



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**AISLAMIENTO DE SAPOGENINAS  
TOTALES Y DE ESMILAGENINA DE  
Yucca elephantipes Regel (Izote)**

**TESIS**

PRESENTADA POR

**ROMEO ALFREDO MAJANO ARAUJO**

PREVIA OPCION DEL TITULO DE

**LICENCIADO EN QUIMICA Y FARMACIA**

ABRIL DE 1969

M233a  
1909  
F. CC. Q. Q.  
Ej. 5.

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

DR. JOSE MARIA MENDEZ

Secretario General Interino

DR. JOSE RICARDO MARTINEZ

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. RICARDO GAVIDIA CASTRO

Secretario

DRA. RHINA LEMUS DE SALGADO

J U R A D O S D E T E S I S

Dr. Pedro Geoffroy L.

Dr. Carlos Mata Gavidia

Profesor Jorge A. Lagos

D E D I C A T O R I A

A mis padres

A mis hermanos

A mis Profesores, compañeros  
y amigos.

AISLAMIENTO DE SAPOGENINAS TOTALES Y DE  
ESMILAGENINA DE Yucca elephantipes Regel  
( Izote )

C O N T E N I D O

P A G I N A S

1-	INTRODUCCION	1
2-	REVISION DE LITERATURA	6
	A) HISTORIA	
	B) CARACTERISTICAS QUIMICAS Y FISICAS	
3-	ESTUDIO BOTANICO	31
4-	MATERIALES Y METODOS	34
5-	RESULTADOS	37
6-	DISCUSION	38
7-	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	41
8-	RESUMEN	42
9-	BIBLIOGRAFIA	43

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

## INTRODUCCION

Al revisar la literatura sobre productos naturales en los cuales fuera posible aislar saponinas esteroidales, encontramos que en México (6), aparte de estudios en las Dioscoreas, conocidas en este aspecto por su alto contenido en Diosgenina, se inicia la búsqueda de otras especies vegetales que pudieran contener sapogeninas esteroides del tipo de la Dioscorea, tales como la esmilagenina, sapogenina esteroide saturada que fue aislada por primera vez de la raíz de zarzaparrilla de Jamaica (1); Smilax ornata con un rendimiento de 0.02%; después fue encontrada en 29 especies: 4 del género Agave (amarilidácea) y 25 pertenecientes a distintos géneros de la familia de las Liliáceas (11). Los mayores rendimientos fueron 0.75% en Agave lophanta de Texas y 0.8% en Yucca flaccida, también de los Estados Unidos. Se ha registrado su presencia en especies Francesas de Agave sin rendimientos notables (7). De 3000 plantas colectadas y estudiadas por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (16) (17) (18) en busca de sapogeninas esteroides se encontró Esmilagenina en 31 plantas pertenecientes exclusivamente a los géneros Agave (amarilidáceas) y Yucca (liliáceas) con un rendimiento máximo de 1.7% en Agave mayoensis (18) del norte de México, probablemente de la baja California.

La mayor parte de estas especies son raras y escasas, pero algunas de ellas se encuentran muy difundidas como la "lechuguía", Agave lechuguía, que ha sido señalada en Texas como susceptible de industrialización (4). La lechuguía se encuentra más o menos en forma abundante en el norte y centro de México, explotándose de manera primitiva para la manufactura de Ixtle, una fibra dura.

En la operación de raspar las hojas de la planta para obtener la fibra, queda como residuo un gran volumen de raspaduras formadas por la epidermis, la pulpa y las espinas con algo de fibras mezcladas. Semejantes raspaduras se conocen con el nombre de Shishi o Xixi en la capital y otros lugares del centro del país, y se venden en los mercados populares por la abundante espuma que producen con agua utilizándose para lavar (6).

El extraordinario poder detergente de los Xixis o productos similares de diversa procedencia se debe exclusiva o sustancialmente a un glucósido de la esmilagenina.

La cantidad de Sapogenina, así como su pureza varía, según las zonas de procedencia, si bien el origen de todas las sustancias parece ser una sola especie botánica, Agave lechuguía.

En la tabla de la página 3 se muestran los resultados obtenidos en sapogeninas totales y en Esmilagenina pura. Como datos comparativos tenemos los de Russel Marker y Wall referidas a hojas enteras, unas veces de procedencia conocida y otras veces no.

En especies determinadas como Agave lechuguía, Marker encontró 0.5% de esmilagenina en una planta de Texas (11) y Wall, de 0.1% a 1% en plantas de procedencia no determinada (16) y de 0.2 a 0.6% en plantas del norte de México (18).

En especies determinadas como Agave leophanta tan cercano a Agave lechuguía, que hay quienes la consideran variedad de una misma especie, Marker encontró 0.75% en una planta de Texas (11) y Wall 1% en una planta de procedencia no determinada (17).

RENDIMIENTOS EN ESMILAGENINA DE MATERIALES MEXICANOS PROCEDENTES

DE Agave lechuguía (6).

% materia seca

	Sapogeninas Totales.	Esmilagenina Pura.
-----		
Hoja entera:		
Lechuguía ixmiquilpan	0.40	0.20
Lechuguía de San Luis Potosí	0.29	0.10
Maguey enano (no identif)	0.60	0.30
Raspaduras:		
Xixi mercados, D. F. (promedio)	1.30	0.75
Shité ixmiquilpan	0.86	0.39
Xixi de San Luis Potosí	3.10	0.93
Guiche Monterrey	1.40	0.80
Xixi de maguey cimarrón (no identificado)	-----	0.80

El Dr. Francisco Giral, basándose en los datos anteriores (6) publica que si se encuentran en abundancia y a bajos precios algunos de estos materiales pueden constituir un incentivo para aprovechar la esmilagenina con fines industriales.

En vista de lo anterior decidimos hacer estudios preliminares en distintos productos de la flora salvadoreña con el fin de averiguar, por lo menos cualitativamente, la existencia de una buena cantidad de saponinas, para posteriormente proceder a la obtención de esmilagenina en aquellas plantas que cualitativamente mostraran un alto contenido de saponinas (para ésto nos valimos del método de espuma y de el índice hemolítico). Nuestros trabajos los orientamos principalmente hacia especies de las liliáceas.

Después del estudio cualitativo nos decidimos por el estudio de una especie en particular, con el fin de determinar su contenido cuantitativo en saponinas totales y, en especial en la saponina esteroide saturada llamada esmilagenina.

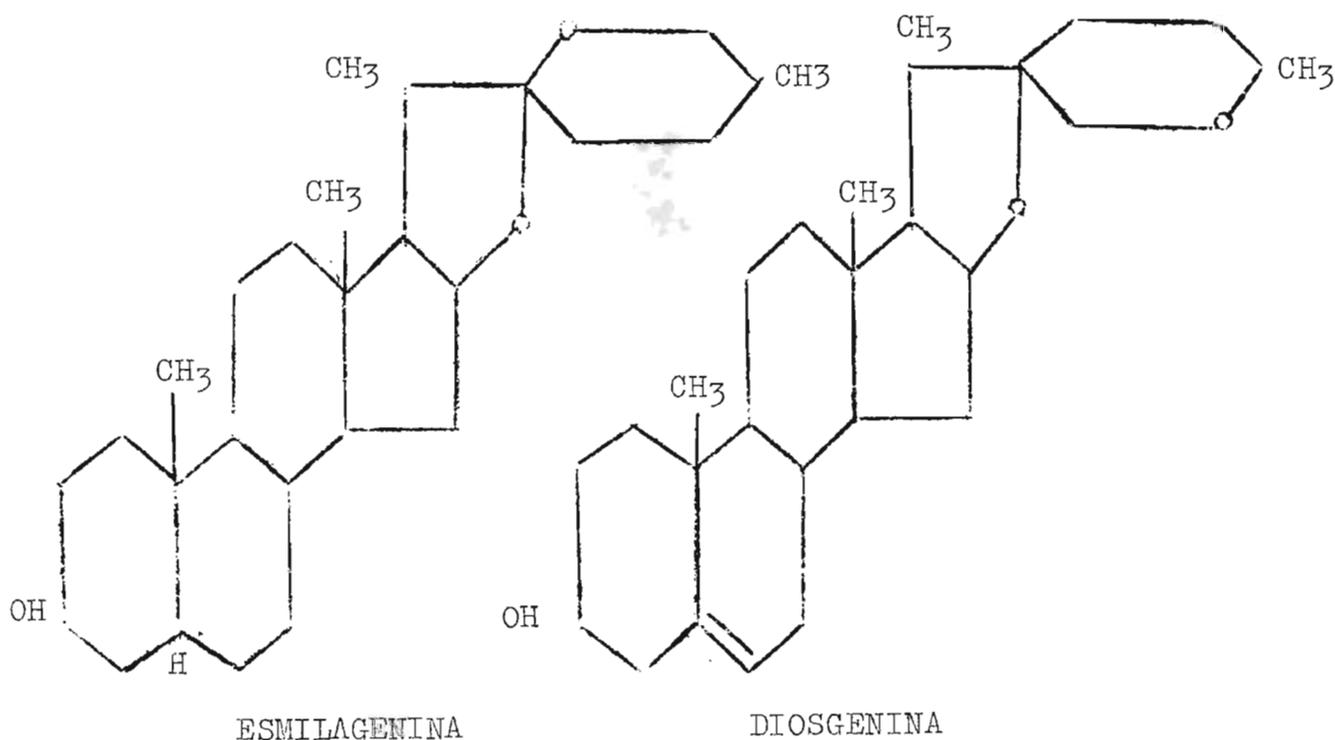
Fueron tres los factores que nos indujeron a trabajar en Yucca elephantipes Regel (3)

- 1- Resultado positivo de las pruebas cualitativas que nos indica un alto contenido en saponinas.
- 2- Que en otra especie de este mismo género (Yucca flaccida) se había encontrado en el sur de Texas un alto rendimiento en Esmilagenina (11).
- 3- La abundancia de esta plante en la flora nacional.

2.- R E V I S I O N D E L I T E R A T U R A

a.) H I S T O R I A (9)

Nos parece interesante hablar brevemente sobre la historia que condujo al descubrimiento de la Diosgenina, sustancia producida por los órganos de reserva de una planta tropical del género Dioscorea. La Diosgenina difiere muy poco (unicamente un doble enlace) de la Esmilagenina, como se puede apreciar en las estructuras siguientes:



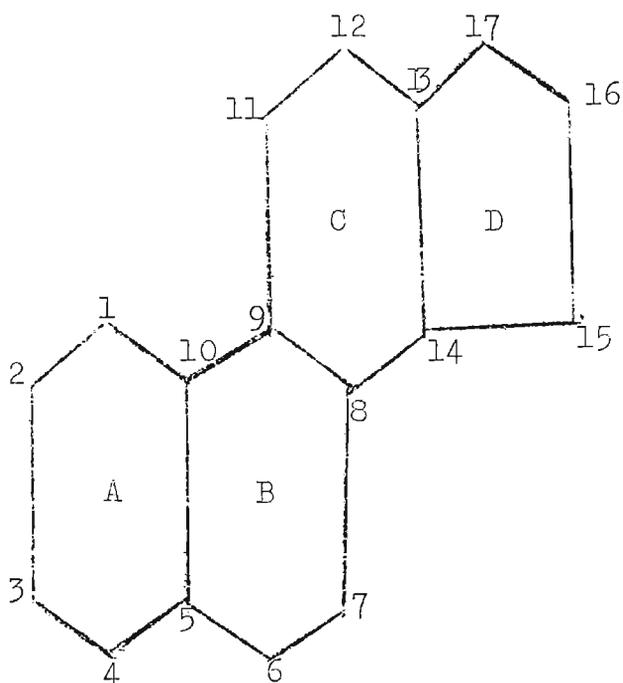
Recordando los primeros días de la industria de hormonas podemos citar al profesor Russel E. Marker como figura clave.

El gobierno Mexicano debería conceder una medalla a Marker por lo que para ese país significan los treinta millones de dólares de la industria de la Dioscorea. Esto se convierte en --- 120.000000 de Dolares de productos elaborados, cifra que crece día a día. Y en lo que al resto del mundo se refiere le debemos mas que a nadie la accesibilidad fácil y barata de las hormonas esteroides. Sin sus contribuciones probablemente no tendríamos las hormonas sintéticas que actualmente conocemos.

Marker nació en Maryland en 1902, se graduó en 1923 en la Universidad de Maryland con un grado de Química Orgánica.

Desde que era estudiante quedó encantado con el amplio y complejo campo molecular de la materia orgánica. Habían un grupo de compuestos que tenía un magnetismo especial para él: los esteroides tan complejos que hacen falta años de intenso trabajo solo para aislarlos e identificarlos. Los esteroides, término genérico que incluye esteroleos (existen tanto en plantas como en animales), hormonas corticales, hormonas sexuales, ácidos biliares y otros compuestos, están formados de moléculas con un número de 17 átomos de carbono dispuestos en cuatro anillos. Es importante para nuestro relato, saber las posiciones de los átomos de carbono, pues tienen un papel muy importante.

En el dibujo estos anillos están "DESNUDOS". En realidad tienen más átomos de carbono, oxígeno, hidrógeno y otros,



en cadenas laterales, conjugados en los puntos expuestos y entre los anillos.

Para poder sintetizar hormona a base de sustancias químicas o formadas a partir de materias primas vegetales, era necesario encontrar una reacción química específica para cada caso que colocara el átomo apropiado en el lugar adecuado. Este campo de la química estaba virtualmente virgen a mediados de 1920, año en que Marker se interesó por primera vez en él.

En 1928, Marker ingresó al Instituto Rockefeller para hacer investigación básica en Química Orgánica. Por primera vez tenía ocasión de poner a trabajar sus ideas; Sin embargo a los 6 años por una desavenencia y a pesar del excelente trabajo realizado, un día Marker abandonó el Instituto.

Entonces pasó a ser profesor de la Universidad del Estado de Pensilvania en la rama de Química Orgánica, en donde publicó el

asombroso total de 147 trabajos científicos sobre esteroides; entre 1935 y 1943, sacó también 75 patentes a nombre de Parke Davis. En ese período le interesaba principalmente las hormonas secretadas por los órganos sexuales. Otros habían aislado Estrona (hormona femenina), Androsterona y testosterona (2 hormonas masculinas); ya se conocía también la progesterona (hormona del embarazo) se decía que uno de cada tres embarazos terminaba en aborto por la insuficiencia de progesterona; la producción de esas hormonas se basaba entonces en costosas extracciones de muchas etapas, practicadas en glándulas y excreciones animales; se producían gramos cuando se necesitaban en realidad cientos de kilos.

Marker llegó a convencerse que los esteroides vegetales eran la respuesta para producir en gran cantidad y a bajo precio las hormonas, empezando una búsqueda agotadora para poder demostrar sus ideas.

Estaba especialmente interesado en las saponinas, sustancias que hacen espuma con el agua y actúan como veneno por que destruyen los eritrocitos. Marker sabía que las saponinas se podían "diseñar" químicamente, de tal modo que resultaran parecidas a las hormonas animales, quitando el azúcar de la molécula y aislando una serie de compuestos llamados sapogeninas. Estas sapogeninas vegetales se convirtieron en la materia prima para fabricar las hormonas sexuales y corticales que consumimos. Millones de gente en todo el mundo, toman píldoras para el control de la natalidad, medicamentos formulados originalmente para combatir la esterilidad, para lo que se ocupan mucho actualmente.

Su primer trabajo se publicó en 1939 en el Journal of the

American Chemical Society, bajo el título de "OBTENCION DE ESMILAGENINA DE RAIZ DE SARSAPARRILLA MEXICANA". X

En sus vacaciones de verano Russel Marker se dedicó hacer sus propias investigaciones botánicas en el sur oeste de los Estados Unidos y en México buscando plantas con sapogeninas suficiente para empezar una producción comercial.

Después de muchos estudios decidió que la Dioscoreas eran la fuente más apropiada por su abundancia y bajo costo. Habían unas 600 especies por todo el mundo de preferencia en el trópico.

Esa predicción fué verdad. En 1940 Marker publicó su primer trabajo sobre la sapogenina Diosgenina, que había sido descubierta 3 años antes por Ueno y Ohta Tsukamoto en la especie Japonesa Dioscorea Tokoro. En este artículo y otros describe como sintetizar, a partir de Diosgenina la hormona del embarazo Progesterona en 5 pasos y la hormona masculina testosterona en 8 pasos.

Estos trabajos son clásicos en la literatura científica pues proporcionan la solución de la escases mundial de hormonas esteroideas.

X: La raíz de este género que también se encuentra en nuestro país contiene 0.035% de Esmilagenina (12).

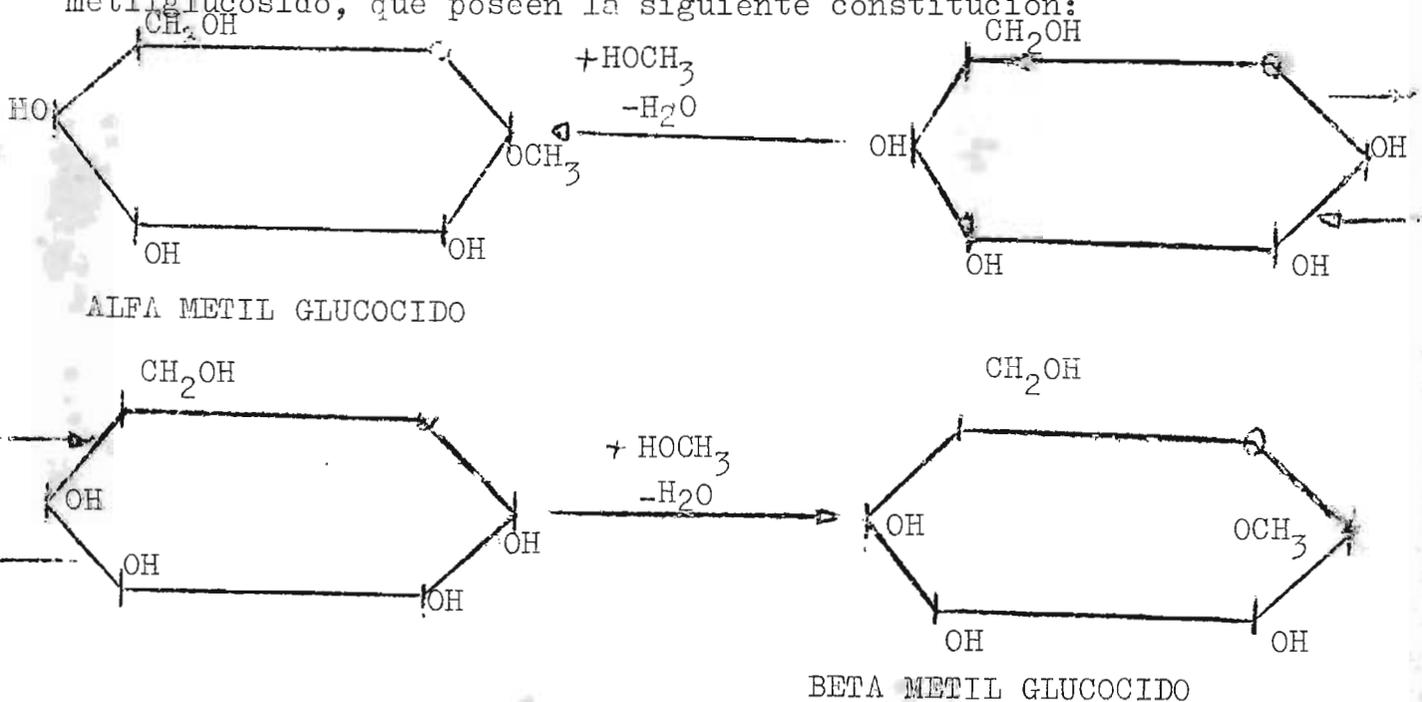
b) CARACTERISTICAS QUIMICAS Y FISICAS

Antes de entrar en consideraciones sobre el trabajo práctico, resultados y conclusiones, nos parece importante dar a conocer brevemente la forma en que estas sustancias o principios activos se encuentran en la naturaleza, así como algunas de sus propiedades químicas, físicas y biológicas; ya que en ningún texto encontramos una visión panorámica de los aspectos antes mencionados. Para tener un concepto claro hemos consultado diversa bibliografía al respecto (15), (8), (5), (13), (14). Tanto la Esmilagenina como la Diosgenina forman parte de compuestos naturales conocidos como heterósidos y más comúnmente como glicósidos.

G L I C O S I D O S

El Enlace Glicosídico.

Los Glicósidos tienen como principio estructural el enlace glicosídico. Si se calienta glucosa con alcohol metílico y ácido clorhídrico, se forma una mezcla de dos sustancias, el alfa y beta metilglucósido, que poseen la siguiente constitución:



Las sustancias de esta naturaleza reciben el nombre genérico de glicósido; corresponden a los acetales completos de los aldehidos; estos compuestos por hidrólisis, se desdoblan en sus componentes. La palabra "GLICOSIDO" representa un concepto más amplio que abarca toda esta clase de sustancias. Los representantes que derivan de la glucosa reciben el nombre de Glucósidos, y los que derivan de la Galctosa se llaman Galactósidos, etc., y el enlace que une al azúcar con el alcohol se denomina enlace glicosídico.

La formación de glicósidos a partir del azúcar y el metanol por catálisis ácida es idéntica a la de obtención de Acetales a partir de los aldehidos. Es evidente que la célula viva no utiliza el alcohol Clorhídrico para la formación de estas sustancias.

La isomería entre el Alfa y Beta glucósidos corresponden a la isomería de la Alfa y Beta Glucosa. No obstante, mientras que en disolución ambas formas de glucosa se encuentran en equilibrio (¿mutarrotación?), los correspondientes glucósidos no se transforman uno en otro. Este hecho resulta fácilmente comprensible si se tiene en cuenta que en los glicósidos el grupo carbonillo se encuentra bloqueado.

En general los glicósidos pueden formarse con alcohol, hidroxilos fenólicos, e incluso, con ácidos carboxílicos originando los llamados "ESTERGLICOSIDOS" . Especialmente en los glicósidos naturales el componente alcohólico (o fenólico) se denomina AGLICON (radical desprovisto de azúcar).

## ANALISIS DE LOS GLICOSIDOS

Este análisis rara vez se puede hacer con el heterosido como tal, sino que previamente es necesario hacer una hidrólisis ya sea por medio de ácidos diluídos o por medio de enzimas y poder separar de esta forma el hidrato de carbono y el aglicón, teniéndolos separados puédese ya comenzar a analizar por separado cada uno de ellos.

Para la identificación del aglicón existen varias técnicas dependiendo de la naturaleza del aglicón, y así tenemos que hay varias reacciones de coloración, las cuales incluso nos pueden llegar a dar un resultado cuantitativo del aglicón.

Según la naturaleza química los aglicones se clasifican así:

- 1- Aglicón Cianogenético
- 2- Aglicón Fenolgenético
- 3- Aglicón Antraquinónico
- 4- Aglicón Resinoso
- 5- Aglicón Saponínico
- 6- Aglicón de estructura desconocida
- 7- Aglicón derivados de ciclo pentano Fenilhidro fenantreno

## GLUCOSIDOS SAPONINICOS

Estos se encuentran en tejido y órganos vegetales y sin entrar en consideración fisiológica con respecto a su formación es necesaria saber que existen en las plantas enzimas o fermentos específicos capaces de hidrolizarlos y a eso se debe que estos glicosidos aumenten o disminuyen en los vegetales sobre todo los ya recolectados, ejemplo en la *Saponaria officinalis* al desecarlas a

55 grados centígrados en el mes de Agosto presenta un índice hemolítico de 1:2,200 y se ha comprobado que en Noviembre a bajado a 1:946.

Hay ocasiones en que es necesario hacer estas hidrólisis. Las saponinas son de naturaleza heterocíclica y al hidrolizarse nos da la sustancia glucídica y el aglicón que llamamos sapogenina. Las saponinas pueden ser neutras o ácidas y presenta como carácter común formar con el agua falsas soluciones dando por agitación una espuma persistente. Contiene C,H y O y muy raro N, S, P, El C está de un 50-65% y el H 6%.

Propiedades: son sustancias amorfas que nos dan con el agua soluciones coloidales o ácidas, neutras, generalmente son polvos blancos, amarillentos, pardos, inodoros, higroscópicos y de un sabor muy variable desde dulce hasta amargo. Se disuelven en ácido sulfúrico dando un color amarillo que pasa luego a rojo, azul verde o violeta. La actividad de la sal de las saponinas a la luz polarizada es muy variada, o muy grande o nula, poseen propiedades hemolíticas bien marcadas, aunque no todas por igual, esta propiedad sirve para su clasificación y dosificación.

La actividad hemolítica desaparece cuando las saponinas forman presipitados de adición con sol, alcohólicas deluidas de lecitina y colesterol. Estas soluciones se descomponen tratándose con Xilol, alcohol etílico o metílico hirviendo, con lo cual se recupera la actividad Hemolítica.

#### ACCION FISIOLOGICA:

Son venenos protoplasmáticos que producen alteraciones anató-

micas en los lugares de administración.

Son irritantes de la mucosa en la que provocan numerosas secreciones.

#### H I D R O L I S I S:

Por medio de sus enzimas específicas o de los ácidos minerales diluïdos se descomponen en la sustancia glucídica y en el a--glicón que son las llamadas sapogeninas, sustancias insolubles en el agua, solubles en el alcohol, acetona, ácido acético, eter y cloroformo.

Las sapogeninas neutras son fuertemente hemolíticas y están constituidas unicamente por un sapogenol de cuatro núcleos conjugados. Las sapogeninas ácidas que generalmente son sustancias amorfas y poco o nada tóxicas lo contrario de las neutras, están constituidas por un núcleo terpénico.

#### O B T E N C I O N:

Sumamente difícil pues las saponinas son enérgicas absorbentes que retienen las sustancias más variadas de las cuales no se pueden separar como no sea con grandes dificultades, todas son solubles en alcohol, principalmente hirviendo. No hay un método general para su obtención.

#### I D E N T I F I C A C I O N :

Se hace absorber por un papel filtro una disolución de saponina, por otra parte se humedece gelatina con solución fisiológica la que se calienta a 40 grados centígrados hasta solución.

Eventualmente se clarifica con clara de huevo y se filtra sobre algodón, se neutraliza por bicarbonato de sodio y después de

enfriar entre 30 y 35 grados centígrados se añade sangre desfibrinada de manera que se mezcle íntimamente. Se licúa esta gelatina con sangre y se coloca sobre dos placas de vidrio dejándose coagular. Luego se coloca el papel filtro que contiene la solución de saponina entre las dos capas de vidrio y al cabo de 24 horas se observa la zona de hemólisis.

### VALORACION DE SAPONINA

Para la valoración de saponina hay tantos métodos físicos, químicos y fisiológicos.

### MÉTODOS QUÍMICOS:

1o. Por acidimetría: Para las saponinas ácidas en las cuales existe un radical carboxilo unido al núcleo terpénico, se comportan como ácidos débiles monobásicos, por lo que se ha ideado un método de titulación con hidróxido de sodio usando como indicador fenoftaleína.

MÉTODOS DE LA VARITA, PLOMO O MAGNESIA: Las saponinas forman con estos compuestos combinaciones que precipitan más o menos abundantemente y que luego se calcinan hasta cenizas.

### MÉTODOS FÍSICOS

Método de espuma: se aprovecha la particularidad de las saponinas de producir con el agua mediante agitación, una espuma persistente.

Para esto se hace una solución de las saponinas de 1:1000 y a partir de ésta se ve cual es la mayor dilución y produzca una espuma de un centímetro de altura durante 15 minutos.

VALORACION BIOLOGICA:

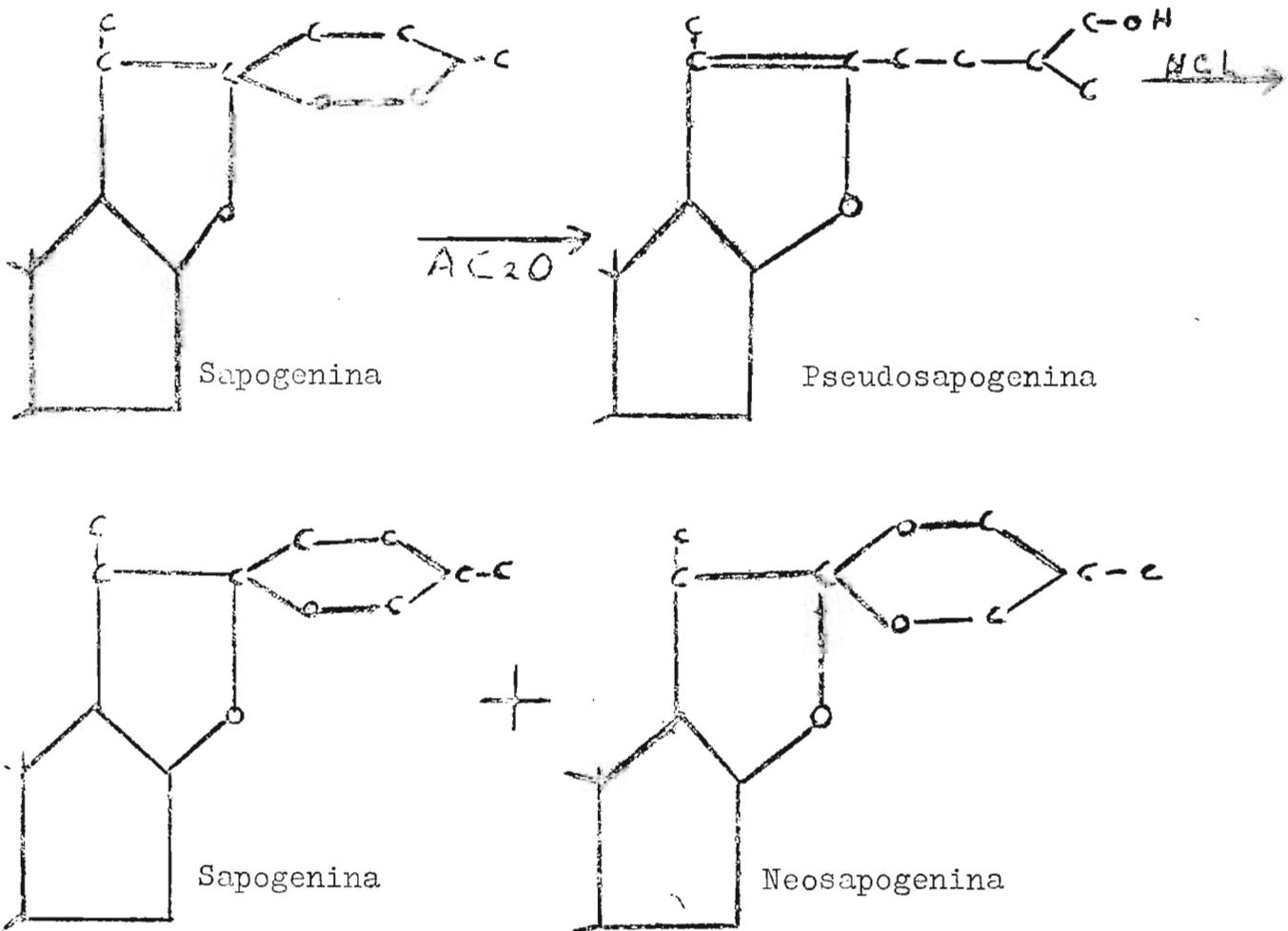
La mayoría de las saponinas tienen interés farmacológico principalmente como espectorantes o diuréticos por lo que para su valoración es mejor seguir un camino biológico, como por ejemplo el Indice Hemolítico.

SAPOGENINAS ESTEROIDALES

CONVERSION DE SEUDOSAPOGENINAS

SAPOGENINAS Y NEOSAPOGENINAS

Previamente se asumió que sólo a un lado de la cadena del isómero se formó en el tratamiento de las pseudosapogeninas con ácidos minrciales. Un examen más cuidadoso de los productos formados en esta reacción demuestra que es posible formar ambos lados de la cadena del isómero en una proporción relativa aproximadamente de 80 a 20%



Utilizando esta reacción un número de sapogeninas fueron hechas, las cuales son isómeros del mismo lado de cadenas de los productos aislados de la naturaleza.

Este trabajo fue llevado a cabo con el propósito de llegar a la identificación de nuevos productos que se han aislado de planta. En este trabajo la preparación de neokammogenin, neomanogenin, neoyuckagenin, neogitogenin, neohecogenin, neotigogenin, neodiosgenin, neomexogenin y neosamogenin son reportados. Se encontró que la neoyuckagenin era idéntica a la lilogenina.

La isomería ácida de pseudosamogenina da una mezcla de sanogenina y neosamogenina (texogenina).

La última fue reportada como un producto natural, pero su aislamiento actual fue hecho por isomerización ácida de pseudosamogeninas crudas. Esta probablemente viene de la samogenina presente en la planta de la cual fue aislada y por lo tanto no fue aislada como un producto que se encuentra naturalmente.

Como una ampliación de lo anterior puede leerse la parte experimental siguiente: Una mezcla de 30 gramos de diacetato de kammogenina y 60 cc. de anhídrico acético fueron calentados a 200 grados centígrados durante 8 horas. El exceso de anhídrico acético fue evaporado bajo presión reducida en un baño de vapor y el residuo fue cristalizado con metanol, rendimiento 25,4 gramos.

Análisis: cálculo para  $C_{33}H_{46}O_8$ : C,66.5; H,8.1. Encontrado C,69.4 H,8.0.

El Triacetato de Seudokammogenina fue hidrolizado por reflujo con una solución alcohólica de hidróxido de potasio por 20 minutos en baño de vapor. El producto fue purificado en agua, filtrado y cristalizado con acetona.

Análisis: cálculo para  $C_{27}H_{40}O_5$ : C,72.9; H,9.1

Encontrado: C,72; H,9.0

LA VARIACION ESTACIONAL DE SAPOGENINAS EN PLANTAS

Ha sido hecho un estudio de las sapogeninas esteroidales presentes en varias partes de yucca schottii, samuella carnerosana, agave striata, antes y después de la producción de frutas. Ha sido demostrado, que después de la producción de frutas, las plantas no contienen monohidroxiesteroides son cambiados progresivamente a esteroides simples, los cuales son descartados en la fruta, flor y planta.

Es importante destacar que las flores de la yucca schottii contienen: manogenina, gitogenina, tigogenina y esmilagenina. Esto es en el curso de unas pocas semanas hasta que el fruto se ha formado, estos fueron todos cambiados en sus isómeros de cadena: neomanogenina, neogetogenina, neotigogenina y sarsasapogenina. La única sapogenina que puede ser aislada de las flores de la Samuela carnerosana fue la esmilagenina; todavía cuando la fruta se formó ésta sólo contenía solo un isómero: sarsasapogenina. Las plantas agaves striata de mediana edad contenía solo neomanogenina, pero los tallos de las flores y las flores de las plantas viejas contenían una mezcla de neogitogenina y neohecogenina, mientras la fruta se formó estos fueron reducidos a neotigogenina. Estos resultados se han resumido en la tabla siguiente:

T A B L A

Agave estriata

Plantas jóvenes

Flores y tallo

Fruta

Neomanogenina

Neogitogenina

neotigogenina

Neohecogenina

Samuela carnerosana

Caudex  
antes de la  
floración.

Flores

Fruta

Kammogenina

Esmilagenina

Sarsasapogeni  
na.

Mexogenina

Samogenina

Esmilagenina

Caudex después  
de la estación  
de fruta.

Lo que queda después de la estación  
de fruta.

Mexogenina

Kammogenina

Samogenina

Mexogenina

Yucca schottii

Caudex antes de  
la floración.

Flores

Fruta

Kammogenina

Manogenina

Neomanogenina

Manogenina

Gitogenina

Neogitogenina

Mexogenina

Tigogenina

Neotigogenina

Yucagenina

Esmilagenina

Sarsasapogenina.

Gitogenina

Samogenina

Esmilagenina

Caudex después de  
la estación de fruta

Raíz

lo que queda

Kammogenina

Yucagenina

Kammogenina

Yucagenina

Fruta, Tallo

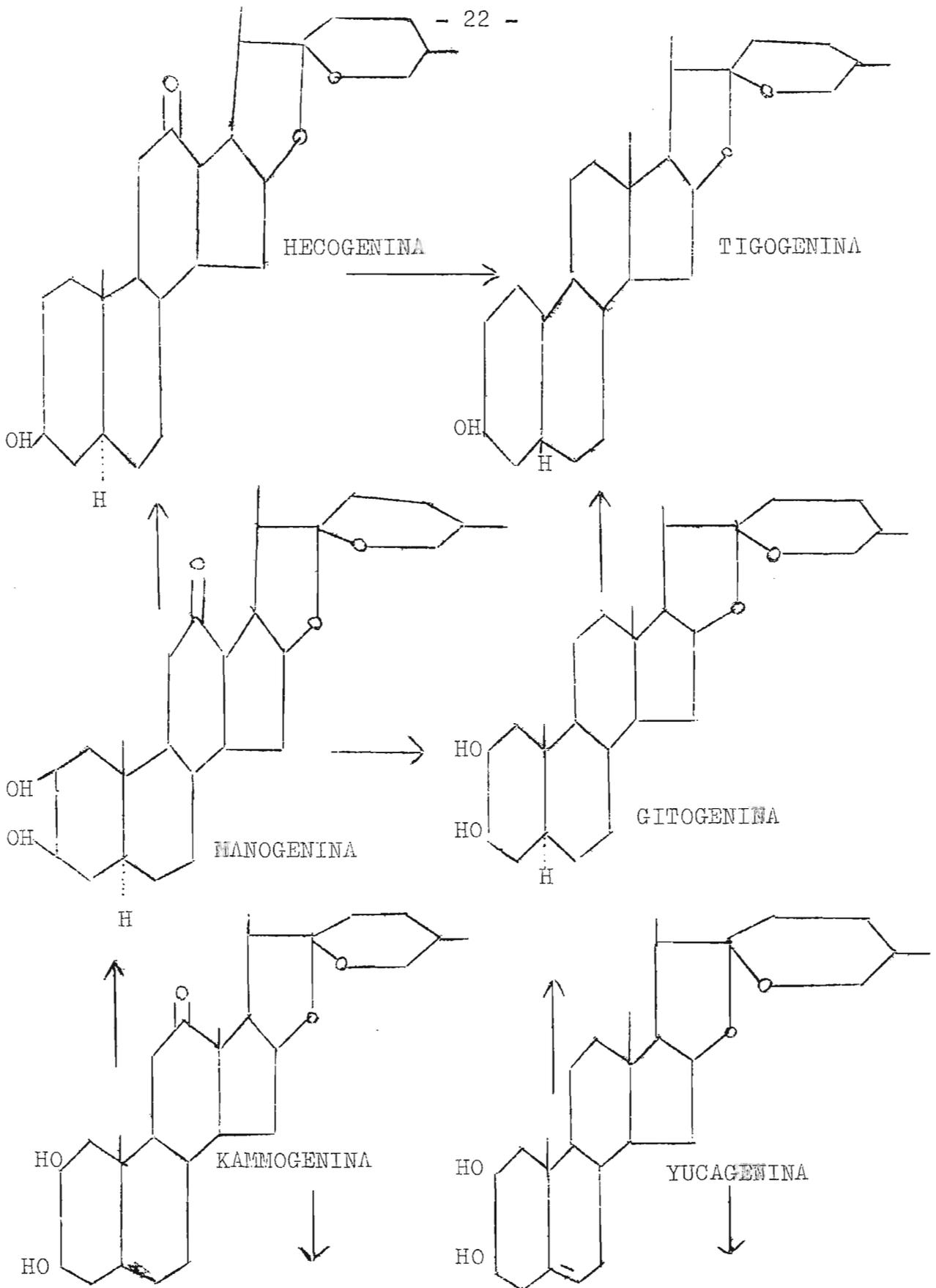
Raíz después  
de la floración

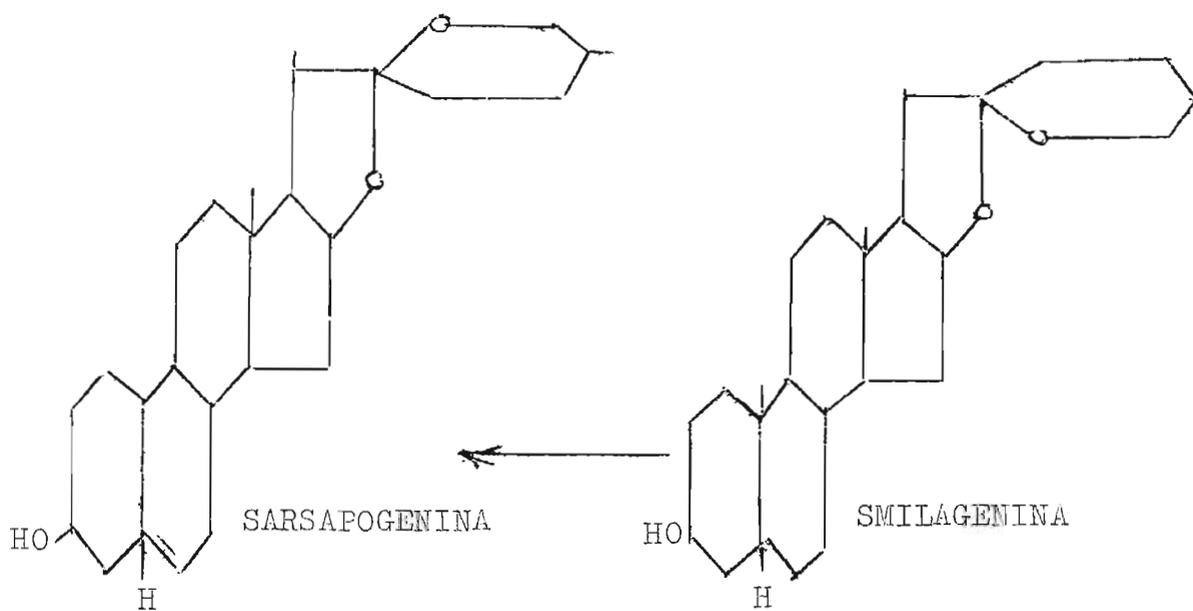
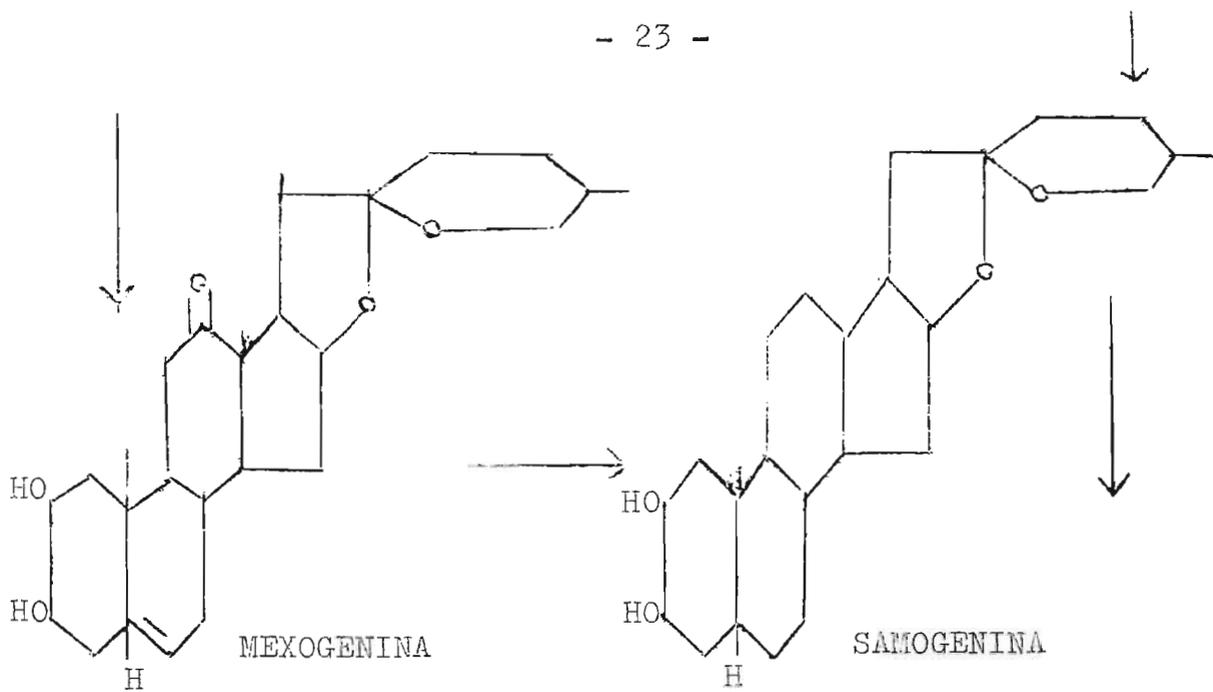
Lo que hay an-  
tes de la flo-  
ración.

Yucagenina

Yucagenina

Kammogenina





Las fórmulas estructurales anteriores nos muestran el cambio biogénético progresivo de las plantas del más completo al más simple sapogenina esteroideal, esto va de acuerdo con el principio o fin de la estación de fruta. Las sapogeninas simples las cuales han sido formadas durante un año en la planta de forma muy compleja, son descartadas en la fruta y el ciclo comienza nuevamente. El proceso involucrado es meramente de reducción a varios puntos en las moléculas dependiendo el curso de esta reducción de las enzimas presentes en la planta.

En el caso de yucca schottii las sapogeninas más oxigenada que se aisló fue la Kammogenina. Sólo la Kammogenina y su producto de reducción la Yuccagenina, estaban presentes en la planta después de la época de fruta. Para formar la Yuccagenina, la Kammogenina pierde su grupo cetónico en el carbono 12. Brevemente antes de que las flores desaparezcan, las plantas tienen otras muchas sapogeninas; la yuccagenina en reducción nos da gitogenina con la configuración alotrópica en el carbono 5, así como la samogenina la cual difiere de esta gitogenina solamente en la configuración del hidrógeno en el carbono 5.

#### LA BIOGENESIS DE SAPOGENINAS ESTEROIDALES EN PLANTAS

Existen reportes sobre biogénesis de sapogeninas esteroidales, simples a las más complejas, usando como ejemplo las sapogeninas derivadas de yucca schottii, Samuela carnerosana y Agave striata. Ha sido demostrado que en el caso de la yucca schottii y Samuela carnerosana, que ha medida que se aproxima la estación de flor y de fruta las sapogeninas esteroidales complejas se convierten en simples, las cuales son descartadas en la flor y en el fru

to en lo que respecta a la Agave striata encontramos la misma generalización de la biogénesis de las sapogeninas más simples formadas de los más complejos como en la Yucca y la Samuela. Los Agaves difieren de la Yucca y la Samuela que ésta última florece y fructifica más tarde anualmente; mientras que las Agaves dan flor solamente después de muchos años de edad y a continuación después de haber dado la flor toda la planta muere. Por esta razón se estudian las sapogeninas en las plantas muy jóvenes y se comparan con las sapogeninas de las plantas que han empezado a dar flor. Siempre para este tipo de investigación se usa toda la planta completa. Se ha encontrado que las plantas jóvenes de la Agave parsonsiana dan manogenina solamente como sapogenina esteroideal mientras que cuando las plantas llegan a la época de dar flor, estas desaparecen completamente, y las sapogeninas presentes consisten de una mezcla de Hecogenina, gitogenina, tigogenina.

Las plantas jóvenes de Agave funkiana contienen una mezcla de mexogenina y samogenina solamente, mientras que cuando la planta llega a la época de dar flor estas sapogeninas han sido convertidas en esmilageninas, el cual es el único producto presente.

Las únicas sapogeninas encontradas en plantas jóvenes de Agave roezliana fueron una mezcla de neomexogenina y neosamogenina. Estos dos productos difieren de la mexogenina y samogenina en la configuración del átomo oxigenado de su lado de cadenas.

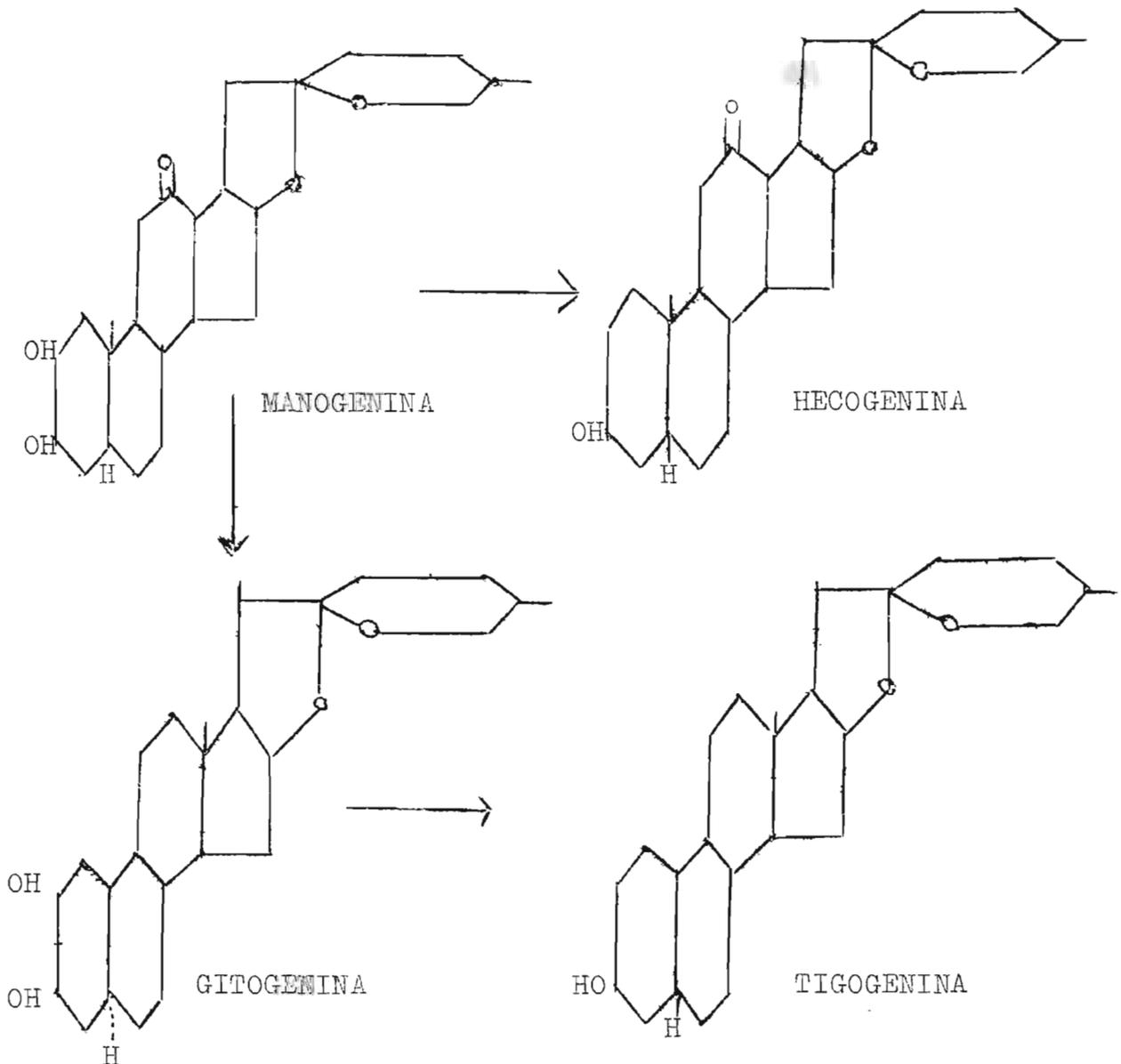
Un examen de las samogeninas cuando la planta ha alcanzado la época de floración nos da solamente sarsasapogenina.

Diferentemente en la Yucca schottii ningún compuesto no saturado en el carbono 5 se ha obtenido. Esto sugiere que la forma

ción de los productos anteriores en su biogénesis pueden también originarse en Kammogenina y neokammogenina; pero su formación en la planta es tan rápida que son convertidos en sus compuestos saturados, los cuales con la configuración alotrópica en el carbono 5.-

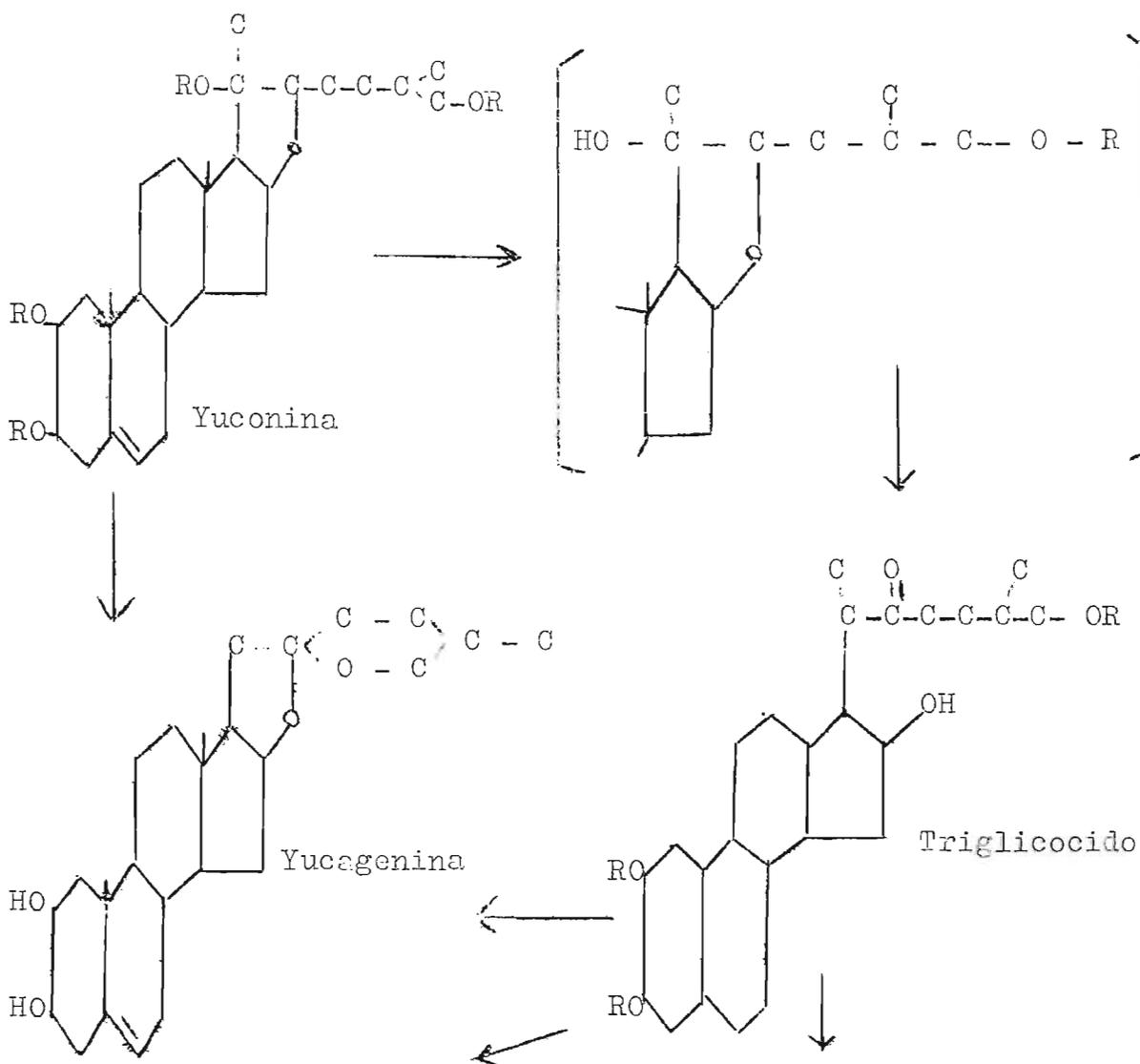
Esta Kammogenina por reducción en el doble enlace primero da manogenina de configuración alotrópica en *Agave parrasana* y mientras que la Neokammogenina nos dará neomanogenina en plantas jóvenes de *Agave estriata* y neomexogenina en *Agave roezliana*.

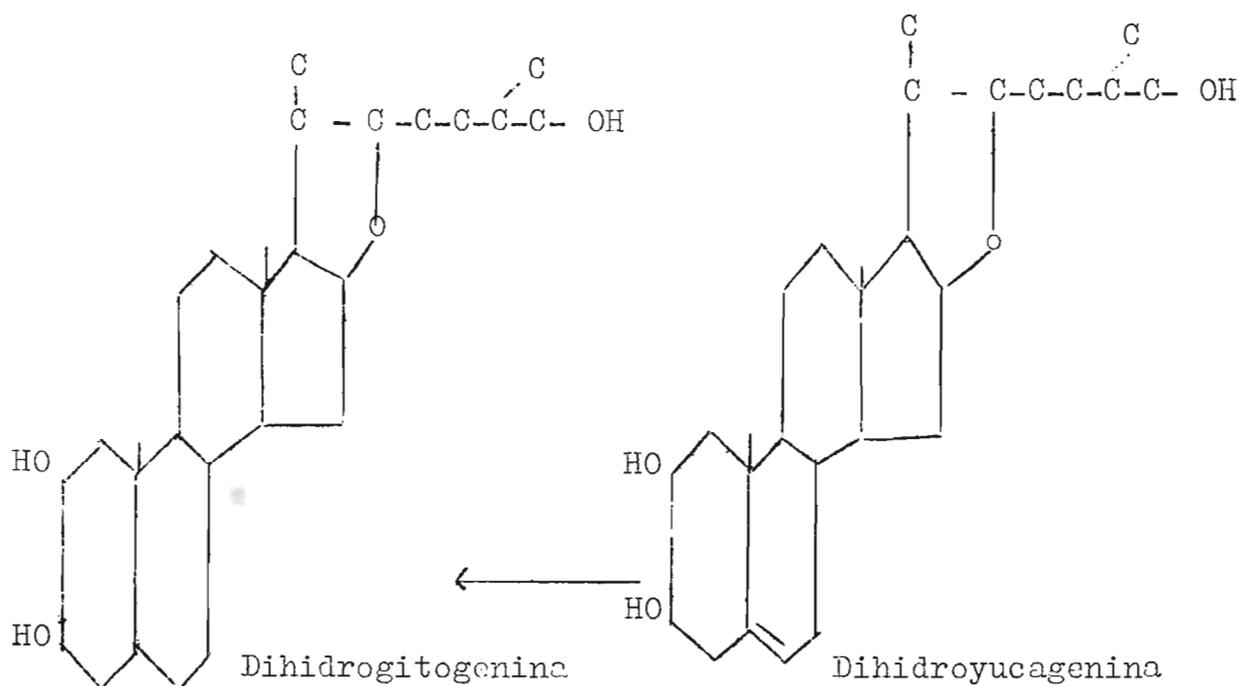
Hemos visto anteriormente ejemplos típicos de estudios de la Biogénesis de esteroides en la especie *Agave*.



ESTRUCTURA DE LOS GLICOSIDOS SAPOGENINICOS

Ha sido demostrado que la hidrólisis ácida de los glicósidos sapogenínicos esteroidales en numerosos casos causa un cambio en su estructura, produciendo aglicones distintos a los que se produce en los glicósidos originales en la naturaleza. Para estudiar la transformación biogénica de los glicósidos más complejos en la planta hasta los más simples es importante tener un conocimiento de la estructura del glicósido principal para el tratamiento ácido y para la posible corrección de la hidrólisis de los grupos azucarados con ácido.





Los azúcares pueden diferir de los glicócidos de las mismas sapogeninas cuando ellos son de diferentes plantas. Lo que interesa es la estructura del aglicón y como está combinado éste con el azúcar en la naturaleza.

Previamente se ha reportado el aislamiento de Kammogenina de Yucca schottii y lo que nos deja; Yuccagenina de las raíces, esmiagenina de las flores y sarsasapogenina de la fruta. Los primeros 3 compuestos tienen el mismo lado de cadena de la isosapogenina mientras que el último tiene el normal o sea el lado de cadena de la isosapogenina mientras que el último tiene el normal o sea el lado de cadenas de la noesapogenina.

La Yuconina contiene cuatro grupos azucarados. La reducción catalítica nos da gitonina, la cual por hidrólisis ácida nos da gitonina. La Yuconina no es reducida por sodio y alcohol; cuando la yuconina es tratada bajo condiciones hidrolíticas moderadas, se obtiene un triglicósido, el cual con una hidrólisis fuerte nos da yuccagenina. El Triglicósido de la Yucogenina con hidrógenación catalítica moderada (usando las mismas condiciones en que la Yuccanina dió gitonina), absorbe dos moles de hidrógeno. La Hidrólisis ácida de este producto nos da dihidrogitogenina, mientras que la yuconina no se reduce por acción del sodio y del alcohol, el triglicósido es rápidamente reducido; este producto seguido de hidrólisis ácida nos da dihidroyuccagenina, la cual por reducción catalítica nos da dihidrogitogenina. Esto indica que un grupo cetónico se ha formado en la hidrólisis ácida moderada de yuconina para formar el triglicósido de glucogenina, y la anterior formulación de la reacción es válida. Esto demuestra que la saponina no tiene el mismo lado de cadena que la sapogenina, pero que existe la cadena abierta con grupos glicósidos adheridos a los hidróxilos. Un hidrólisis posterior de glicósidos en el átomo terminal de la cadena con el cerrado del anillo nos dará en solución ácida la isosapogenina del mismo lado de cadena que la encontrada en tigogenina y esmilagenina.

La esmilagenina se aisló de las flores de la Yucca schottii. El mismo producto fué aislado de plantas viejas de Agave funkiana y Agave leophanta. A pesar de que este producto contiene un grupo hidróxilo, en el núcleo, hay 5 grupos glicósidos presentes en la molécula. Este producto resiste hidrogenación catalítica y re

ducción con sodio y alcohol. La hidrólisis da esmilagenina, la cual tiene de lado de cadena la isosapogenina.

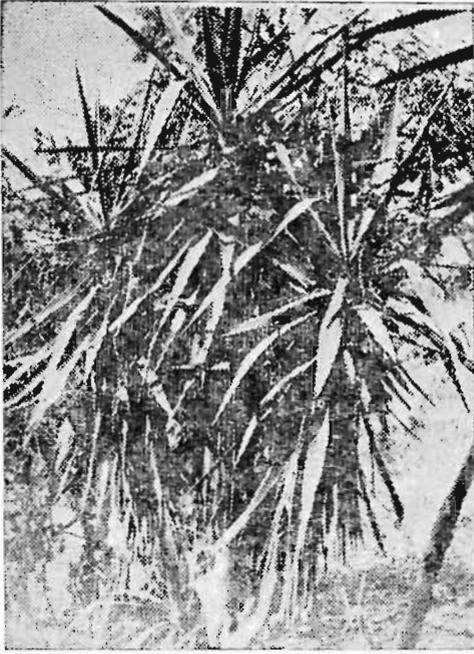
La Kamonina contiene 6 grupos azucarados y con hidrólisis ácida de kamogenina, la cual contiene un grupo cetónico en la posición 12. El grupo cetónico en carbono 12 es rápidamente reducido por hidrogenación catalítica y por reducción con sodio y alcohol.

3- ESTUDIO BOTANICO

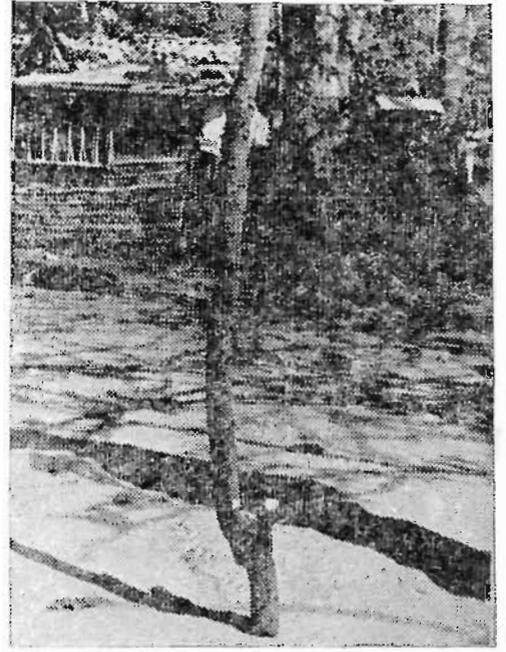
YUCCA elephantes (Izote)

ESTUDIO BOTANICO

El izote es una planta que tanto en Centro América como en México, se ocupa en cultivos de barrera y maleza que se cultiva a través de tierras bajas, como también en montañas de media elevación, habiéndose encontrado también en regiones hasta de 1.500 metros de altitud. Es una planta con una envoltura espesa; de pocas ramas cortas; el tronco y la parte alta de las ramas son desnudos, la corteza es un poco dura o áspera, las hojas son lanceoladas, y duras; teniendo hasta un metro de largo aunque generalmente son más cortas, borde rugoso, de ápice agudo, las flores, son de color blanco o blanco crema, en forma de campanas, y tienen aproximadamente cuatro centímetros de largo. El fruto es carnosos y de forma ovoidea y de color blanco o amarillento y su corazón es blanquecino. (15) (10)



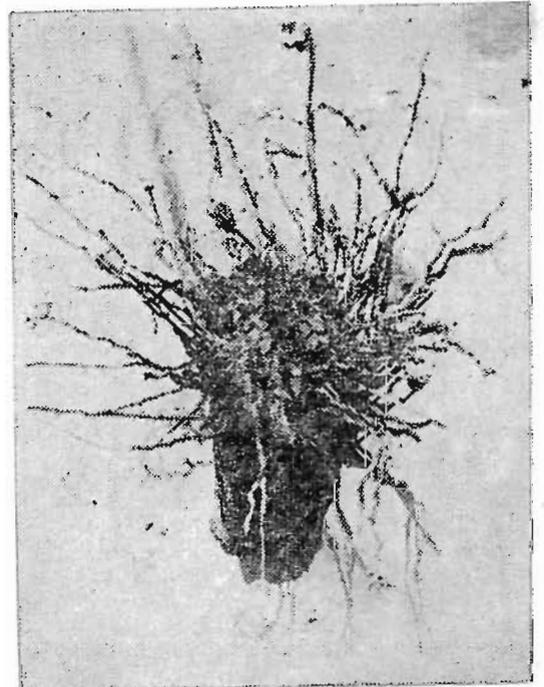
PLANTA COMPLETA



TALLO



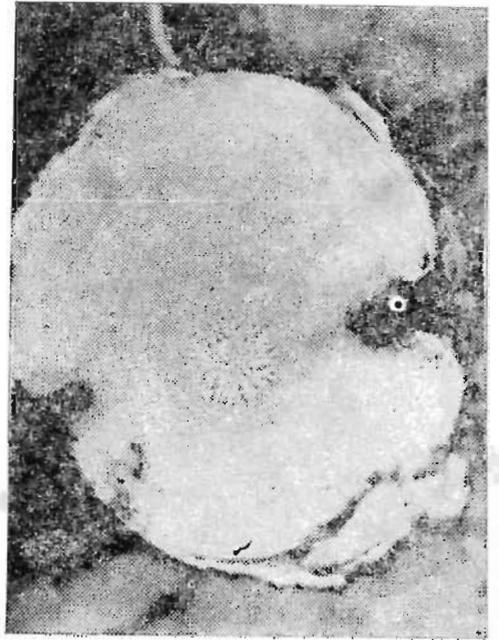
HOJA



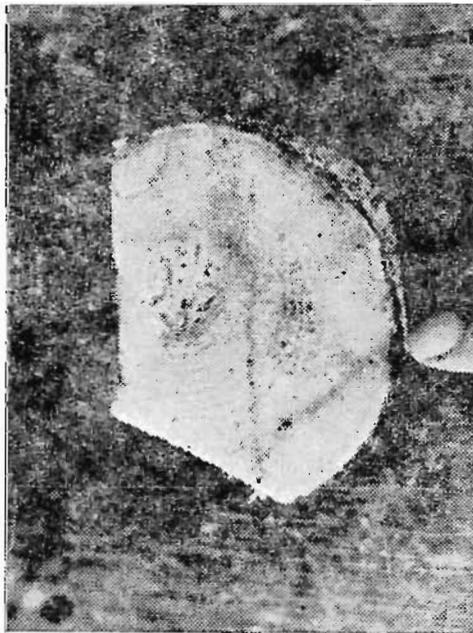
RAIZ COMPLETA



RAIZ SECCIONADA



CORTE DE RAIZ



PORCION DE RAIZ

#### 4.- M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

MATERIALES Y METODOS

A MATERIAL

- 1- a) Material general: El de rutina en el laboratorio de Farmacognosia.
- b) Material especial: Como solventes alcohol benceno, HCl, diluído para hidrolizar, heptano como segundo extractor y Acetona Q.P. para cristalización.
- 2- Hojas, tallo y raíz de Yucca elephantipes (IZOTE)

B- METODOS

- 1- Antes de intentar la determinación cuantitativa, hicimos valoraciones de saponinas para lo cual recurrimos a un método físico y a uno biológico.

METODO FISICO

Este método es el conocido como "método de espuma". Se aprovecha la particularidad de las saponinas de producir con el agua mediante agitación una espuma persistente. Para ósto hicimos una solución de las saponinas de 1 a 1000 y a partir de ésta vimos cual era la mayor dilución que produjera una espuma de 1 cm. de altura durante 15 mts. (2)

METODO BIOLOGICO

Indice Hemolítico.

Definición: Es la mayor dilución de saponinas en que aún es visible el fenómeno de la hemolisis.

Procedimiento que se sigue:

Se usan las siguientes sustancias:

- 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. En un tubo se colocan 3 c.c. luego el resto de la manera siguiente: 25, 2, 1,5,1,0.8,0.7,0.6,0.5,0.4,0.3,0.2,0.1,0.05cc, luego se completa con suero fisiológico hasta 3cc y posteriormente se agregan 5 cc de la suspensión de glóbulos rojos al 2% de esta manera se observa que en algunos tubos, los glóbulos rojos se sedimentan y el líquido sobrenadante queda claro o ligeramente rosado y otros tubos quedará completamente rojo.

Como ejemplo para el cálculo podemos citar el siguiente:

En la mayor dilución en que aún es visible la hemólisis, digamos que fué en el tubo que contenía 0.5 de la disolución de saponinas al 1%. El cálculo se hace así:

$$\begin{array}{r} 1 \text{ -----} 100 \\ X \text{ -----} 0.5 \end{array}$$

X, 0.005 gr. de saponina que homolizaron a 0.1 de sangre.

Esto es si en el tubo con 0.5 de saponina se observa ya hemólisis.

Como teníamos un volumen total de 8cc. el cálculo sigue ahora así:

$$\begin{array}{r} 0.005 \text{ -----} 1 \\ 8 \text{ -----} X \end{array}$$

X: 1:1600 Esto es lo que se conoce como Índice hemolítico

## METODO CUANTITATIVO

Este es para la determinación de Sapogeninas totales y Esmilagenina pura.

1 Kg. de planta seca y molida, se extrae por percolación con alcohol desnaturalizado con 5% de benceno. Se agota con unos 7 litros, se concentra a unos 400 cc. de volumen y se hidroliza hirviéndolo a reflujo durante 4 horas con adición de 40 cc. de agua y 40 cc. de HCl concentrado, se precipita con un litro de agua destilada, se filtra, se seca y se extrae una vez con 4 litros de heptano hirviendo a reflujo durante una hora y una segunda vez con un litro más de heptano hirviendo durante una hora. Los extractos de heptano reunidos se decoloran con carbón y se evaporan a sequedad. El residuo constituye las sapogeninas totales.

Suele bastar una sola recristalización en acetona para tener una Esmilagenina pura de puntos de fusión de 183-5 grados centígrados, (6).

## COMPROBACION

- 1- Punto de fusión,
- 2- Cromatografía en capa fina (sustancia pura, sustancia obtenida y paralelas)
- 3- También como comprobación se preparó el acetato hirviendo; 2 gr. con 5 cc. de anhídrico acético durante una hora. Al enfriar cristaliza el acetato que se filtra, se lava bien con metanol para diluir el exceso de anhídrico y se cristaliza en acetato de etilo.
- 4- Rendimiento: En hojas, tallo y raíz.

## 5- RESULTADOS

## R E S U L T A D O S

### PRUEBA CUALITATIVA

Métodos de espuma. La mayor dilución en que se produce una espuma de 1 cm. de altura durante 15 mnts. fue de 1:1200.

Índice hemolítico. El encontrado según el método descrito en el capítulo anterior fue de: 1:6000

Como dato comparativo comprobamos el encontrado en el género Smilax también en nuestra experiencia que fue de: 1:500 (12)

El punto de fusión obtenido fue de 184 grados centígrados. El producto aislado se mezcló con Esmilagenina auténtica y el punto de fusión se mantuvo.

Cromatografía en capa fina. Comparando el producto aislado con Esmilagenina auténtica dieron exactamente el mismo R.f y corriendo mezclados dieron una sola mancha.

### RENDIMIENTO (% de materia seca)

	Sapogeninas totales	Esmilagenina Pura
Hojas	1.3	0.5
Tallo	1.5	0.7
Raiz	1.8	0.8

6- D I S C U S I O N

### DISCUSION

La importancia de la Esmilagenina es indudable para aprovecharla con fines industriales y sobre todo, si se tiene la facilidad de conseguir a bajo precio y en grandes cantidades el material adecuado para su extracción y su debida purificación. Como se puede ver en el presente trabajo obtuvimos un alto rendimiento en una especie muy abundante en nuestro país y que se puede conseguir a bajo costo.

El Dr. Francisco Giral indica que algunas raspaduras del género Agave y en especial la especie alechuguía, dado que se encuentra en cierta cantidad en el norte y centro de México y el bajo precio que se puede conseguir, constituye un incentivo para tratar de aprovechar la esmilagenina con fines industriales. (6)

Como se puede ver en la tabla de rendimientos de esmilagenina de materiales mexicanos procedentes de Agave lechuguía, que expusimos en la introducción el porcentaje mayor encontrado de Esmilagenina pura es de 0.93% en raspaduras de dicha planta, nosotros encontramos 0.8% de promedio en planta entera del género Yucca elephantipes.

En cuanto a sapogeninas totales el contenido encontrado es un promedio del 2%, rendimiento bastante alto comparado con los encontrados en Francia, EE. UU y México. (7) (16) (17) (18)

A través de la bibliografía (6) (11) sabíamos que los esteroides se encontraban frecuentemente en las liliáceas, por ejemplo: la cebolla, el espárrago, lirios y Yucca, ésta última crece en el desierto de México y en el sur de Estados Unidos y que en nuestro país, aunque especie diferente, crece en abundancia en casi todas

las zonas por lo que nos interesamos en estudiarla, en la búsqueda de sapogeninas esteroideas.

En cuanto a la suerte que hemos tenido al encontrar dicho rendimiento de Esmilagenina en el izote y la importancia que puede llegar a tener en la economía de nuestro país, la posponemos para el capítulo de conclusiones y recomendaciones.

Nuestros resultados principales se refieren indudablemente a rendimientos; pero quisiéramos hacer hincapié, desde el punto de vista bioquímico en los resultados de las pruebas cualitativas.

Siempre antes de gastar tiempo y reactivos químicos para realizar una extracción de sapogenina, es necesario comprobar cualitativamente su contenido, para lo cual nos valemos principalmente del Índice hemolítico. El por qué estas sustancias hacen que el glóbulo rojo se rompa y deje salir su contenido (fenómeno conocido como hemolisis que se presenta en muchos estados patológicos, como ciertos tipos de anemia y principalmente en la anemia hemolítica del recién nacido conocido como Eritoblastosis fetal), nos indujo a consultar literatura para averiguar la causa de dicho fenómeno. A nuestro modo de ver la explicación más conveniente es la siguiente: Parece ser que las sapogeninas se unen con la colesterolina del glóbulo rojo ocasionando la rotura de la membrana coloidal del eritrócito (2). Sin embargo existen otras teorías para explicar este fenómeno, pero sea como sea, consideramos que es la mejor prueba cualitativa que puede efectuarse en un material vegetal antes de intentar la extracción y purificación de las sapogeninas que interesan en la industria Farmacéutica.

Los compuestos que se pueden obtener de estas sustancias tienen múltiples aplicaciones, en la actualidad principalmente como

precursoras de hormonas sexuales; el cáncer es otro campo donde los esteroides son muy prometedores.

Otra aplicación en particular es la de ser precursores de la cortisona en el ciclo completo. Los médicos administran ahora los medicamentos del control de la natalidad usado por millones de mujeres y en dosis especiales para los pacientes artríticos. Estas prescripciones provocan un estado de "Falso Embarazo" durante el cual se reducen los síntomas de artritis en las mujeres que responden a esta terapéutica.

Pocos de estos pacientes, y aún sus médicos piensan que es un miembro del reino vegetal el que produce esta curación.

Ni siquiera se imaginan que por muchos años la industria de medicamentos ha gastado millones de dólares, así como los esfuerzos de muchos científicos, en la búsqueda de plantas con estos principios activos y una vez encontrados, han intentado cultivarlas.

Por último al leer este trabajo se darán cuenta de los múltiples esfuerzos pioneros para ayudar a las naciones en desarrollo a sacar el mayor fruto posible de sus propios recursos.

"Entre el 80% de la gente del mundo las drogas crudas siguen siendo la base de la práctica médica".

Los éxitos y las fallas encontradas en estas páginas son el resultado de ese tipo de esfuerzos, precisamente esfuerzo que alarga el día de trabajo de los científicos y los años útiles de la humanidad.

## 7- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1.- Hemos comprobado que Yucca elephantipes conocida vulgarmente como "izote" contiene un alto porcentaje de Esmilagenina.

2.- Lo anterior nos parece de vital importancia no desde el punto de vista científico (ya que ha sido encontrada dicha saponina en otras especies de la familia de las liliáceas) sino por la abundancia con que dicha planta prolifera en nuestro país.

3.- Creemos que con el rendimiento obtenido y el bajo costo de su cultivo y obtención, merece especial interés por constituir un incentivo para aprovecharla con fines industriales.

4.- Se sabe, por experiencia que las plantas silvestres siguen siendo nuestra mejor fuente de saponinas, pues su cultivo es impráctico (9). En El Salvador existen miles o millones de la planta del género estudiado que se pueden explotar durante varios años sin recurrir al cultivo moderno (10).

5.- Es indudable la significación económica del aprovechamiento de estas plantas.

6.- Los rendimientos bastantes considerables y la facilidad con que cristaliza la Esmilagenina, hacen de esta preparación un ejemplo de ejercicio práctico muy recomendable con fines de enseñanza.

8- R E S U M E N

R E S U M E N

En el presente trabajo se estudian cuantitativamente las sapogeninas y en especial el contenido de Esmilagenina de la planta "Yucca clephantipes" (Izote), en vista de que las pruebas preliminares cualitativas (métodos espuma, índice hemolítico), nos indicaban un alto contenido en glucósidos saponínicos.

Se realiza la extracción en hojas, tallo y raíz y se separaron por hidrólisis ácida las sapogeninas, luego se precipitaron para extraer las sapogeninas totales; posteriormente fué cristalizada la Esmilagenina.

Se encontró un promedio del 2% de sapogeninas totales y de 0.5 a 0.8% de esmilagenina en las distintas partes de la planta estudiada.

Los rendimientos han sido relativamente altos y la planta es muy abundante en nuestra flora, por lo tanto puede constituir un incentivo para tratar de aprovechar la esmilagenina con fines industriales como precursora de hormonas esteroideas.

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

- 1.- ASKEW F.A., S.N. FARMER y G.A. KON., J. Chem. Soc., Pág. 1399, 1936.
- 2.- CASAMADA R. Farmacognosia con Farmacodinamia, Editorial científico médica, primera publicación, 1968 Barcelona.
- 3.- CALDERON S. y STANLEY C., Lista preliminar de plantas de El Salvador. Ediciones culturales de la Universidad de El Salvador 1944.
- 4.- Chem. Eng. News., pág. 6370. 1956
- 5.- Chem. Abstracts, Volúmenes # 54-58-64-69
- 6.- GIRAL F., HIDALGO C. Algunas fuentes mexicanas de Esmilagenina Ciencia 19:120, 122. 1959
- 7.- HEITZ S., H. LAPIN, CH. S. mnie y P. BARCHEWITZ. Bull. Soc. Chem. Biol. 36:227, 1954
- 8.- KARLSON P. Dr. Manual de Bioquímica. Editorial Marin S.A. pág. 105, 221, 241, 270. Barcelona 1964.
- 9.- KREIG M.L., Medicina Verde, Compañía editorial continental S.A. Primera publicación 1968. México
- 10.- LAGOS J.A. Comunicación Personal
- 11.- MARKER R.E., R.B. Wagner, P.R. ULSHAFER, E.L. WITTBECKER, D.P.J. GOLDSMITH y C.H. Ruof., J. Amer. Chem. Soc., 65:1199, 1943
- 12.- MACHON Y GEOFFROY P. Estudio de Smilax mexicana, Tesis profesional en preparación.
- 13.- MARKER R.E. y LOPEZ J., J. Amer. Chem. Soc. 69:2373. 1947
- 14.- MARKER R.E., y LOPEZ J., J. Amer. Chem. Soc. 69:2375. 1947.
- 15.- STANDLEY P.C. y JULIAN STEYERMAK, Flora f Guatemala Botany, Vol. 24 tomo III 1952
- 16.- WALL M.E., M.M. KRIDER, C.F. KREWSON, C.R. EDDY, J.J. WILLIAM, D.S. CORRELL y H.S. GENTRY, J. Amer. Pharm. Assoc., 43:1, 1954

- 17.- WALL M.E., C.R. EDDY., J.J. WILLIAM, D.S. CORRELL., D.G. SCHUBERT y H.S. GENTRY., J. Amer. Pharm. Assoc., 43:503, 1954
- 18.- WALL M.E., C.S. FENSKE., J.J. WILLIAM, D.S. CORRELL, D.G. SCHUUBERT y H.S. Gentry, J. Amer. Pharm. Assoc., 44:438, 1955
- 19.- MARKER R.E, y LOPEZ J., J. Amer. Chem. Soc. 69:2373, 2375, 1947