

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



DETERMINACION DE ALCALOIDES ESTEROIDALES EN EXTRACTO
ALCOHOLICO DEL FRUTO DEL *Solanum mammosum* (chichigua) POR
CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:
ELENA PATRICIA BARAHONA AVALOS
BESSY GUADALUPE GUEVARA GRANADOS

16 DE FEBRERO
DE 1841
HACIA LA LIBERTAD POR LA CULTURA
PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

DICIEMBRE DE 2007

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

RECTOR:

MSc. Rufino Antonio Quezada Sánchez

SECRETARIO GENERAL:

Lic. Douglas Vladimir Alfaro Chávez

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO:

Lic. Salvador Castillo Arévalo

SECRETARIA:

Licda. Morena Lizette Martinez de Díaz

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

COORDINADORA GENERAL:

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo.

ASESORA DE AREA DE GESTION AMBIENTAL:

TOXICOLOGIA Y QUIMICA LEGAL.

Licda. María Luisa Ortiz de López.

ASESORA DE AREA DE APROVECHAMIENTO

DE RECURSOS NATURALES

Licda. Arely Cáceres Magaña.

DOCENTE DIRECTOR:

Lic. Guillermo Antonio Castillo Ruiz

DEDICATORIA

A DIOS; Por darme la fortaleza cada día de seguir adelante sin importar la dificultad y por guiar mi camino por el bien y la sabiduría.

A Mis Padres: Rafael Barahona Castillo y María Alicia Avalos por ser mis amigos en los momentos difíciles de mi vida por todos su amor, sus consejos, apoyo y por luchar ala par mía por nuestra felicidad.

A Mi Hermana: Alicia Mercedes Barahona Avalos por ser la alegría de la casa y por ser mi amiga en todos los momentos de mi vida, por su amor, apoyó, comprensión.

A Mi Sobrina: Patricia Alejandra Rubio Barahona Por ser una niña tan linda y preciosa y ser una bendición para nuestra familia.

A Mi Abuela Mercedes Avalos Por ser mi amiga y mi consejera en los momentos difíciles; Por todo su apoyo y amor.

A Mi familia Avalos Romero: Por todo su amor, comprensión, consejo y apoyo en toda la etapa de mi vida.

Elena Patricia Barahona Avalos

AGRADECIMIENTOS

Comité de Trabajo de Graduación: Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo por su apoyo, comprensión y guiarnos en nuestra formación académica hasta la culminación de la carrera.

Asesores de Area: Licda. María Luisa Ortiz de López y Licda. Arely Cáceres Magaña por todos sus consejos bríndanos para seguir adelante en los momentos difíciles de nuestro trabajo.

Docentes Directores Msc. Armando Nelson Genovez Leonor y Lic. Guillermo Antonio Castillo Ruiz por tener la paciencia de guiarnos, corregirnos y brindarnos sus conocimientos para el buen desarrollo de nuestro trabajo.

A mi compañera de tesis: Bessy Guadalupe Guevara Granados Por ser una amiga sincera, incondicional y por ser una persona que brinda apoyo y alegría aun en los momentos más difíciles de mi vida.

A Mis Amigas: Guadalupe Abrego Escobar, Mirian Pinto Chen, Patricia Navarro, Mónica Marisol, Juanita Alfaro por toda su amistad en los momentos difíciles y por su apoyo.

Elena Patricia Barahona Avalos

DEDICATORIA

A mi papá **Oscar Guevara Meléndez**, que con seguridad se que esta en el cielo. Te agradezco mucho todo tu sacrificio y amor incondicional, pero sobre todo por tu enseñanza de amor fiel.

A mi madre **Maria Ilda de Guevara**, que en medio de tanto sufrimiento ha sido mi pilar. Gracias mama por tu infinito apoyo y amor.

A mi madrina **Carlota de Benavides** por ser una persona especial en mi vida y apoyarme fielmente.

A mis tres viejitas especiales **Mama Lila, mama Noy y Margarita Escobar**,
Por sus oraciones y muestras grandes de apoyo y amor.

A mis hermanos **Oscar, Josial, Edwin, Hernan, Helmer y Carlos**. Por su apoyo. A mis hermanas **Sandra, Ana y Yesenia**, por su apoyo y comprensión.

A mi amiga-hermana **Guadalupe Abrego** por su paciencia y ayuda incondicional en los momentos que mas la he necesitado. Gracias por haber llegado a mi vida. Te quiero mucho.

A mi compañera de tesis **Elena Barahona** por tu apoyo y comprensión y por tu sincera amistad.

A mis amigas **Miriam Pinto Chen, Mónica Moreno, Paty Navarro** por su gran amistad.

A mis cuñadas **Rosmery, Xiomara, Yancy y Daysi**, por su apoyo cuando se los he pedido.

A todos mis sobrinos en especial a **Michelle , Violeta** por su apoyo sincero.

Bessy Guadalupe Guevara

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser un padre lleno de amor, que me permitió salir adelante en medio de muchas dificultades.

A nuestra madre Maria por todas sus intersecciones y por su inmenso amor para nosotros.

A mis docentes directores: **Nelson Armando Genoves Leonor**, quien nos inicio y nos ayudo con su orientación, al **Lic. Guillermo Castillo Ruiz** por habernos retomado con su mano, brindándonos su apoyo. Muchas gracias.

A mis asesores de Área: **Licda. Aracely Cáceres Magaña y Licda. Maria Luisa Ortiz de López**, por su apoyo sincero, su comprensión y su ayuda en momentos difíciles que Dios las bendiga.

A nuestra Coordinadora General de Trabajos de Graduación Licda. **María Concepción Odette Rauda Acevedo**. Por mostrarme siempre su interés y por motivarme para seguir adelante. Muchísimas gracias.

A mi viejito Lic. **Arturo Manzini** por su incondicional ayuda, apoyo y consejo y por estar siempre cuando más lo he necesitado. Lo quiero Mucho.

Bessy Guadalupe Guevara

INDICE

Resumen	
Capitulo I	
1.0 Introducción.	xvii
Capitulo II	
2.0 Objetivos.	20
2.1 Objetivo General.	
2.2 Objetivos específicos.	
Capitulo III	
3.0 Marco teórico.	
3.1 Monografía de <i>Solanum mammosum</i> .	22
3.2 Generalidades sobre alcaloides.	25
3.3 Extracción de alcaloides.	29
3.4 Clasificación de alcaloides.	32
3.5 Alcaloides esteroidales.	33
3.6 Cromatografía.	38
3.7 Cromatografía en capa fina.	39

Capitulo IV	
4.0 Diseño metodológico	
4.1 Tipo de estudio.	42
4.2 Investigación bibliográfica.	42
4.3 Investigación de campo.	43
4.4 Parte experimental.	43
Capitulo V	
5.0 Resultados.	51
Capitulo VI	
6.0 Conclusiones.	60
Capitulo VII	
7.0 Recomendaciones.	63
Bibliografía	
Anexos	

INDICE DE ANEXOS

ANEXO No

1. Cristalería, Material, Reactivos y Equipo

2. Preparación de Reactivos.

3. Cálculos de preparación de reactivos.

4. Técnica de Preparación de Reactivo

5. Fotografías

6. Estudio etnobotánico de ***Solanum mammosum*** (Chichigua).

INDICE DE CUADROS

CUADRO No.	PAGINA
1. Resultados de las Pruebas preliminares de identificación de alcaloides en el extracto alcohólico.	46
2. Resultados de las Pruebas preliminares para la identificación de alcaloides esteroidales en el extracto alcohólico.	48
3. Resultados de la Identificación de alcaloides en el extracto alcohólico a través de la técnica de cromatografía en capa fina	50
4. Resultados de Identificación de alcaloides esteroidales en el extracto alcohólico a través de la técnica de cromatografía en capa fina.	50
5. Resultados de la Identificación de alcaloides esteroidales en el extracto alcohólico a través de la técnica de cromatografía preparativa en placa	52

ABREVIATURAS

HCl =Acido Clorhídrico

NH₃ = Amoníaco

D = Densidad

R_f =Coeficiente de partición

g = Gramo

NaOH = Hidróxido de sodio

M = Molaridad

m = Masa

mL = Mililitro

N = Normalidad

P/P = peso sobre peso

P/V = peso sobre volumen

Sln = Solución

TS = Solución Prueba

V = Volumen

V/V = volumen sobre volumen.

RESUMEN

El presente trabajo contiene una revisión bibliográfica de *Solanum mammosum* (Chichigua) así como el método utilizado para la extracción de alcaloides; las diferentes reacciones de color y el método de cromatografía en capa fina y cromatografía preparativa en placa para la identificación de alcaloides esteroidales.

La especie en estudio se recolectó en la zona oriental del país; luego se le realizó un estudio botánico proporcionado por la Escuela de Biología de la Universidad de El Salvador y se preparó la especie vegetal para realizar una extracción alcohólica utilizando el método de reflujo; Luego al extracto alcohólico obtenido se le realizó pruebas preliminares de identificación de alcaloides generales con reactivos de Dragendorff y Mandelin's y de alcaloides esteroidales con reactivos de Liebermann's y Salkowski a su vez se realizó un análisis por cromatografía en capa fina para alcaloides generales y alcaloides esteroidales utilizando como reactivos reveladores los antes mencionados y la técnica de cromatografía preparativa en placa para alcaloides esteroidales en donde se obtuvieron manchas características de dichos alcaloides así como la obtención de R_f experimentales.

Se concluyo por los resultados obtenidos por reacciones preliminares de identificación, la técnica de cromatografía de capa fina y técnica preparativa en placa que en el extracto alcohólico si hay presencia de alcaloides esteroidales así como las técnicas utilizada son sencilla y eficaz para su identificación aun

en presencia de otros compuestos en el extracto como flavonoides y glucoalcaloides con dicho método de análisis se obtuvieron los resultados esperados sin que los compuestos mencionados influyan o interfieran y se recomienda ensayar otros métodos alternos que nos permita aislar los alcaloides esteroidales para poder dilucidar estructura química de cada alcaloide y así obtener información a que grupo de la estructura se le atribuye sus propiedades terapéuticas.

I. INTRODUCCION

1. INTRODUCCION

Las civilizaciones antiguas siempre emplearon extractos de raíces, corteza, hojas, flores, frutillas o semillas como fármaco. Este empleo de las plantas con propósitos medicinales estaba basado en superstición y en el azar. Muchas plantas contienen compuestos que tienen un profundo impacto fisiológico con dosis muy pequeñas.

Los vegetales constituyen un amplio campo en la investigación farmacológica con grandes posibilidades para llegar al conocimiento de nuevas e interesantes drogas. Prueba de ello es la resolución de la XXXI Asamblea Mundial de la Salud, que en marzo de 1978 solicitó del director general de la OMS (Organización Mundial de la Salud), que iniciara programas destinados a valorar la medicina tradicional.

En los últimos años la búsqueda cada vez más intensa de nuevas sustancias farmacológicamente útiles incita a los científicos no solo a sintetizar miles de nuevos compuestos, sino también a estudiar con más profundidad numerosas sustancias naturales, específicamente las obtenidas de plantas.

El presente trabajo comprende un estudio de alcaloides en general y alcaloides esteroidales del *Solanum mammosum* (chichigua), la cual es una especie perteneciente a la familia de las Solanáceas reconocida por su alto contenido de alcaloides podrían ser utilizados farmacéuticamente en la producción de

anticonceptivos, hormonas sexuales, inmunosupresores, corticoesteroides, anticancerígenos.

Existen actualmente diversos métodos para identificar los alcaloides, entre ellos espectrofotometría de masas, espectro infrarrojo, cromatografía líquida de alta presión (HPLC), cromatografía de capa fina, reacciones de color.

En el desarrollo de esta investigación se realizó la recolección de los frutos maduros o pintones del ***Solanum mammosum*** para posteriormente obtener un extracto alcohólico por decocción que permita la extracción de los alcaloides esteroidales y posteriormente identificarlos por cromatografía de capa fina.

II. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar alcaloides esteroidales en extracto alcohólico del fruto de *Solanum mammosum* (chichigua) por cromatografía de capa fina.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

2.2.1 Identificar la especie vegetal de *Solanum mammosum* (chichigua).

2.2.2 Recolectar, preparar la especie vegetal a estudiar.

2.2.3 Obtener un extracto alcohólico del fruto maduro ó pintón de *Solanum mammosum* (Chichigua).

2.2.4 Identificar alcaloides generales y esteroidales en el extracto alcohólico del fruto de *Solanum mammosum* (Chichigua) por medio de reacciones fitoquímicas preliminares y cromatografía de capa fina.

2.2.5 Dar a conocer las propiedades terapéuticas y sus formas farmacéuticas de preparación y empleo del fruto de *Solanum mammosum* (Chichigua).

III. MARCO TEORICO



©2004, DERECHOS RESERVADOS

Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,
sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador

<http://virtual.ues.edu.sv/>

SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

3. MARCO TEORICO.

3.1 Monografía de *Solanum mammosum*. (2,4,5,10,11)

Familia:

Solanáceas.

Nombres Comunes:

Chichigua, Chichita, Marimbita amarilla,
Chichona, Friega platos, tope-tope.



Descripción Botánica:

Arbusto o hierbas hasta 1.5 m. de alto mas o menos, velluda, con espinas amarillentas en los tallos y en las venas de las hojas.

Hojas simples, pecioladas, delgadas, grandes (6 a 20 cm. de largo), de contorno suborbicular, irregularmente lobuladas y generalmente cordadas en la base. Presenta inflorescencias casi sésiles, umbeliformes, laterales, con pocas flores, muy vistosa por sus pétalos azules o violetas de aproximadamente 2 cm. de largo. Baya ovoide o globosa (piriforme) en la base frecuentemente con uno o mas protuberancias redondeadas de 2 cm. de largo y una contracción de forma de tetilla en el ápice, 4 a 7 cm. de diámetro comprimida de 5 a 7 cm. de diámetro.

Hábitat.

Nativa del norte de Sudamérica y las Antillas, con frecuencia cultivada como planta ornamental o para matar insectos.

Partes Utilizadas.

Fruto y raíz.

Usos Etnomédicos.

Esta planta se utiliza popularmente para la sinusitis en forma de inhalaciones, con resultados positivos cuando se efectúa en forma continua y se mantiene dieta durante el tratamiento.

El cocimiento de la raíz es un diurético eficaz. Se ha usado con cierto éxito para combatir la tos convulsiva o tos ferina. Aplicado directamente sobre la piel puede curar úlceras y llagas, con la advertencia que los frutos son venenosos, por lo que no se deben de comer, por esta razón se emplea como insecticida para las cucarachas.

La decocción de los frutos secos se utiliza para enfermedades renales y como febrífugo y sudorífico, también se usa para enfermedades micóticas

La infusión de las hojas se emplea como diurético, para eliminar piedras en el hígado y como sedante.

Química

Contiene un glucoalcaloide llamado solanina. También se indica la existencia de una serie de productos intermedios: alcaloides, heterósidos,

glucoalcaloides, sustancias lábiles que se destruirían en los procesos de extracción. Entre estos componentes estaría el responsable del efecto febrífugo.

Esta planta contiene además tres glucoalcaloides; formada por glucósidos, galactosa y rhamnosa y tres alcaloides esteroidales, uno de los cuales es la Solasodina. La Solasodina es una materia para la producción de hormonas esteroidales.

Farmacología y Actividad Biológica.

El extracto etanólico de los frutos desecados, demostró actividad contra *Schistosoma mansoni* y actividad moluscicida contra *Biomphalaria glabrata* y el extracto metanólico contra *Lymnaea cubensis* LD90 25 ppm. El extracto acuoso de las hojas posee actividad antifungica contra *Epidermophyton floccosum* .

Formas Florclóricas de Preparación y Empleo de *Solanum*

mamosum: Vapor: Agregar una cucharada del fruto en un litro de agua hirviendo, he inhalar el vapor por la nariz y la boca.

Infusión: Verter una taza (8 onza) de agua hirviendo sobre una cucharada de raíz desmenuzada. Tomar una cucharada de infusión de la raíz cada 6 horas.

La pulpa del fruto se aplica localmente.

Se pone a rescoladar el fruto y el agua que junta. Se mezcla con un poco de aceite de oliva y se echan 1-2 gotas en las fosas nasales.

3.2 GENERALIDADES SOBRE ALCALOIDES. ^(6,7)

La cantidad de productos descritos, su diversidad estructural y el abanico de sus actividades farmacológicas hacen de los alcaloides juntos con los antibióticos uno de los grupos mas importantes, entre las sustancias naturales con interés terapéutico.

El término alcaloide (alkay = sosa; alcaloide =que tiene la apariencia de una base fue introducida por W. Meisner en 1818) y se refiere explícitamente a las propiedades básicas de estos compuestos que fueron llamadas al principio del siglo XIX, los álcalis vegetales. Realmente no existe una definición sencilla de alcaloides, ya que en ella, es difícil tener en cuenta las distintas diferencias en cuanto a estructura y propiedades de los cerca de 6,000 compuestos descritos en este grupo. Sobre todo es difícil establecer la frontera que separa los alcaloides, de otros compuestos por orgánicos nitrogenados de origen natural.

Por lo tanto se debe considerar clasificar como alcaloides: Las sustancias de origen natural nitrogenadas con carácter más o menos básico, de distribución restringida y dotadas a dosis débiles de propiedades farmacológicas arcadas.

El agrupamiento de este conjunto de moléculas, se ha confirmado por reacciones comunes de precipitación.

ESTADO NATURAL Y DISTRIBUCION. (7,16)

Los alcaloides son excepcionales en las bacterias (piocianina, *pseudomonas aeruginosa*) y bastante raras en los hongos (psilocina, hongos alucinógenos mexicanos y ergopépticos del cornezuelo de centeno).

Los alcaloides son por tanto compuestos presentes fundamentalmente en angiospermas, sobre todo en ciertas familias como Lauráceas, Magnoliáceas, Anonáceas, Menispermáceas, Papaveráceas, Fumariáceas, Rutáceas, Apocináceas, Loganiáceas, Rubiáceas, Solanáceas, etc. Otras familias importantes no los contienen y en otras existen en escasa proporción, como en las compuestas.

Durante mucho tiempo, los alcaloides han sido considerados únicamente como productos del metabolismo vegetal. Aunque de hecho, se han encontrado estructuras alcaloídicas en los animales, se trata normalmente de productos formados partir de los vegetales ingeridos.

LOCALIZACION. (4,5)

En el vegetal los alcaloides se encuentran formando combinaciones solubles al estado de sales: citratos, maleatos, tartratos, etc.

La microquímica permite, que de forma constante los alcaloides se localizan en los tejidos periféricos: tegumentos de la semilla, capas externas de corteza, tallos y raíces, epidermis y capas subepidérmicas de las hojas.

El contenido de alcaloides es variable dentro de un margen muy amplio.

Las plantas con alcaloides, contienen a menudo, junto a un constituyente mayoritario, numerosísimos compuestos minoritarios que son frecuentemente del mismo tipo.

Muchos alcaloides son específicos, es decir, características de una especie o de especies próximas, se encuentran en numerosos géneros de una misma familia o en géneros de familias diferentes, pero pertenecientes a un mismo orden.

PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS. ((7,8)

Los alcaloides tienen pesos moleculares que varían entre 100 a 900, (ej: coniína $C_8H_{17}N$, 127PM, Vincristina $C_{46}H_{56}N_4O_{10}$, 824PM)

Aunque algunas bases no oxigenadas (Nicotina) son líquidas a temperatura ambiente, los alcaloides bases son normalmente sólidos cristalizables, raramente coloreados, casi siempre están dotados de poder rotativo específico y las bases cristalizadas tienen puntos de fusión netos sin descomposición, sobre todo por debajo de 200 °C. Por regla general, los alcaloides bases son muy poco solubles en agua, solubles en disolventes orgánicos apolares o poco solubles en agua, soluble en disolvente orgánico poco polares y solubles en alcoholes de mas elevada graduación.

El carácter básico de los alcaloides es muy variable, dependiendo esta propiedad de la disponibilidad del doblete libre del nitrógeno.

Hay que tener presente el papel que juega los impedimentos esféricos en las moléculas complejas y la existencia de funciones especiales.

Por básicos, los alcaloides forman sales con ácidos minerales u orgánicos; estas son hidrosolubles, insolubles en disolventes orgánicos apolares y solubles en alcoholes. La formación de sales, estabiliza la molécula, por lo que comercialmente los alcaloides se encuentran en estado de sales.

CARACTERIZACION DE ALCALOIDES. (10,17)

Una técnica de caracterización debe ser en lo posible: rápida, simple, reproducible, sensible y llevada a cabo con una cantidad mínima de muestra. Los métodos de caracterización, se realizan después de una extracción previa y consiste en forma general en una precipitación de los alcaloides, con reactivos bastante específicos: reactivos generales de alcaloides.

Estas reacciones se fundan en la capacidad que tienen los alcaloides de combinarse con metales pesados, bismuto, mercurio, tungsteno o yodo.

En la práctica se emplean soluciones yodo-yoduradas como el mercuritetrayoduro de potasio (reactivo de Mayer), o el tetrayodobismuto de potasio (reactivo de Dragendorff) entre otros. La especificidad de estos reactivos no es absoluta: las proteínas, piranos, algunas cumarinas, lignanos e hidroxiflavonas, dan lugar a resultados falso positivos con el reactivo de Dragendorff.

Otros reactivos originan reacciones coloreadas características de un determinado grupo de alcaloides:

- P-dimetilaminobenzaldehído, para alcaloides de cornezuelo de centeno.
- Sulfato de serio y de amonio que diferencia a los índoles (amarillos) de los dehidrofenoles (rojos) y los oxifenoles, etc.
- La ninhidrina, para las fenilalquilaminas.
- El reactivo de vitali-morin para los alcaloides tropánicos

EXTRACCION DE ALCALOIDES. (2,8)

La extracción de alcaloides se basa, por regla general en el hecho de que se encuentra en la planta en estado de sales o de combinaciones solubles que posee carácter básico y que las bases y sus sales poseen distintas solubilidades en disolventes orgánicos y agua respectivamente, en función de su pH . La extracción propiamente dicha consiste en utilizar dos métodos: extracción en medio alcalino (por disolvente) y extracción en medio ácido (con agua, una solución alcohólica o hidroalcohólica)

- EXTRACCION EN MEDIO ALCALINA.

1. La droga pulverizada se mezcla con una solución acuosa alcalina que desplaza los alcaloides de sus combinaciones salinas y las bases así liberadas se extraen seguidamente con un disolvente orgánico que puede ser clorado, benceno, éter dietílico, etc.
2. El disolvente orgánico que contiene disuelto los alcaloides bases se separa y si es necesario se concentran destilando a presión reducida.
3. Los alcaloides en forma de sales se solubilizan en la fase acuosa, mientras que las otras moléculas e impurezas permanecen en solución en la fase orgánica.
4. Las soluciones acuosas de las sales de alcaloides reunidas son lavadas con un disolvente apolar, se alcalinizan, esto con ayuda de una ampolla de decantación o con aparatos más o menos complejos.
5. El disolvente orgánico que contiene los alcaloides base se decanta, se suprimen las trazas de agua por deshidratación y se evapora al vacío. Obteniéndose un residuo de alcaloides totales (A.T)

- EXTRACCION EN MEDIO ACIDO.

Se pueden presentar dos casos:

1. En el primer caso la droga pulverizada se extrae directamente con una solución acuosa ácida.
2. En segundo caso se utilizan soluciones alcohólicas o hidroalcohólicas ácidas (de ácido tartárico por ejemplo) para la extracción. En este caso hay que concentrar los líquidos extractivos por destilación a vacío para eliminar el alcohol.

PURIFICACION DE ALCALOIDES. ⁽²⁾

Sea cual sea el método elegido para la extracción de alcaloides, no se obtienen productos puros si no mezclas de sustancias básicas, a menudo complejas que hay que separar entre si. En el mejor de los casos una de estas moléculas es mayoritaria y puede obtenerse por cristalización directa. En el caso de pequeñas cantidades y por tanto en el laboratorio, un buen método es la cromatografía en capa delgada de sílice o alúmina.

Todas las reacciones mencionadas anteriormente, para la detección de alcaloides en vegetales, se pueden emplear en la caracterización de los productos aislados, pero son suficientes tanto para verificar la identidad y la pureza de una droga, como para analizar las preparaciones obtenidas a partir de esta o para estudiar la composición de los alcaloides totales.

El método por elección a aplicar en los diferentes casos antes descritos, es el análisis por cromatografía en capa fina. Se utilizan diferentes solventes de desarrollo, revelando las placas sobre todo con el reactivo Dragendorff, yodo platinado potásico y a veces con vapores de yodo.

Para controlar la identidad y la pureza de una droga o de sus preparaciones es totalmente indispensable, sea cual sea la técnica a utilizada emplear sustancias patrones.

CLASIFICACION DE ALCALOIDES. ⁽⁷⁾

Los alcaloides han sido clasificados atendiendo a distintos criterios:

1. Origen botánico, según familia o género al que pertenecen las especies productoras (alcaloides de la coca, alcaloides del granado, alcaloides de la quinina, etc.)
2. De acuerdo con sus propiedades farmacológicas (alcaloides midriáticos de las solanáceas)
3. Según la naturaleza de la estructura de que derivan (alcaloides quinoleínicos, alcaloides tropánicos, etc.)

Este último sistema clasificatorio ha sido objeto de amplio uso hasta épocas recientes, en la actualidad se tiende a considerar como criterio de elección el origen biosintético de los alcaloides.

Se ha procedido, por tanto a agrupar a los alcaloides en las siguientes clases de acuerdo con el precursor de que procede:

- Alcaloides derivados de la ornitina y de la lisina:
 - Tropánicos
 - Pirrolicidínicos
 - Piperidínicos
 - Quinolicidínicos
- Alcaloides derivados de la fenilalanina y la tirosina.
 - Feniletilamínicos
 - Isoquinoleínicos

- Alcaloides derivados del triptófano.
 - Indólicos
 - Quinoleínicos
- Alcaloides de origen diverso.
 - Derivados de la histidina: imidazólicos
 - Derivados del metabolismo terpénico:
 - Alcaloides diterpénicos
 - Alcaloides esteroídicos
- Otros alcaloides: bases xantinas.

3.3 ALCALOIDES ESTEROIDALES. (18, 19,20)

Muchas plantas en las solanáceas acumulan alcaloides esteroídicos basado sobre un C27 de la estructura del colesterol, ej. Solasodina y Tomatina. Estos son esencialmente análogos nitrogenados de las saponinas esteroídicas y desde el principio están consideradas con estos compuestos. En contraste a los análogos oxigenados, todos estos compuestos tienen la misma estequiometría al C25 (metil, siempre ecuatorial), pero C22 posee isómeros como ejemplo la Solasodina y la Tomatina. Ellas están usualmente presentes como glucósidos los cuales tienen actividad superficial y propiedades hemolíticas, como las saponinas, pero estos compuestos son también tóxicos si son ingestados.

Solasodina de la especie ***Solanum*** y Tomatina del tomate (***Lycopersicum esculentum***) son típicos ejemplos de ese tipo de glucósidos.

Así como las sapogeninas, este grupo de alcaloides son derivados del colesterol con apropiadas modificaciones de la cadena lateral durante la secuencia (ver fig.1) la aminación aparece para ser empleada la L-arginina como nitrógeno origen, probablemente por la vía de la sustitución sobre 26-hidroxicolesterol. Una segunda sustitución origina el 26-amino-22-hidroxicolesterol hasta ciclarse generando un anillo de piridina. Después 16 β -hidroxilación. La amina secundaria es oxidada hasta imina y el sistema espiral puede estar afectado como resultado de la adición nucleofílica sobre la 16 β -hidroxil hasta imina. Si en la configuración el 22 R (como en Solasodina) o 22 S (como en la tomatina) su estabilidad podría depender de estas reacciones.

Una variante en la vía del colesterol es la ciclación de la cadena lateral, que puede ser originada en la Solasodina, la cual contiene un sistema de anillos condensados con nitrógeno por un puente-cabeza. La Solasodina tiene su origen en la papa (***Solanum tuberosum***) típicamente como glucósidos α -solanina.

Existen sistemas de anillos condensados que parecen ser producidos por la vía principal hasta la estructura de Solasodina/Tomatina.

De esta manera, un proceso de sustitución podría dar generación a los nuevos sistemas de anillos.

Desde entonces la producción de medicina esteroidea de saponinas esteroidales requiere una degradación preliminar para remover el sistema de anillos contenido en el colesterol en su cadena lateral originalmente; esto es sin importancia si estos anillos contienen oxígeno o nitrógeno. De esta manera, las plantas ricas en Solasodina o tomatidina pudieron también ser empleadas para la comercialización en la producción de alcaloides. Similarmente otros alcaloides **solanum**, así como la Solasodina con nitrógeno en un sistema de anillos condensados podrían ser explotados.

También plantas como las Liliáceas, notablemente la **Genus veratrum** (liliacea/melanticea), contiene un notable grupo de alcaloides esteroidales en los cuales un notable cambio fundamental en el núcleo esteroideo básico toma lugar.

Estos cambios expanden el anillo D por un átomo de carbono a expensas de los anillos, el cual consecuentemente llegan a ser 5 miembros.

El esqueleto resultante es un terminado en C-nor-D homoesteroidales en guardar estas alteraciones en el tamaño del anillo. El colesterol es un precursor de estos grupos de alcaloides y un mecanismo de las modificaciones es mostrado en la fig.1 en donde los cambios son iniciados por los grupos C-12 convenientemente dejados.

Representantes típicos de C-nor- homoesteroides son la Jervina y Ciclopamina de **Veratrum californicum**, componentes tóxicos en estas plantas que son responsables de severos efectos teratogénicos. Los animales pastados con

V. californicum y algunas otras especies de *veratrum* frecuentemente dieron a luz crías con ciclopa, una malformación caracterizada por un único ojo en el centro de la frente. Los efectos teratogénicos de Jervina, Ciclopamina y Ciclopamina glucósidos (cicloposina)

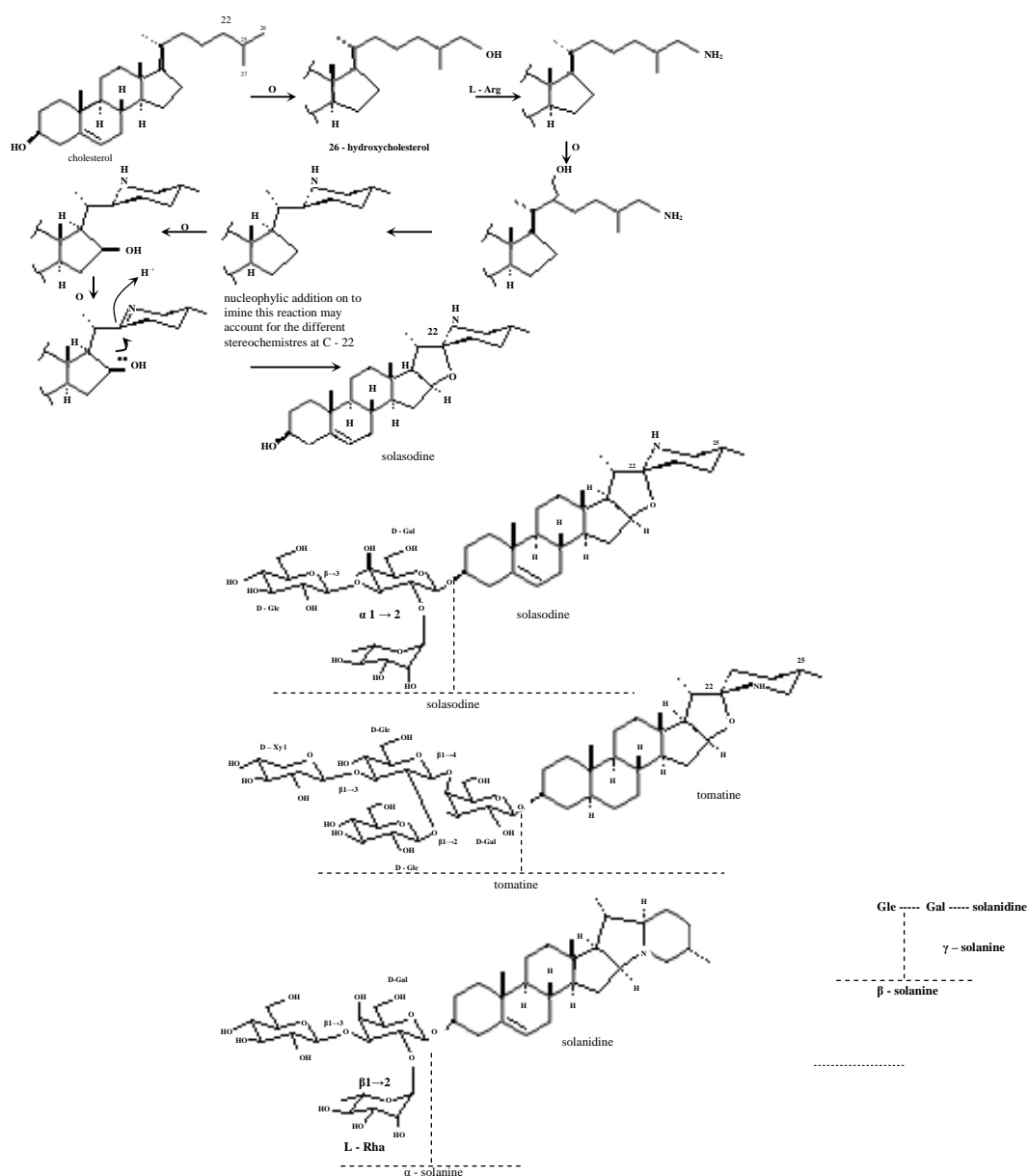


Fig. Biosíntesis de la Solasodina

CROMATOGRAFIA ⁽⁸⁾

La Cromatografía es definida como una técnica por el cual los componentes de una mezcla son separados por un proceso de migración diferencial dinámico en un sistema debido a la influencia de dos efectos contrapuestos:

Retención: Efecto ejercido sobre los componentes de la mezcla por una fase estacionaria, que puede ser un sólido o un líquido anclado a un soporte sólido.

Desplazamiento: Efecto ejercido sobre los componentes de la mezcla por una fase móvil, que puede ser un líquido o un gas.

La mezcla a separar se deposita sobre la fase estacionaria y la fase móvil atraviesa el sistema desplazando a los componentes de la mezcla a distinta velocidad, dependiendo de la magnitud de sus interacciones relativas con ambas fases. La repetición sucesiva de las operaciones elementales de retención y desplazamiento a lo largo del sistema cromatográfico da lugar a la separación de la mezcla original.

El fenómeno de migración de los componentes de una mezcla a lo largo de la fase estacionaria, impulsados por la fase móvil, recibe el nombre de elusión.

La cromatografía puede emplearse para conocer el número de componentes de una mezcla y su identificación, por comparación con patrones. También se aplica a la separación de mezclas de compuestos tanto a pequeña como a gran escala y como método de purificación.

CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA ⁽⁸⁾

En este tipo de cromatografía el tipo de separación es una capa de unos 0.1 a 0.2 mm de espesor que se realiza con un absorbente sólido sobre vidrio, plástico o aluminio. Los sólidos más comunes son la alúmina, la sílica gel y la celulosa. La muestra que por lo general es una mezcla de compuestos orgánicos, se aplica cerca del final de la placa en forma de un pequeño volumen de solución, lo normal son unos cuantos Microlitros que contienen microgramos de los compuestos. La mancha de la muestra se seca y después se sumerge este extremo de la placa en una fase móvil adecuada que se encuentra en una cámara para cromatografía. El solvente se mueve hacia arriba sobre la capa fina del sólido y, conforme se va desplazando, los componentes de la muestra son arrastrados a lo largo de la placa a velocidades que dependen de las solubilidades en la fase móvil y de sus interacciones con el sólido. Después que el solvente a migrado por lo menos dos terceras partes, la placa se seca y las manchas se examinan.

A la separación le puede seguir una determinación cuantitativa, en donde se localiza la mancha, el adsorbente se puede raspar con una espátula para separarlo de la placa o a través de placas que pueden recortarse, el compuesto se eluye del material sólido con un solvente adecuado y la concentración de la solución se determina por medio de una técnica como la espectrofotometría, leyendo las muestras con su respectivo estándar a una longitud de onda específica para cada sustancia.

Para determinar el R_f se divide la distancia recorrida por la muestra o estándar entre la distancia recorrida por la fase móvil.

$$R_f = \frac{\text{Dist. Recorrida por Muestra o Estándar}}{\text{Dist. Recorrida por la Fase Móvil}}$$

IV. DISEÑO METODOLOGICO

4. DISEÑO METODOLOGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO:

Retrospectivo; prospectivo y experimental

Retrospectivo, porque parte de algo existente.

Prospectivo, porque a partir de lo existente propone algo que puede servir para el futuro.

Experimental, porque se realizará la obtención de un extracto alcohólico del fruto *Solanum mammosun* para posteriormente identificar los alcaloides generales y esteroidales presentes por cromatografía capa fina.

El presente trabajo de investigación se realizará en las siguientes etapas:

4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA.

Se realizará en varios momentos y lugares:

- Biblioteca de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador (UES).
- Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador (UES),
- Biblioteca del Plan de la Laguna.
- Biblioteca de la Escuela Nacional de Agricultura Roberto Quiñones (ENA)
- Internet.

4.3 INVESTIGACION DE CAMPO:

Identificación de la especie y luego se realizó la recolección del fruto maduro ó pintón del *Solanum mammosum* en la zona oriental.

UNIVERSO:

Plantas de la familia de las solanáceas de la flora salvadoreña.

MUESTREO DIRIGIDO:

Solanum mammosum (chichigua)

4.4 INVESTIGACION EXPERIMENTAL:

Comprenderá las siguientes etapas:

4.4.1 TRATAMIENTO PREVIO DE MUESTRA: (1,9)

Los frutos pintones de *Solanum mammosum* recolectados, serán sometidos a un procedimiento de limpieza, mediante la utilización de una solución diluida al 10% V/V de hipoclorito de sodio, para eliminar residuos de polvo y suciedad que pudiera interferir en el análisis. Luego se procederá a desmenuzar a mano dichos frutos, para posteriormente secar los trozos al sol por dos días y completar el secado en una estufa a 50 °C y luego proceder a la pulverización.

4.4.2 TÉCNICA DE EXTRACCIÓN. (1, 8,9)

- Pesar 40 gramos del fruto maduro ya seco y pulverizado en una balanza sumí - analítica. Transferir a equipo de reflujo.
- Extraer con etanol al 70% con equipo de reflujo por una hora (repetir procedimiento una vez más).
- Filtrar cada una de las soluciones usando un embudo cuello largo y papel filtro recolectando el filtrado en un beaker de 250 mL.
- Concentrar a 50 mL a 40 °C usando un Hot Plate.
- Añadir al extracto concentrado ácido clorhídrico 0.5 N hasta acidificar, agitar y calentar el extracto a 65 °C usando un Hot Plate.
- Extraer tres veces con 20 mL de tolueno con el objetivo de eliminar grasas usando ampolla de separación.
- Calentar la fase hidroalcohólica a 65 °C por 10 minutos usando un Hot Plate para eliminar el residuo de tolueno.

4.4.3 TECNICA DE IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES POR REACCIONES PRELIMINARES DE IDENTIFICACIÓN.

- IDENTIFICACION DE ALCALOIDES

Identificación con el reactivo Dragendorff. (3)

- Tomar 2 mL del extracto hidroalcohólico obtenido en el procedimiento anterior; usando una probeta de 5 mL transferir a un tubo de ensayo.
- Adicionar 1mL de reactivo de Dragendorff con un gotero.
- Observar precipitación.

Identificación con reactivo de Mandelin's. ⁽³⁾

- Tomar 2 mL del extracto hidroalcohólico obtenido en el procedimiento anterior; usando una probeta de 5 mL transferir a un tubo de ensayo.
- Adicionar 1mL de reactivo de Mandelin's con un gotero.
- Observar coloración.

IDENTIFICACION DE ALCALOIDES ESTEROIDALES**Identificación con el reactivo Lieberman's.** ^(3,7)

- Tomar 2 mL del extracto hidroalcohólico obtenido en el procedimiento anterior; usando una probeta de 5 mL transferir a un tubo de ensayo.
- Adicionar 1 mL de reactivo de Lieberman's con un gotero.
- Observar coloración.

Identificación con reactivo de Salkowski. ^(3,4)

- Tomar 2 mL del extracto hidroalcohólico obtenido en el procedimiento anterior; usando una probeta de 5 mL transferir a un tubo de ensayo.
- Adicionar 1 mL de reactivo de Salkowski con un gotero.
- Observar coloración.

4.4.4TECNICA DE PREPARACION DE PLACA CROMATOGRAFICA EN**CAPA FINA.** ⁽⁸⁾

- Medir una placa de vidrio de 7 cm. de altura y 3 cm. De ancho.
- Colocar una capa fina de sílica gel G60 de espesor uniforme (0.1- 0.2mm) con ayuda de un rodillo.
- Activar la placa a 120 °C por 30 min.

4.4.5 TÉCNICA DE PREPARACION DE PLACA CROMATOGRÁFICA

PREPARATIVA. (8)

- Medir una placa de vidrio de 20 cm. de altura y 20 cm. de ancho.
- Colocar una capa fina de sílica gel G60 de espesor uniforme (1-2 mm) con ayuda de un rodillo.
- Activar la placa a 120 °C por 30 min.

4.4.6 TÉCNICA DE IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES ESTEROIDALES POR CROMATOGRAFÍA.

- Técnica de identificación de alcaloides generales por cromatografía de capa fina. (8,9)

- Medir 1.0 cm. de altura de base a las dos placas cromatográficas y 1.0 cm. en el borde superior con suavidad sin levantar el adsorbente.
- Inyectar de forma continua una alícuota de muestra del extracto acuoso alcohólico obtenido en el procedimiento anterior sobre la línea, previamente marcada usando una jeringa de B.C.G repetir la operación hasta inyectar toda la muestra.
- Agregar 10 mL de la fase móvil cloroformo: metanol en una relación de (9:1) en la cámara cromatográfica y taparla.
- Dejar saturar la cámara cromatográfica con la fase móvil por 30 min.
- Introducir las dos placas cromatográfica en posición vertical que durante la elusión debe permanecer tapada, para evitar la evaporación del disolvente y sin moverse.

- Dejar eluir la fase móvil por capilaridad cuando el frente del solvente llegue a 1.0 cm. antes del borde superior de las placas cromatográfica; sacar las placas señalar con un lápiz la distancia recorrida por el disolvente y dejar as placas cromatográficas.
- Exprayar las placas cromatográficas con reactivo de Dragendorff y Mandelin´s respectivamente.

Técnica de identificación de alcaloides esteroidales por cromatografía de capa fina. (2,8)

- Medir 1.0 cm. de altura de base a las dos placas cromatográficas y 1.0 cm. en el borde superior con suavidad sin levantar el adsorbente.
- Inyectar de forma continua una alícuota de la muestra del extracto hidroalcohólico obtenido en el procedimiento anterior sobre la línea, previamente marcada usando una jeringa de B.C.G repetir la operación hasta inyectar toda la muestra.
- Agregar 10 mL de la fase móvil cloroformo; metanol; agua en una Relación de (70:30:5) a la cámara cromatográfica y taparla.
- Dejar saturar la cámara cromatográfica con la fase móvil por 30 min.
- Introducir las dos placas cromatográfica en posición vertical que durante la elusión debe permanecer tapada, para evitar la evaporación del disolvente y sin moverse.
- Dejar eluir la fase móvil por capilaridad cuando el frente del solvente llegue a 1.0 cm. antes del borde superior de las placas cromatográfica;

sacar las placas señalar con un lápiz la distancia recorrida por el disolvente y dejar secar las placas cromatográficas.

-Exprayar las placas cromatográficas con reactivo de Lieberman`s y Salkowski respectivamente.

-Técnica de identificación de alcaloides esteroidales por cromatografía preparativa en placa. (8)

-Medir 1.0 cm. de altura de base a las dos placas cromatográficas y 1.0 cm. en el borde superior con suavidad sin levantar el adsorbente.

-Inyectar una alícuota de muestra del extracto acuoso alcohólico obtenido en el procedimiento anterior; utilizando una jeringa de tuberculina de modo continuo a lo largo de la línea previamente marca.

-Agregar la fase móvil cloroformo; metanol; agua en una relación de (70:30:5) en la cámara cromatográfica y taparla.

-Dejar saturar la cámara cromatográfica con la fase móvil por 30 min.

-Introducir las dos placas cromatográfica en posición vertical que durante la elusión debe permanecer tapada, para evitar la evaporación del disolvente y sin moverse.

-Dejar eluir la fase móvil por capilaridad cuando el frente del solvente llegue a 1.0 cm. antes del borde superior de las placas cromatográfica; sacar las placas señalar con un lápiz la distancia recorrida por el disolvente y dejar secar las placas cromatográficas.

-Exprayar las placas cromatográficas con reactivo de Lieberman`s y Salkowski respectivamente.

R_f Experimentales: A las placas cromatograficas anteriores se les señaló previamente el punto de inyección de la muestra y el punto hasta donde correría la fase móvil utilizando una regla se determinó los R_f partir el punto de inyección de la muestra hasta el punto donde recorrió dicha mancha entre la distancia recorrida por la fase móvil obteniendo.

V. RESULTADOS

5. RESULTADOS E INTERPRETACION DE RESULTADOS.

CUADRO N.1 Pruebas preliminares de identificación de alcaloides en el extracto alcohólico.

Muestra	Reactivo	Resultado obtenido
2 mL del extracto hidroalcohólico de <i>Solanum mammosum</i> (chichigua)	Dragendorff	Precipitado anaranjado
	Mandelin's	Coloración roja

La mayoría de los alcaloides son generalmente compuesto con nitrógeno terciario y contiene uno o dos átomos de nitrógenos, normalmente en forma terciaria en un sistema cíclico; la mayor parte de alcaloides contiene también oxígeno; además contiene invariablemente carbono, hidrogeno.

En las pruebas fitoquímicas preliminares para alcaloides en general, nos indica la presencias de estos en el fruto seco de *Solanum mammosum* (Chichigua) debido a que con el reactivo de Dragendorff hay formación de precipitado anaranjado (formación de sales insolubles con las bases de alcaloides)

indicándonos la naturaleza del nitrógeno puede ser primario, secundario unido a un grupo alquilo que por lo general puede ser N-metilo.

El alcaloide puede poseer en su estructura un sistema cíclico en donde se efectuaría la reacción con la ruptura del ciclo siendo el producto derivado N-acilado; Si la reacción con el reactivo de Dragendorff diera resultados negativos posiblemente el nitrógeno sea terciario.

El resultado obtenido con el reactivo de Mandelin's es una coloración roja que es característico para la identificación de alcaloides que contienen oxígeno posiblemente como grupo hidroxilo, carboxilo, grupo oxo, grupo metóxido.

El grupo hidroxilo puede ser alcohólico o fenólico; si es alcohólico se evidencia con los agentes oxidantes si no sufre una oxidación posiblemente sea fenólico.

CUADRO N.2 Pruebas preliminares para la identificación de alcaloides esteroidales en el extracto alcohólico.

Muestra	Reactivo	Resultado obtenido
2 mL del extracto hidroalcohólico de <i>Solanum mammosum</i> (chichigua)	Lieberman's	Formación de anillo rojo violáceo.
	Salkowski	Formación de anillo rojo violáceo

Los alcaloides esteroidales tienen como unidad estructura básica la constituida por un esqueleto de 1,2- ciclopentenofenantreno. Al realizar las pruebas fitoquímicas específicas para alcaloides esteroidales en el extracto alcohólico del ***Solanum mammosum*** (chichigua); obtuvimos con reactivo de Lieberman's la formación de anillo rojo violáceo indicándonos la presencia de un anillo aromático o la presencia de un anillo aromático en una estructura policíclica; sustancias que contienen un anillo aromático que puede estar monosustituido con grupos carboxilo, amino, amida; sustancias que pueden tener dos sustituyentes en el anillo aromático o algunos compuestos disustituidos que el

segundo sustituyente es fluor. Compuestos que contienen grupos hidroxilos, álcalis y grupos de esteres.

Con el reactivo de Salkowski se da una oxidación enérgica que se va efectuar con facilidad en el doble enlace o en grupos hidróxilos que sean alcohólicos en donde la potencia del agente oxidante va depender en alguna forma de la naturaleza del compuesto que se oxida. Con esto se puede confirma la presencia de alcaloides esteroidales ya que se formo nuevamente el anillo rojo violáceo que es característico para este tipo de alcaloides lo cual son de interés para este trabajo.

CUADRO N.3 Identificación de alcaloides en el extracto alcohólico a través de la técnica de cromatografía en capa fina

Muestra	Reactivo	R _f medido (cm)	Manchas observadas coloración
2 μ l del extracto hidroalcohólico de <i>Solanum mammosum</i> (chichigua)	Dragendorff	5.8	Anaranjado
	Mandelin's	5.9	Roja

CUADRO N.4 Identificación de alcaloides esteroidales en el extracto alcohólico a través de la técnica de cromatografía en capa fina

Muestra	Reactivo	R _f medido (cm)	Manchas observadas coloración
2 μ l del extracto hidroalcohólico de <i>Solanum mammosun</i> (chichigua)	Lieberman's	6.1	Roja
	Salkowski	6.2	Roja

La identificación de alcaloides por cromatografía en capa fina realizado al extracto hidroalcohólico del fruto seco de *Solanum mammosum* (chichigua) permitió separar dichos compuestos presentes el extracto mediante el efecto de retención y el efecto de elución que existe entre la fase móvil y la fase estacionaria debido al efecto de polaridad que existen en ambas fases y las sustancias a separar permitiendo así separar el metabolito de interés en esta investigación facilitando así su identificación con el desarrollo del cromatograma a través de revelación de manchas característica; el lugar donde aparecen estas manchas coloreadas indica la posición de cada componente en la placa cromatografica; La relación entre la distancia recorrida por un componente y la recorrida por la línea frontal del disolvente es característica de cada componente y se denomina R_f este valor depende de las condiciones experimentales en que se realice la investigación .

Los alcaloides en general se identificaron con los reactivos de Dragendorff y Mandelin's y con los reactivos de Lieberman's y Salkowski para alcaloides esteroidales obteniendo valores de R_f experimentales

CUADRO No 5 Identificación de alcaloides esteroidales en el extracto alcohólico a través de la técnica de cromatografía preparativa en placa

Muestra	Reactivo	R _f medido (cm)	Manchas observadas coloración
2 μ l del extracto hidroalcohólico de <i>Solanum mammosum</i> (chichigua)	Lieberman's	10.9	Roja
	Salkowski	11.0	Roja

La identificación de alcaloides por cromatografía preparativa en placa realizado al extracto hidroalcohólico del fruto seco de ***Solanum mammosum*** (chichigua) permitió separar dichos compuestos presentes el extracto mediante el efecto de retención y el efecto de elución que existe entre la fase móvil y la fase estacionaria debido al efecto de polaridad que existen en ambas fases y las sustancias a separar permitiendo así separar el metabolito de interés en esta investigación facilitando así su identificación con el desarrollo del cromatograma a través de revelación de manchas característica el lugar donde aparecen estas manchas coloreadas indica la posición de cada componente en la placa cromatografica:La relación entre la distancia recorrida por un

componente y la recorrida por la línea frontal del disolvente es característica de cada componente y se denomina R_f este valor depende de las condiciones experimentales en que se realice la investigación .

Los alcaloides esteroidales se identificaron con los reactivos de Lieberman's y Salkowski obteniendo valores de R_f experimentales.

En la identificación de los alcaloides esteroidales por cromatografía preparativa en placa permitió el análisis de una mayor cantidad de muestra permitiendo obtener una resolución mejor de las de manchas reveladas con los reactivos utilizados.

VI. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. Las reacción preliminar de identificación de alcaloides generales con reactivo de Dragendorff realizados en el extracto hidroalcohólico del fruto seco de ***Solanum mammosum*** (chichigua) indican la presencia de un nitrógeno primario, secundario o terciario.
2. Con el reactivo de Mandelin's se identifican alcaloides que contienen oxígeno posiblemente como grupo hidroxilo, carboxilo, grupo oxo, grupo metóxido.
3. La reacción preliminares de identificación de alcaloides esteroidales con el reactivo de Lieberman's y Salkowski realizada en el extracto alcohólico del fruto seco de ***Solanum mammosum*** (chichigua) confirma la presencia de alcaloides esteroidales en la especie vegetal.
4. Los reactivos de Dragendorff, Mandelin's, Lieberman's y Salkowski son utilizado comúnmente como un spray o agente localizador para detectar alcaloides en cromatografía de capa fina.
5. Las manchas reveladas en cromatografía de capa fina para alcaloides en general y alcaloides esteroidales están bien definidas lo cual hizo posible calcular sus R_f que es característico de cada componente y la coloración de las mancha nos indica la posición de estos en la placa cromatografica.
6. La cromatografía preparativa en placa es la mejor forma para separar los alcaloides esteroidales ya que se define mejor su coloración de las manchas características.

7. Los R_f calculados son experimentales ya que no se cuenta con R_f teóricos para su comparación.
8. El fruto de ***Solanum mammosum*** es empleado medicinalmente para el tratamiento de la sinusitis, afecciones de la piel, como diurético.
9. Entre las formas florclóricas de preparación de ***Solanum mammosum*** esta por vapor en donde se agrega una cuchara del fruto en un litro de agua hirviendo, he inhalar el vapor por la nariz y la boca; Infusión verter una taza (8onzas) de agua hirviendo sobre una cucharada de raíz desmenuzada. Tomar una cucharada de la raíz cada 6 horas.
10. La técnica desarrollada en la presente investigación se considera correcta y relativamente exacta para el estudio de alcaloides esteroidales.

VII. RECOMENDACIONES

7. RECOMENDACIONES

1. Se debe emplear el alcohol como solvente manteniendo la temperatura y tiempos de extracción.
2. Almacenar el extracto en condiciones adecuadas de: Temperatura, luz y humedad para obtener resultados satisfactorios.
3. Es necesario realizar otro tipo de ensayo para su aislamiento como la cromatografía en columna. Ya que se comprobó la presencia de alcaloides esteroideos
4. Se debe de realizar un ensayo en cromatografía en capa fina y cromatografía preparativa en placa antes de realizar un estudio por cromatografía en columna.
5. En futuros trabajos se investigue a qué metabolito se le atribuye las propiedades medicinales para su aislamiento y cuantificación y poder ser utilizado como materia prima para la formulación de diferentes formas farmacéuticas.
6. Utilizar los extractos frescos para evitar una posible contaminación o proliferación de microorganismo al permanecer almacenados por mucho tiempo.
7. Incentivar el cultivo de la especie vegetal estudiada para beneficio de la población Salvadoreña.

VIII. BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. Arroyave F.C. Diseño Conceptual de una Planta Piloto para la Obtención de solasodina a partir de **Solanum mammosum**. <http://www.eafit.edu.co/NR/rdonlyres/CB6C7A3F-5981-4A85E6662457B56A963/890/cuaderno20.pdf> (11/03/06)
2. Bruneton J., 1991 Elementos de Fitoquímica y de farmacognosia, España Editorial Acribia, S.A. 355-362P
3. Clarke E.G.C. 1986 Clarke's Isolation and Identification of drugs in the pharmaceuticals body fluids and post mortem materials, second edition. The pharm. Soc. of Great Britain. Lodón,
4. Domínguez J. A 1975 Métodos de Investigación Fitoquímica México Editorial Limaza 141,211-219 p.
5. Evans, W. Farmacognosia, 1984 tercera Impresión. México D.F. Editorial Continental, S.A de C.V. Págs. 160-168.
6. Evans, W. Farmacognosia, 1984 Impresión No13 México D.F. Editorial Continental, S.A de C.V. Págs.308-315.
7. FINAR, I.L y otros 1977 Química Orgánica II Estereoquímica y química de los Productos Naturales segunda edición Madrid Editorial Alhambra.S.A 689-690 p y 509-510 p.
8. Martínez Grau, M.A y Otros, 2001, Técnicas Experimentales en Síntesis Orgánica, España, Editorial Síntesis, 171-176 p

9. Martínez Martínez A. Obtención de 16 – dehidroprogesterona a partir de Solasodina de Frutos Maduros de ***Solanum mammosum***.<http://muiscas.udca.edu.co/~vitae/solasod7.html>.(10/03/06)
10. Orellana de Nieto, L. y Otros, 1995, 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. Programa Iberoamericana de Ciencia y Tecnología Para el Desarrollo (CITED), Colombia, Editorial Santa Fe de Bogota.
11. Organización de los estados Americanos (OEA) y otros, 1989 Planter Vol.1 El Salvador pag.404.
12. Pamplona J 1997, Enciclopedia de las Plantas Medicinales 1a Edición Editorial Safeliz. Pags. 521,550-553,715, 718.
13. Quer, f 12985. Diccionario de Botánica. Editorial Labor D. A Barcelona España.
14. The United States Pharmacopeial convention, Inc. The United States Pharmacopeia, Nineteenth Revision. USA 1975
15. The United States Pharmacopeial convention, Inc. The Pharmacopeia of the United States of America, Twenty-fourth Edition, USP 25 Twinbrook 12601 Park Way, Rock Vile, MD 20852, United States.2002
16. Villar del Fresco ,A.M., 1999,Farmacognosia General,11ed.,España, Editorial Síntesis, S. A. 256-258 p.
17. Wallis, T. 1996 Manual de Farmacognosia, 4a Edición, Compañía Editorial Continental, S.A., México.
- 18.http://en.wikipedia.org/wiki/solanum_mammosum.
- 19.<http://www.abchomeoathy.com/r.php/sol-m/expectoration>.
- 20.www.botanica-online.com.

ANEXOS

ANEXO 1

CRISTALERIA, MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO

CRISTALERIA

- Agitador de vidrio
- Ampolla de separación
- Beaker de 50 mL
- Beaker de 100 mL
- Beaker de 250 mL
- Balón volumétrico de 100 mL
- Embudo bushner
- Embudo cuello largo
- Pipeta de 5 mL
- Probeta de 5 mL
- Probeta de 10 mL
- Tubo de ensayos

MATERIAL

- Atomizador
- Gotero
- Espátula
- Placa cromatográfica
- Perilla
- Tubo capilar

REACTIVOS.

- Acido clorhídrico
- Acido clorhídrico 2 M
- Acido clorhídrico 10 M
- Acido clorhídrico 0.5 M
- Acido sulfúrico
- Agua destilada.
- Agua libre de dióxido de carbono
- Amoníaco 1 %
- Hidróxido de sodio 6 N
- Hipoclorito de sodio 10% v/v
- Ioduro de potasio
- Nitrito de potasio
- Nitrito de sodio
- Subnitrato de bismuto
- Vanadato de amonio

DISOLVENTES.

- Cloroformo
- Etanol
- Etanol 90%
- Etanol 70%
- Metanol
- Tolueno

EQUIPO

- Agitador magnético
- Balanza analítica
- Baño de hielo
- Balanza semi – analítica
- Balón volumétrico
- Cámara cromatográfica
- Cámara extractora de gases
- Centrifugadora
- Equipo de reflujo
- Estufa
- Hot Plate

ANEXO 2

PREPARACION DE REACTIVOS

ACIDO CLORHIDRICO 1N (USP 25)

TRADUCCION

Ácido clorhídrico, HCl – 36.46 use grado reactivo ACS

Preparación de una solución volumétrica de ácido clorhídrico 1N. Diluya 8.5 mL de ácido clorhídrico con agua destilada a 1000 mL.

HIDROXIDO DE SODIO 6 N (USP 19)

TRADUCCION

- Preparación de una solución volumétrica de hidróxido de sodio 1 N (según USP 25).
- Disolver 162 g de hidróxido de sodio en 150 mL agua destilada fría libre de dióxido de carbono, enfriar la solución a temperatura ambiente y filtre a través de papel filtro poro fino. Transfiera 54.5 mL del filtrado a un balón volumétrico de 1000 mL y diluya con agua destilada libre de dióxido de carbono a 1000mL.

HIPOCLORITO DE SODIO (USP 25)

-Una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) en agua. Usualmente un color amarillo a amarillo verdoso tiene olor a cloruro es afectado por luz gradualmente deteriorado. Almacénese en recipiente resistente a la luz, preferiblemente a bajo de 25 grados centígrados.

REACTIVO DE DRAGENDORFF ⁽³⁾

Mezcle 850 mg. de subnitrito de bismuto con 40 mL de agua destilada y 10 mL de ácido acético glacial (solución A) disolver 8 g de ioduro de potasio en 20 mL de agua destilada (solución B) mezcle igual porción de solución A y solución B para obtener una solución stock, la cual puede ser almacenada por varios meses en un recipiente color ámbar.

REACTIVO DE MANDELIN'S ⁽³⁾

Adicionar un gramo de vanadato de amonio en 1.5 mL de agua destilada diluir a 100 mL con ácido sulfúrico concentrado.

REACTIVO DE LIEBERMANN BUCHARD ^(3,5)

Adicionar 19 de nitrito de sodio o nitrito de potasio a 10 mL de ácido sulfúrico con enfriamiento y agitación para absorber el vapor café.

REACTIVO DE SALKOWSKI ^(4,5)

Solución A: cloroformo.

Solución B: ácido sulfúrico concentrado.

ANEXO 3

CALCULOS DE PREPARACION DE REACTIVOS.

Preparación de una solución de ácido clorhídrico 0.5 N.

Pureza HCl = 37% p/p

D HCl = 1.18 g/mL

36.46 g HCl _____ 1.0N _____ 1L (soln)

18.23 g HCl _____ 0.5 N _____ 1L (soln)

37.00 g HCl _____ 100 g (soln)

18.23 g HCl _____ X

X= 49.27 g (soln)

$$D = \frac{M}{V}$$

$$V = \frac{M}{D}$$

$$V = \frac{49.27 \text{ g}}{1.18 \text{ g/mL}}$$

V = 41.75 mL HCl (para preparar 1000 mL de solución de HCl 0.5 N)

Solución de ácido clorhídrico 2M

Pureza HCL =37 g p/p D HCL = 1.18 g/mL

36.46 g HCL _____ 1M _____ 1L (soln)

72.92g HCL _____ 2M _____ 1L (soln)

37.00 g HCL ————— 100 g (sln)

72.92 g HCL ————— X

X= 197.08g sln

$$D = \frac{M}{V}$$

$$V = \frac{M}{D}$$

$$V = \frac{197.08 \text{ g}}{1.18 \text{ g/mL}}$$

V = 167.02 mL de HCL (para preparar 1000 mL de solución de HCL 2M)

167.02mL HCL ————— 1000mL

X ————— 100mL

X= 16.70 mL HCL son necesario para preparar 100mL de HCL 2M

Solución de ácido clorhídrico 10 M

Pureza HCl = 37% p/p D = 1.18 g/mL

36.46 g HCL ————— 1M ————— 1L (sln)

364.6g HCL ————— 10M ————— 1L (sln)

37.00 g HCL ————— 100 g sln

364.6 g HCL ————— x

x = 985.41 g sln.

$$V = \frac{M}{D}$$

$$V = \frac{985.41 \text{ g}}{1.18 \text{ g/mL}}$$

v = 835.09 mL de HCl (para preparar 1000 mL de solución de 10 M)

835.09 mL HCl ————— 1000 mL HCl 10 M

X ————— 100 mL HCl 10 M

X = 83.51 mL de HCl son necesarios para preparar 100 mL de HCl 10 M

Solución de Etanol al 70 %

pureza = 90.0 %

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

(90.0 %) X = (70%) (250 mL.)

X = 199.4 mL. de alcohol al 90 % para preparar 250 mL de alcohol al 70%

ANEXO 4

TECNICA DE PREPARACION DE REACTIVOS.

ACIDO CLORHIDRICO 2M

- Medir 16.17 mL de HCl con una probeta de 25 mL.
- Transferir los 16.17 mL HCl a un balón volumétrico 100 mL.
- Aforar el balón volumétrico de 100 mL con agua destilada
- Realizar el proceso en cámara extractora de gases
- Homogenizar la solución
- Envasar en frascos de vidrio
- Etiquetar.

ACIDO CLORHIDRICO 10 M

- Medir 83.5 mL de ácido clorhídrico con una probeta 100 mL.
- Transferir 83.5 mL de ácido clorhídrico un balón volumétrico de 100 mL
- Aforar el balón volumétrico de 100 mL con agua destilada.
- Realizar el proceso en cámara extractora de gases.
- Homogenizar
- Envasar y Etiquetar

ACIDO CLORHIDRICO 0.5 N

- Medir 41.75 mL de Acido clorhídrico con una probeta de 50 mL
- Transferir los 41.75 mL de Ácido clorhídrico a un balón volumétrico de 100 mL.
- Aforar el balón volumétrico de 100 mL con agua destilada.

- Realizar el proceso en cámara extractora de gases.
- Homogenizar la solución.
- Envasar y etiquetar.

SOLUCION DE ETANOL AL 70 %.

- Medir 199.4 mL de alcohol al 90% con una probeta de 500 mL.
- Transferir a un balón volumétrico de 250 mL.
- Llevar a volumen el balón volumétrico de 250 mL con agua destilada
- Homogenizar
- Envasar y etiquetar

SOLUCION DE HIDROXIDO DE SODIO 6N ⁽⁹⁾

- Pesar 162 g NaOH en un porta muestra usar balanza semi-analítica.
- Transferir los 162 g NaOH a un beaker de 250 mL y disolver con agua destilada fría libre de dióxido de carbono.
- Enfriar la solución a temperatura ambiente y filtre a través de papel filtro poro fino.
- Transfiera 54.5 mL del filtrado a un balón volumétrico de 1000 mL y diluya con agua destilada libre de dióxido de carbono a 1000mL.
- Homogenizar la solución
- Envasar la solución en frasco de polietileno y tapón de baquelita.
- Etiquetar.

REACTIVO DE DRAGENDORFF ⁽³⁾

SOLUCION A

- Pesar 850 mg. de subnitrito de bismuto en balanza analítica.
- Transferir 850 mg. de subnitrito de bismuto a un beaker de 250 mL
- Medir 40 mL agua destilada usando una probeta de 50 mL y 10 mL de ácido acético glacial en una probeta de 10 mL.
- Disolver 850 mg de subnitrito de bismuto con las soluciones del literal anterior
- Homogenizar solución

SOLUCION B

- Pesar 8 g de yoduro de potasio en balanza semi – analítica.
- Medir 20 mL de agua destilada usar una probeta de 25 mL
- Transferir 8 g de ioduro de potasio a un beaker de 50 mL y diluir con 20 mL de agua destilada.
- Homogenizar.
- Mezcle porciones iguales de solución A y B para obtener una solución stock.

REACTIVO DE LIEBERMANN BUCHARD ^(3,5)

- Pesar 1 g de nitrito de sodio en balanza semianalítica
- Medir 10 mL de H₂SO₄ usando probeta de 10 mL realizar operación en cámara extractora de gases
- Enfriar el ácido sulfúrico en baño de hielo.

- Disolver el gramo de nitrito de sodio en 10 mL de ácido sulfúrico frío use un beaker de 50mL y agitar con agitador de vidrio realice proceso en cámara extractora de gases
- Envasar en frasco de vidrio
- Etiquetar

REACTIVO DE MANDELIN'S (3)

- Pesar 1 g de vanadato de amonio en balanza semi - analítica
- Medir 2.5 mL de agua destilada.
- Diluir a 100 mL con ácido sulfúrico concentrado realice proceso en cámara extractora de gases
- Homogenizar la solución.
- Envasar y etiquetar

REACTIVO DE SALKOWSKI (4,5)

- Medir 2 mL de cloroformo.
- Medir 1mL ácido sulfúrico concentrado.

ANEXO 5
FOTOGRAFIAS



Figura No.1 Fruto maduro de *Solanum mammosum* (chichigua)



Figura No.2 Fruto maduro, seco y pulverizado de *Solanum mammosum* (chichigua)



Figura No.3 Equipo de reflujo con la especie *Solanum mammosum* (chichigua)



Resultados de pruebas preliminares del extracto hidroalcoholico de ***Solanum mammosum*** (chichigua)

1. Dragendorff Precipitado anaranjado
2. Mandelin's Coloración roja
3. Lieberman's Formación de anillo rojo violáceo.
4. Salkosqui Formación de anillo rojo violáceo

ANEXO 6

IDENTIFICACION BOTANICA DE *Solanum mammosum* (Chichigua)

**IDENTIFICACION BOTANICA DE *Solanum mammosum*
(Chichigua).**

ESCUELA DE BIOLOGIA


Plantas herbáceas o arbusto de 1.5m.de alto mas o menos, con numeras y delgadas protuberancias y espinas amarillentas, directamente en parte recurvas, las ramas fuertes, densamente pubescente con vello largo, simple, el vello suave y multicelular y glandular, hojas armadas con espinas, ovoide a ampliamente ovoide, bajamente lobular, sobre todo 10-25 cm.de largo .8-18 cm. amplio, el acento agudo de ápice, la base cordada a subcordada o casi trunca, densamente velludo encima y abajo el vello simple, pecíolos sobre todo 4-10 cm. largo, densamente largo velludo y con vello glandular, armado con espinas; inflorescencias laterales e internodales, casi sésile o subsessile, sobre todo 1-4 florecido; pedúnculos 9-14.5 mm. de largo, densamente velludo y con vello glandular; cáliz de 4-5 mm. de largo, desarmado, densamente velludo y con vello glandular, separado casi de la base, los lóbulos por poco lanceolado a lineal; corola violáceos, las ramas de 24-28 mm. de ancho, separado casi a la base, los lóbulos velludos por fuera; filamentos de 1-1.5 mm. de largo; anteras 8.5-10 mm. de largo estilo fuerte, aproximadamente el mismo largo de los estambres, al parecer desarrollando tarde algunas flores, la parte inferior glandular; ovario glandular; fruto amarillo brillante, 2.5-4.5 cm. de ancho, 3-6.5

cm. de largo, ovoide y bruscamente contraído en el ápice en un cuello corto (mammillate); semillas 3.5-4mm. de largo.

HISTORIA DE *Solanum mammosum* (Chichigua).

La planta de ***Solanum mammosum* (Chichigua)** es una de plantas más conocidas en Guatemala debido a su conexión con la peregrinación cada enero al santuario de esquípulas, la iglesia más famosa de América Central y México es visitada cada año por muchas decenas de miles de romeros o peregrinos de México y América Central y aún de región más distante. Uno encuentra a muchos peregrinos sobre los caminos antes y después de la celebración, la mayor parte de viajes a pie, así adquiriendo el mérito mayor. Ellos son bien reconocidos porque las mujeres llevan las decoraciones de estas frutas chichita. Los hombres tienen sus sombreros decorados con el musgo española palabra chichihua y sus variaciones, usadas generalmente en México y América Central para pechos de mujer, es sacada de una palabra náhuatl que tiene la misma importancia, y alude a la forma de la fruta algunas de las mujeres que van a esquípulas hacen esto debido a una creencia que esto va a ayudar en el porte de un niño, la conexión entre la fruta ***Solanum*** y la peregrinación es vista después. La costumbre es probablemente muy vieja. Por todas partes de Guatemala uno ve las frutas secas usadas como decoraciones en las viviendas más humildes, al escuchar que la peregrinación viene las semillas a menudo

son plantadas sobre viviendas lejos encima de la elevación en la cual las plantas crecen naturalmente, como una remota indicación que la gente de aquella casa ha hecho la peregrinación puede ser notado los peregrinos de otra iglesia famosa, en San Felipe, cerca de Antigua, llevan las ramas (sucursales) del árbol de pimienta, **Schinus molle** L. Las ramas (sucursales) de **Solanum mammosum** L. con las frutas brillantes amarillas a menudo son usadas sobre la ciudad Guatemala como decoraciones navideñas. las frutas a veces son usadas en la medicina doméstica como un remedio por fríos, pero su empleo es bastante peligroso como existe la creencia, probablemente bien basada, que ellos son venenosos.


Phemy Ventura
Curadora Herbario de la
Universidad de El Salvador (ITIC)