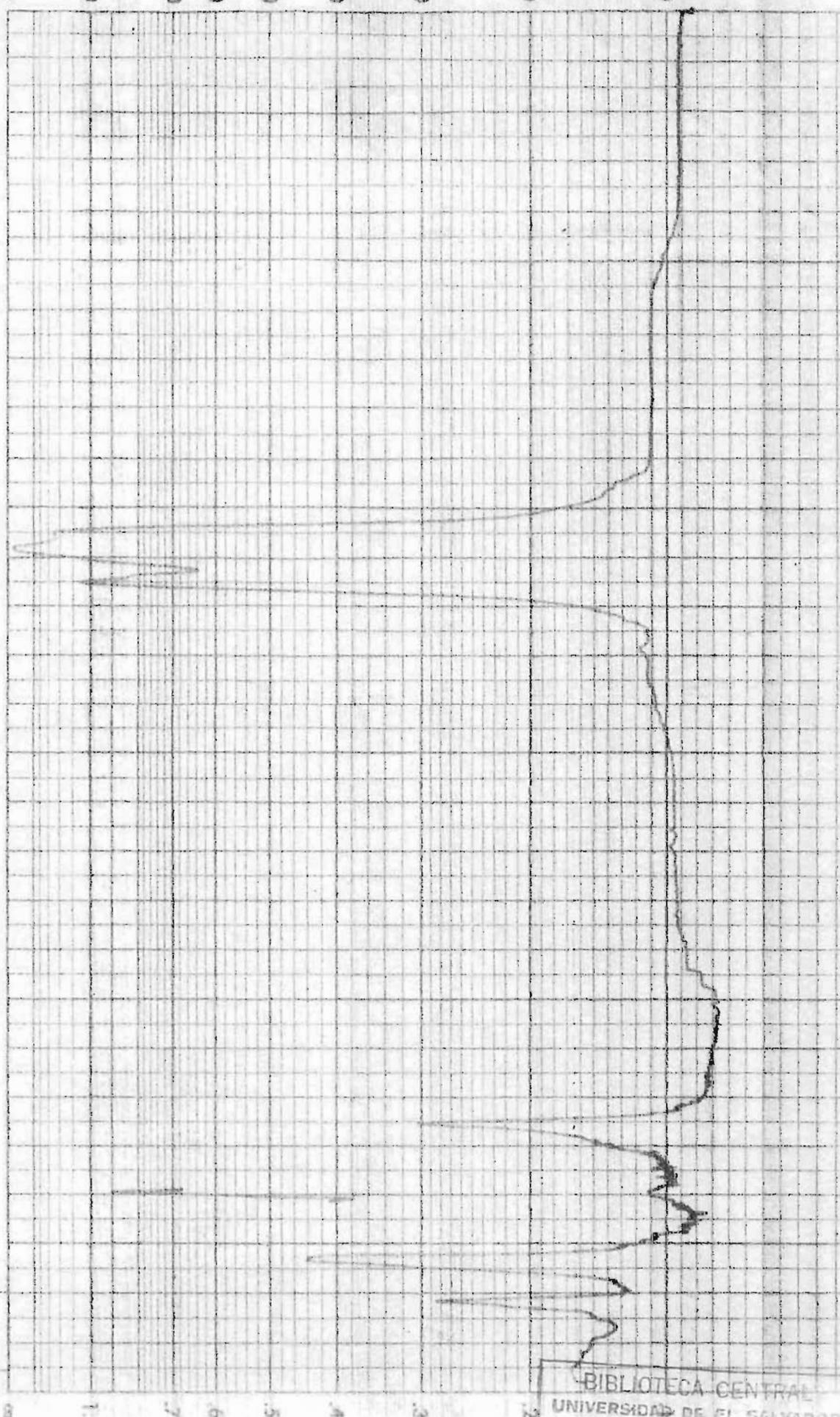
3000

2500

2000

1500

FREQUENCY (CM⁻¹)



SAMPLE *Acetic anhydride*

ORIGIN

CURVE No. *6912*

CONC. —

CELL PATH —

SCAN SPEED

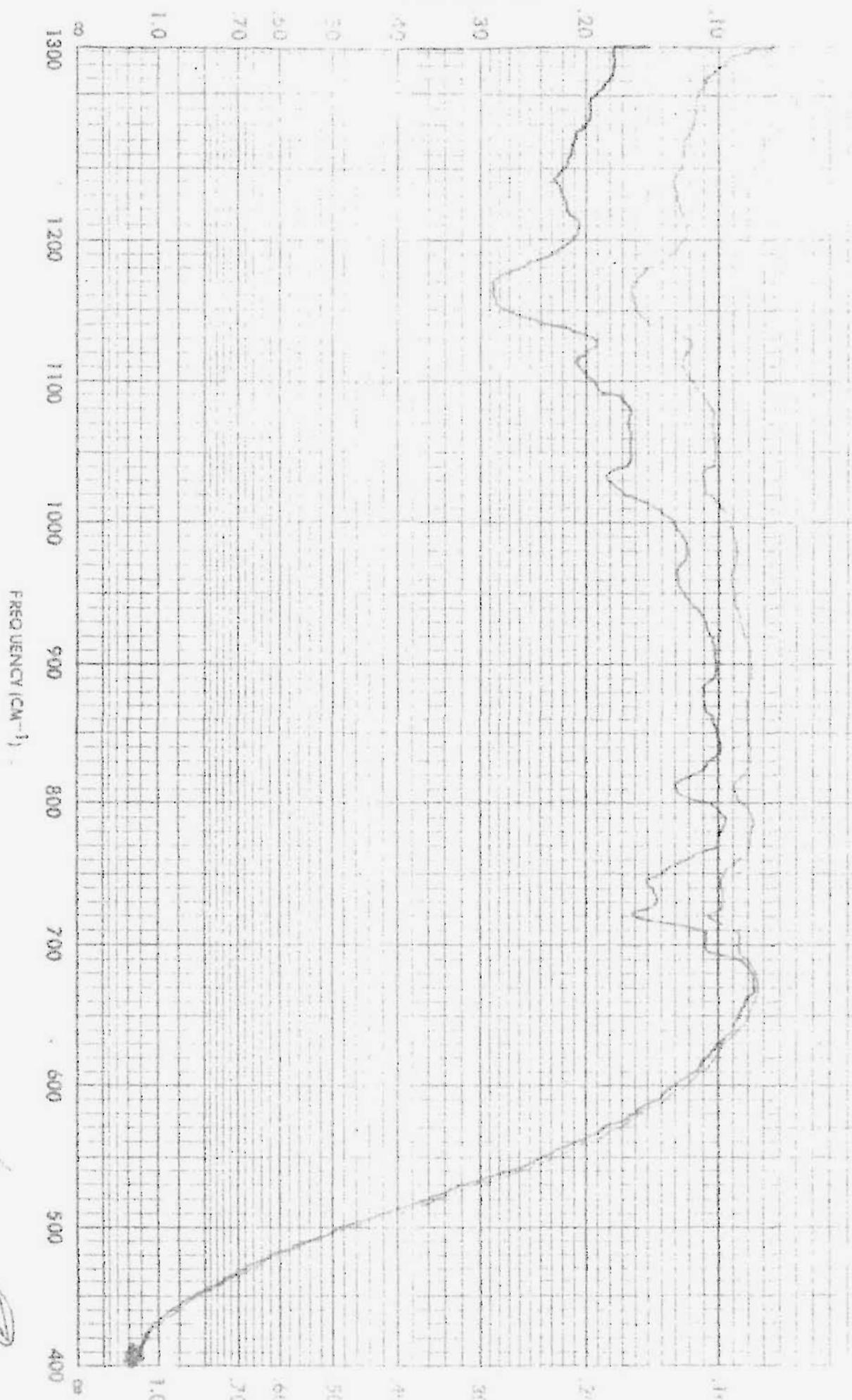
SUIT

OPERATOR *[Signature]*

DATE *12/14/75*

REMARKS *[Signature]*

ABSORBANCE



SAMPLE	<i>Acetic acid</i>	CURVE No.	<i>5812</i>	SCAN SPEED	<i>Fast</i>	OPERATOR	<i>[Signature]</i>
ORIGIN		CONC.		SPLIT		DATE	<i>11/12</i>
SOLVENT		CELL PATH		REMARKS			<i>[Signature]</i>

D I S C U S S I O N

Las raíces del *Arum maculatum* (Aro manchado, Corazón de María), pueden ser utilizadas como fuentes de saponinas para uso industrial. Lo que motiva principalmente a la investigación de las plantas que contienen saponinas, es tratar de descubrir nuevos precursores de la cortisona.

Los organismos de investigación académica e industrial estudian muchas especies vegetales, particularmente las que contienen saponinas esteroideas. Para determinar si cualquier compuesto esteroide es conveniente como precursor de la cortisona, se debe tener en cuenta si posee hidroxilos en los carbonos 3 y 11 de su molécula, o si es capaz de adquirir fácilmente tal estructura.

La sapogenina esteroideal encontrada en el *Arum maculatum*, no presenta grupos hidroxilos, lo cual es comprobado por el espectro infrarrojo. La biosíntesis de las numerosas hormonas esteroideas de la corteza suprarrenal, gónadas y placenta es una especialización extremadamente compleja, teniendo en cuenta que se han aislado más de 70 esteroideas diferentes de la glándula suprarrenal solamente.

Además de la biosíntesis natural de las hormonas esteroideas por las glándulas endocrinas animales, la conversión microbiológica de otros esteroideas para obtener estas hormonas es de considerable importancia en la industria farmacéutica moderna. Debido a que la actividad glucocorticoide depende de la presencia de un oxígeno en la posición 11 del núcleo esteroide; y dado que la introduc---

ción del mismo en ese sitio por métodos químicos clásicos es extremadamente dificultosa, se han empleado numerosos microorganismos para convertir una hormona en otra que -- presente dicha actividad. (6)

El *Arum maculatum*, por contener una sapogenina de naturaleza esteroïdal, puede emplearse para obtener hormonas de gran actividad, sometiendo sus risomas a procesos adecuados. Además de la sapogenina esteroïdal, considerada el principal constituyente, dichos risomas contienen a bundante carbohidratos y proteïnas, por lo que puede procesarse y obtener una harina comestible de gran alimento.

En el Salvador, esta planta no presenta mayor uti lidad, únicamente se usa como planta decorativa en jardines.

C O N C L U S I O N

- 1º La sapogenina de naturaleza esteroïdal aislada de los risomas de *Arum maculatum*, es considerada como el --- principal constituyente. El porcentaje de sapogenina obtenida fue de 0.69%. De los espectros obtenidos por infrarrojo se deduce que su probable estructura química presenta grupos CH_3 , CH_2 y una cadena alifética larga.
- 2º El azúcar separado de la sapogenina esteroïdal es glucosa. Se considera de gran exactitud su determinación por medio de la Rotación Específica que fue $(\alpha)_D^{20} = + 53.2^\circ$, igualmente su concentración empleando el método de Folin Wu que fue de 835.20 mg.%. Además fue - de gran ayuda el tiempo de formación de la osazona y la preparación de sus derivados.
- 3º La saponina extraída de los risomas, posee una acción espumante y hemolítica bastante fuerte. La valoración de su Índice Hemolítico fue de 1:8000.
- 4º A pesar de que los risomas del *Arum maculatum* poseen propiedades cáusticas y venenosas, contienen sustancias consideradas con propiedades medicinales y alimenticias. En las varias determinaciones que se llevaron a cabo, se encontró un alto porcentaje de carbohidratos, 73.04 %; las proteínas se encontraron con un 4.88 %; las sustancias grasas con 0.91 %. Además se - le determinó el residuo celulósico o fibra cruda con 2.10 % y cenizas, 6.09 %.

- 5º *En una forma cualitativa se detectó la presencia de - almidón, alcaloides y mucílago.*
- 6º *Las sustancias extraídas pueden ser consideradas como fuentes para una posible industrialización, ya que -- los métodos empleados son sencillos y el material es de fácil adquisición.*

B I B L I O G R A F I A

- 1º ALFONSAS BALBACHIS y RODRIGUEZ R. Herminio "Las Plan-
tas Curan", 2ª Edición, Editorial La --
Verdad Presente, Argentina - Pág. Nº190
- 2º ALBORNOZ, Américo R. "Guía Farmacognósica de Drogas -
Vegetales. Revista de la Facultad de --
Farmacia. Universidad Central de Vene--
zuela Nº 11 (1963)
- 3º CAÑIZARES, Felipe García Dr. "Botánica General y Des-
criptiva", Pág. Nº 320, 324 (1930).-
- 4º CARVAJAL, Pío Arias Prof. "Plantas que curan y Plan--
tas que matan", 2ª Edición, Pág. Nº 289
(1915)
- 5º CASAMADA R. "Farmacognosia con Farmacodinamia", Edito
rial Científico Médica, 1ª Publicación
(1968), Barcelona.
- 6º CLAUS Edward P., Tyler Varro E. (h) "Farmacognosia",-
5ª Edición, Pág. Nº 110 (1965)
- 7º CREAM Y HAMMOND "Química Orgánica", Pág. Nº 555, 560,
(1963)

- 8º DEVORE G., MUÑOZ NENA E. "Química Orgánica", 1ª Edición en español, Pág. Nº 571, 660, 628, (1969)
- 9º "FARMACOGNOSIA ANALISIS", Nº 12, (1941)
- 10º FIESER L., y FIESER M., "Organic Chemistry", Heath -- N.Y., Pág. Nº 1023, 1150, 1202 (1950).-
- 11º GUZMAN, David J. Dr., "Especies Utiles de la Flora -- Salvadoreña", Pág. Nº 40
- 12º GILG, Ernest Dr. y SCHURHOFF P.N. Dr. "Botánica aplicada a la Farmacia", 3ª Edición, Pág. - Nº 433, 434 (1950)
- 13º HAWK OSER SUMMERSON "Practical Physiological Chemistry Thirtenth Edition (1954)
- 14º KIRK - OTHMER "Enciclopedia de Tecnología Química" -- Pág. Nº 179, 181, Tomo XIV
- 15º LAGOS, Jorge A., Comunicación Personal.
- 16º MANUAL DE METODOS CLINICOS: L.B - TROL

- 17º *MANUAL DE LABORATORIO DE ANALISIS BROMATOLOGICO DEL DEPARTAMENTO DE FARMACIA. Universidad Autónoma de El Salvador.*
- 18º *MC. ELVAIN, Samuel, "The Characterization of Organic Compounds"*
- 19º *RAPLH L. SHRINES, Reynold C. FUSON, David Y. CURTIN "The Systematic Identif. of. Organic - Compounds 5ª Edición 247 - 1964.*
- 20º *WARMKE, H.E. Amer Jour, Bot. 29 Suppl - 1942.*