

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



Guatemala, Junio de 2001

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

DL
06
+(2145)

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANA:	Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
SECRETARIO:	Lic. Oscar Federico Nave Herrera
VOCAL I:	Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto
VOCAL II:	Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda
VOCAL III:	Dr. Federico Adolfo Richter Martinez
VOCAL IV:	Br. César Alfredo Flores López
VOCAL V:	Br. Manuel Anibal Leal Gómez

ACTO QUE DEDICO

- A DIOS Y VIRGEN MARIA: Por haber iluminado mi camino, y por permitirme alcanzar esta meta.
- A MIS PADRES: Carlos Lurssen y Rosy Córdova de Lurssen
Por su apoyo incondicional durante toda mi vida.
- A MIS HERMANAS: Evelyn y Fabiola, por su cariño y apoyo de siempre
Y por ser un ejemplo en mi vida.
- A MIS FAMILIARES: Por estar dispuestos a darme su apoyo.
- A MIS AMIGOS: Por los momentos compartidos y por brindarme su amistad.

AGRADECIMIENTO

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, por haberme brindado las enseñanzas necesarias para culminar mis estudios profesionales.

A mis catedráticos, por sus sabios conocimientos compartidos.

A la Licenciada Beatriz Medinilla, por su valiosa asesoría y por su amistad.

A todas las personas que me ayudaron a la realización de esta investigación.

INDICE

1. RESUMEN.....	01
2. INTRODUCCION.....	02
3. ANTECEDENTES.....	04
4. JUSTIFICACION.....	13
5. OBJETIVOS.....	14
6. HIPOTESIS.....	15
7. MATERIALES Y METODOS.....	16
8. RESULTADOS.....	22
9. DISCUSION DE RESULTADOS.....	23
10. CONCLUSIONES.....	25
11. RECOMENDACIONES.....	26
12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	27
13. ANEXOS.....	29

1. RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con el fin de determinar si la planta *Yucca elephantipes* (flor de izote) posee saponinas esteroidales en un porcentaje mayor de 0.1% y así evaluar si dicha especie pudiese constituir fuente potencial de materia prima para la síntesis de hormonas sexuales, cortisona, esteroides, diuréticos, vitamina D y heterósidos cardíacos.

Para ello se analizó la flor, tallo y hojas de *Yucca elephantipes* procedentes del departamento de Mazatenango, municipio de Suchitepéquez. Se realizaron diferentes ensayos, para la determinación de saponinas. Empezando con el test de espuma el cual es una prueba presuntiva de la presencia de saponinas, este se basa en la propiedad de las saponinas de formar espuma al agitar el material vegetal con agua. Luego se procedió con el test hemólisis el cual se basa en el poder hemolítico de las saponinas sobre los glóbulos rojos, haciendo que la solución se torne transparente. La cromatografía en capa fina fue el siguiente método que se realizó, el cual es un método de separación fisicoquímico, que nos revela mancha de colores característicos vistas bajo luz UV de 365 nm.

Por ultimo se realizó para determinar saponinas esteroidales el método descrito por Baccou J. C., Lambert F (4), el cual se basa en reacciones de coloración con anisaldehído, ácido sulfúrico y acetato de etilo, produciendo un cromóforo que presenta un único pico de absorción a 430 nm para todas las saponinas de naturaleza esteroideal. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que todas las partes analizadas de *Yucca elephantipes* poseen un porcentaje mayor de 0.1% de saponinas esteroidales. La flor posee el mayor porcentaje (10.57%), seguido por el tallo (10.28%) y las hojas (9.83%).

A través del análisis de varianza de una vía se pudo establecer estadísticamente que existe una diferencia significativa entre el contenido de saponinas esteroidales presentes en cada una de las partes de la planta.

2. INTRODUCCION

Las saponinas son un grupo de glucósidos naturales que forman espuma cuando se agitan con agua, que además ocasionan hemólisis a bajas concentraciones. Debido a esta propiedad las plantas que contienen saponinas se emplean como jabón. Las saponinas se utilizan como agentes limpiadores y sobre todo, como espumantes, en especial en líquidos para extinción de incendios (18).

Las saponinas están casi exentas de toxicidad por ingestión para animales de sangre caliente. Sin embargo, inyectadas directamente en la sangre son muy dañinas, pues hemolizan con rapidez los eritrocitos. La hidrólisis de las saponinas, inducida por ácidos o enzimas, rinde azúcar (con frecuencia glucosa) y una sapogenina que puede ser de tipo esteroidal (generalmente triterpenos tetracíclicos) o de tipo triterpénico (triterpenoides pentacíclicos) (3).

Las saponinas esteroidales son de gran importancia por su relación con compuestos como hormonas sexuales, cortisona, esteroides, diuréticos, vitamina D y heterósidos cardíacos (7), y están menos distribuidas en la naturaleza que las del tipo triterpénico. Por el contrario, estas últimas abundan en muchas familias de las dicotiledóneas. Muchas son ácidas debido a la presencia de un grupo carboxilo en la aglicona y/o azúcar. Todas las saponinas triterpenoides poseen actividad hemolítica, que puede variar de intensidad dependiendo del tipo de sustitución (9).

Las plantas del género *Yucca* de la familia Liliaceae son quizás las más prometedoras como fuente de esteroides. Se han estudiado casi todas sus especies, encontrándose rendimientos variables de sapogeninas. Frecuentemente se encuentran mezclas de varias de ellas. *Yucca elephantipes* es una especie perteneciente a la familia Liliaceae; y se ha encontrado que producen sapogeninas en buen rendimiento (2).

El presente estudio se realiza con el objetivo de cuantificar las sapogeninas presentes en *Yucca elephantipes*, utilizando el método espectrofotométrico descrito por Baccou J. C., Lambert F (4). A la vez determinar si el porcentaje de estos componentes es adecuado para ser utilizados como fuente de materia prima para la síntesis de hormonas sexuales, cortisona, esteroides, diuréticos, vitamina D y heterósidos cardíacos (20).

Los especímenes de *Yucca elephantipes* a trabajar serán recolectados en el municipio de Mazatenango, departamento de Suchitepéquez; durante el mes de abril.

3. ANTECEDENTES

3.1 SAPONINAS

Se le da el nombre de *saponinas* (del latín *sapon* = jabón) a un grupo de glicósidos que se disuelven en agua y disminuyen la tensión superficial de ésta; por lo tanto, al agitar su solución se forma espuma abundante, y relativamente estable. Las saponinas en forma de coloides hidrofílicos son impermeables en membranas animales. La característica de todas las saponinas es su habilidad para causar hemólisis (2). Por hidrólisis de las saponinas se obtienen carbohidratos y una aglicona, llamada genéricamente *sapogenina*, la cual puede tener un esqueleto esteroidal (tipo colano) como en la esmilagenina (ver anexo 1 fig. a), o triterpénico del tipo beta-amirina como en la chichipegina (ver anexo 1 fig. b), tipo alfa-amirina, como en el ácido asiático (ver anexo 1 fig. c), tipo lupeol, como en la estalogenina (ver anexo 1 fig. d), o de tipo tetracíclico como en el panaxadiol (6,7).

Las saponinas se encuentran distribuidas exclusivamente en el reino vegetal. La presencia de saponinas ha sido demostrada en más de 15 diferentes familias de plantas. Se ha encontrado que estos metabolitos son característicos de algunas familias (2).

3.2 SAPONINAS TRITERPENOIDES

Estas saponinas poseen el sistema de anillo oleanano, o más raramente ursano o damarano. Muchas son ácidas, debido a la presencia de 1 o 2 grupos carboxilos en la aglicona y/o un grupo azucarado. Otros grupos que contienen oxígeno pueden estar también presentes en las sapogeninas, como por ejemplo -OH, -CH₂OH o -CHO (11).

El carbohidrato usualmente contiene de una a seis unidades de monosacaridos, de los cuales los más comunes son la glucosa, galactosa, ramnosa, arabinosa, xilosa (2).

Todas las saponinas triterpenoides poseen actividad hemolítica, que varía de fuerte a débil, dependiendo del tipo de sustitución. (11)

3.3 SAPONINAS ESTEROIDALES

Las sapogeninas de las saponinas esteroidales mayormente derivada de espirostanoles y furostanoles, son usualmente convertidas en espirostanoles durante el proceso de aislamiento: estas sapogeninas poseen menos unidades azucaradas que las saponinas triterpenoides (11).

La característica de las saponinas esteroidales es la presencia, en la cadena lateral de la molécula de un grupo acetal, o cetona debido a la simetría del carbono (No. 22) de la aceto - cetona. Las saponinas pueden existir en forma de trans y de cis (2).

El producto formado por la reacción entre saponinas esteroidales y esteroides es insoluble en solventes ordinarios. Si son hervidos con tolueno la reacción se descompone y libera el esteroide libre, el cual es soluble en tolueno mientras la saponina es insoluble. Estas propiedades proporcionan un método conveniente para aislar saponinas esteroidales y esteroides (7).

3.4 ACCION Y USO DE LAS SAPONINAS:

Todas las saponinas causan hemólisis, por lo tanto son tóxicas para el organismo animal cuando son administradas parenteralmente: 1.5 mg/kg. de peso es letal por vía intravenosa. También el complejo esteroide - saponina puede ser a la larga causa de muerte cuando es administrado parenteralmente.

El efecto en el aparato respiratorio es evidente por el hecho de que las drogas que contienen saponinas han sido usadas extensivamente por personas primitivas para pescar. Muy pequeñas concentraciones de saponinas paralizan las funciones respiratorias de los peces (11).

A pesar de la extremada toxicidad de las saponinas al ser inyectadas en la corriente sanguínea, éstas no son dañinas cuando son administradas oralmente debido a que no son absorbidas por el tracto intestinal (6).

La importancia de las saponinas en medicina apareció principalmente debido a sus propiedades de afectar farmacológicamente la absorción de sustancias activas. Algunos ejemplos que ilustran esta propiedad son los siguientes:

- El simultáneo uso de digitoxina y de digitonina (saponinas las cuales son presentadas en niveles digitálicos) incrementan el efecto de digitoxina alrededor de 50 veces cuando son dadas a ranas.
- El curare tiene poca toxicidad cuando es administrado por vía oral por el hecho de ser absorbido muy despacio. Cuando es administrado junto con saponina el nivel de absorción es incrementado tanto que aparecen síntomas tóxicos. Sin embargo, no se puede generalizar la habilidad de las saponinas de aumentar el nivel de absorción de drogas. Cada compuesto individual debe ser probado con diferentes saponinas.
- Las saponinas también aumentan la absorción de sustancias diuréticas (sales) y aparentemente estimula a los riñones a una mayor actividad; este hecho debe responder a la razón por el que las saponinas son usadas frecuentemente en medicina popular para reumatismo. En el siglo XVI y XVII la raíz de zarzaparrilla adquiere magnífica fama como remedio casero para la sífilis. La acción de la droga podría explicarse quizás como un sinergismo entre la planta y el mercurio, con el cual se utilizaba conjuntamente. La absorción del mercurio quizás era aumentada con la presencia de saponinas (2).

Las saponinas son usadas como emulsificantes. Algunos piensan que los niveles digitálicos de saponinas son variables en la suspensión agua - glicósidos insolubles en infusiones acuosas de las drogas (6).

Las saponinas son irritantes en la boca, estómago e intestinos, dependiendo del tipo de saponinas que se trate. La secreción bronquial es estimulada por saponinas, con lo cual se puede explicar el uso del regaliz como expectorante. Esto se debe a que las saponinas del regaliz aumentan considerablemente la actividad del epitelio ciliado, un fenómeno que ayuda a su acción expectorante (16).

En la industria las saponinas son usadas en grandes cantidades como emulsificantes especialmente en extinguidores de fuego, en lavandería, etc. Técnicamente las plantas más importantes son el jaboncillo (*Sapindus saponaria*) y la corteza de quillaya (*Quillaia saponaria*) (6).

Muchas saponinas sirven como antibióticos naturales. Además, si las saponinas son regularmente incluidas en la dieta, pueden ayudar a la protección del cuerpo contra el cáncer y las enfermedades cardíacas (11, 19).

Aunque algunas saponinas esteroidales han mostrado diversas actividades farmacológicas (antimicrobiana, citotóxica, antitumoral, molusquicida, insecticida, antihelmíntica, expectorante, diurética, cardiovascular, antiinflamatoria, anti-úlceras, espermicida, analgésica, antipirética, sedante, antifertilidad, antihepatotóxica, etc.), fundamentalmente se han constituido desde hace bastante tiempo, como precursores únicos de muchos medicamentos esteroides tales como: hormonas sexuales, corticoides, contraceptivos orales y diuréticos. La figura 1, anexo 2, muestra algunos ejemplos de medicamentos esteroides producidos a partir de esteroides naturales. La producción industrial de estas sustancias requiere una serie de procesos microbiológicos de fermentación y una serie de conversiones

químicas relativamente complejas y su gran mayoría patentadas por los grandes laboratorios farmacéuticos (20).

La figura 2, anexo 2, muestra un esquema de la producción de hormonas esteroides a partir de la diosgenina obtenida de los rizomas de *Dioscorea* sp. La figura 3, anexo 2, muestra un esquema de la producción de medicamentos corticosteroides a partir de la Hecogenina acetilada. La figura 4, anexo 2, muestra un esquema para la producción de hidrocortisona a partir del estigmasterol presente en la semilla de soya (*Glycine max* o *Glycine soja*) o del haba del calabar (*phisostigmina venenosum*). La figura 5 anexo 2, describe la obtención de medicamentos esteroides a partir del denominado "compuesto S" que es el intermedio clave para varias clases de medicamentos esteroides. (20)

En Guatemala se han estudiado varias especies nativas que contienen saponinas esteroidales. Entre ellas, la zarzaparrilla (*Samilax lundellii*) investigada en 1,995 por Temaj, quien cuantificó sapogeninas esteroidales en hojas y rizomas de la planta, utilizando el método espectrofotométrico descrito por Baccou, Lambert (4). En dicho estudio se encontró un porcentaje promedio de 12.05% para los rizomas y 9.82% para las hojas, y que el porcentaje de saponinas esteroidales presentes en hojas y rizomas de *Smilax lundellii* es considerablemente mayor del 0.1%, lo que indica su potencial utilidad como fuente de materia prima en la fabricación de hormonas sexuales, vitamina D, y corticosteroides (12).

Luego, en 1,997, Chinchilla realizó un estudio cualitativo y cuantitativo de saponinas en hojas de *Cestrum nocturnum*. Mediante gravimetría encontró que las hojas de la planta contienen 3.33% de saponinas totales, por lo que éstas son aptas para su uso en la industria farmacéutica (14). Ese mismo año Oliva realizó la cuantificación de saponinas esteroidales en hojas, raíz y tallo de esta misma especie mediante análisis espectrofotométrico. Los resultados obtenidos mostraron que la mayor concentración de saponinas se encontraba en las hojas (4.96%), seguido por la raíz (0.62%) y por último el tallo (0.23%),

superando todas el valor de 0.1% establecido como mínimo para ser utilizada como fuente de materia prima (15).

En 1,999 Porras evaluó mediante espectrofotometría el contenido de saponinas esteroideas en *Sapindus saponaria* (jaboncillo). Los resultados obtenidos mostraron que las semillas contienen la mayor cantidad de saponinas, con un porcentaje promedio de 2.81% seguido por el fruto con 1.175% y por último la corteza con 0.04%. Las semillas y el fruto poseen un porcentaje mayor de 0.1%, por lo que se hacen aptas para uso industrial (19).

3.5 ENSAYOS PARA CARACTERIZACION:

Las saponinas se pueden reconocer fácilmente en los análisis fitoquímicos preliminares mediante los ensayos de la espuma, hemólisis y cromatografía en capa fina.

3.5.1 ENSAYO DE ESPUMA:

Al agitar una solución acuosa de una muestra que sea o contenga saponinas, en una probeta por 15 segundos, se forma una espuma estable como la obtenida al agitar la solución acuosa de un jabón. Puesto que existen otras sustancias que pueden formar también espuma, se debe asumir este ensayo como una prueba presuntiva de la presencia de saponinas (2).

3.5.2 ENSAYO DE HEMOLISIS:

Este ensayo es más confiable que el de la espuma. A una suspensión de glóbulos rojos en solución salina diluida, se añade una solución de la muestra que se presume es o contiene saponinas. Si los glóbulos rojos se hemolizan y la solución se torna transparente, se asume que el resultado es positivo. Este ensayo puede realizarse en cajas de Petri con agar-sangre o en

cajas de Petri con gelatina-sangre. Cuando la muestra contiene taninos, deben eliminarse antes de realizar la prueba ya que la interfieren. Esto se logra por tratamiento repetido de la muestra con óxido de magnesio, el cual forma complejo con los taninos, eliminándolos (20).

El poder hemolítico de las saponinas depende de varios factores como el pH, temperatura, tipo de sangre, etc. Es por ello que la muestra siempre debe ser manejada bajo condiciones estándar (2).

3.5.3 CARACTERIZACIÓN CROMATOGRÁFICA EN CAPA FINA:

La cromatografía en capa fina es un método de separación fisicoquímico. Sobre una delgada capa de material granular (fase estacionaria), la mezcla a separar, en forma de solución, se aplica sobre dicha superficie, ya sea como manchas o bandas, a lo largo de la línea base. Luego que la cromatoplaqueta se ha colocado dentro de una cámara firmemente cerrada que contiene un solvente adecuado (fase móvil), se efectúa la separación a través de migración capilar (desarrollo) (13).

Normalmente la distancia que se deja correr el solvente es de aproximadamente 10 cm. En caso que el valor de R_f obtenido sea bajo, puede dejarse que la placa se seque al aire durante unos 5 - 10 minutos, y luego se coloca nuevamente dentro de la cámara cromatográfica, hasta que el solvente recorra 10 cm de distancia. Con esto se duplica el grado de separación (13).

3.6 EXTRACCIÓN Y AISLAMIENTO DE SAPONINAS

Las saponinas por su carácter glicosídico, son insolubles en solventes apolares. Para obtenerlas de las plantas o animales, el material seco y molido se desengrasa previamente con un solvente apolar (generalmente éter de

petróleo o n-hexano). La porción apolar se extrae con etanol, metanol o mezclas de diferentes proporciones de estos alcoholes y agua. El extracto acuoso (libre de alcohol) se liofiliza o se concentra en rotavapor, y se hace pasar por resinas de intercambio iónico a fin de eliminar sustancias iónicas. El eluato acuoso se pasa luego a través de materiales como el Sephadex LH-20 para separar las saponinas de otras moléculas como péptidos y macromoléculas que dificultan su purificación cromatográfica. Una vez obtenidas las saponinas crudas, se puede utilizar sílica gel y como eluyentes mezclas de cloroformo-metanol-agua y butanol-ácido acético-agua. (20).

3.6.1 EXTRACCION CON ETANOL: En un soxhlet se extrajeron, con etanol, 3 Kg de hojas de *Yucca schottii*. Se destiló el etanol calentado en baño de María. El residuo se agitó con éter etílico para separar los lípidos; luego, el material insoluble se recristalizó en etanol al 80%, y se separaron los cristales de Kamonina, los que se recristalizaron en metanol Pf. 303-305° con descomposición (6).

3.6.2 EXTRACCION CON AGUA: flores, yemas o frutos de *Yucca brevifolia*, previamente triturados se maceraron con agua, la suspensión se prensó. El filtrado se aciduló con ácido sulfúrico hasta pH 1.0 y después se reflujo 4-6 horas. La mezcla se dejó enfriar y se decantó. El precipitado se suspendió en ácido sulfúrico 3N y se reflujo 5 horas. Al enfriar, se filtró y el precipitado se lavó con agua y luego se mezcló con carbonato de sodio, para neutralizar el ácido. La masa sólida se secó, se pulverizó y se extrajo con hexano o heptano. La solución se decoloró con carbón y se concentró, hasta que comenzó a cristalizar. La suspensión se enfrió y se recogieron los cristales de hecogenina. El filtrado se concentró nuevamente y se obtuvieron los cristales de tigogenina (6).

3.6.3 CUANTIFICACION DE SAPOGENINAS ESTEROIDALES MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRIA:

El método espectrofotométrico descrito por Baccou, Lambert (4), es simple, rápido, sensible y específico para cuantificar sapogeninas esteroideas. Es más eficiente que otros métodos analíticos tales como espectroscopía en infrarrojo, gravimetría, cromatografía gas líquido, colorimetría, cromatografía en capa fina densitométrica, cromatografía en columna seguida por espectrofotometría infrarroja, sobre todo con respecto a la posibilidad de determinar todas las sapogeninas esteroideas independientemente de sus particularidades estructurales. La determinación se basa en reacciones de coloración con anisaldehído, ácido sulfúrico y acetato de etilo, con lo cual se forma un cromóforo con el mismo espectro de absorción y un único pico a 430nm para las siguientes sapogeninas: diosgenina, trigogenina, hecogenina, smilagenina, yonogenina, tokorogenina, etc. (13).

4. JUSTIFICACION

Ya en la cultura antigua, se tenía conocimiento sobre la transformación de productos naturales, así algunos ejemplos son: obtención de sales naturales, utilización de sal común como condimento, sabían separar diferentes sales contenidas en el agua de algunos lagos, utilizaban plantas como jabón, etc. Dichos conocimientos se han transmitido de una generación a otra, hasta nuestros días.

En la actualidad muchos medicamentos son sintetizados a partir de drogas naturales provenientes de una gran diversidad de plantas. Guatemala es un país que cuenta con una flora muy diversa, entre la que podemos citar varias especies de la familia Liliaceae. La flor de izote (*Yucca elephantipes*) es una especie perteneciente a esta familia, y contiene saponinas esteroidales (2). Estos son compuestos de gran importancia a nivel mundial, debido a sus múltiples usos en la industria. Fundamentalmente se han constituido desde hace bastantes años como precursores únicos de muchos medicamentos esteroidales tales como hormonas sexuales, corticosteroides, contraceptivos orales y diuréticos (20).

Debido a esto surge la necesidad de establecer si *Yucca elephantipes* contiene un porcentaje adecuado de saponinas esteroidales para poder ser considerada como especie potencialmente útil para la fabricación de medicamentos esteroidales.

5. OBJETIVOS:

4.1 GENERAL:

- Cuantificar el contenido de sapogeninas esteroidales presentes en la flor, tallo y hojas de *Yucca elephantipes* (flor de izote), mediante el método de espectrofotometría.

4.2 ESPECIFICOS:

- Evaluar si la planta *Yucca elephantipes* contiene un porcentaje adecuado de saponinas para ser considerada como una especie potencialmente útil como fuente de materia prima para la síntesis de hormonas sexuales, cortisona, esteroides, diuréticos, vitamina D y heterósidos cardíacos.
- Establecer qué parte de la planta (hojas, flor, tallo) contiene mayor porcentaje de sapogeninas esteroidales.

6. HIPOTESIS

Por lo menos una de las partes aéreas de *Yucca elephantipes* (hojas, flores y tallo) contiene sapogeninas esteroidales en porcentaje mayor de 0.1% por lo que se pueden considerar como fuente de materia prima en la síntesis de hormonas sexuales, cortisona, esteroides, diuréticos, vitamina D y heterósidos cardíacos.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 UNIVERSO DE TRABAJO:

Está constituido por las partes aéreas desecadas (flor, tallo y hojas) de ejemplares de *Yucca elephantipes* (flor de izote), colectadas en Mazatenango, Suchitepéquez.

7.2 MEDIOS:

7.2.1 RECURSOS HUMANOS:

- Autora: Lilian Lurssen Córdova
- Asesora: Lic. Beatriz E. Medinilla A.

7.2.2 RECURSOS MATERIALES:

- Laboratorio del Departamento de Farmacognosia y Fitoquímica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Herbario Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Herbario Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.

7.2.3 MATERIAL, EQUIPO, REACTIVOS:

- Cristalería común de laboratorio.
- Estufa eléctrica.
- Balanza analítica Mettler H78AR.
- Molino estándar modelo No. 3 Willey Mill.
- Espectrofotómetro Spectronic 601.
- Campana de extracción de gases.
- Estándar de saponinas.
- Estándar de diosgenina.
- Control de saponinas.
- Anisaldehído.

- Acetato de etilo grado reactivo.
- Acido sulfúrico grado reactivo.
- Metanol.

7.3. PROCEDIMIENTO:

7.3.1 COLECTA DE LA PLANTA:

La planta se colectó en el departamento de Mazatenango, Suchitepéquez en el Km 161 ruta al pacífico, a una altura de 1,200 pies sobre el nivel del mar.

7.3.2 CARACTERIZACION DE LA PLANTA:

La planta fue caracterizada desde el punto de vista botánico en el Herbario de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por el Ing. Agr. Mario Véliz.

7.3.3 OBTENCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL PULVERIZADO:

Las partes de la planta por separado fueron desecadas en horno a una temperatura no mayor de 40°C, para luego ser pulverizadas en el molino.

7.4 METODO:

7.4.1 TEST DE ESPUMA:

- Pesar 100 mg de material vegetal seco y pulverizado y colocarlo en un tubo de ensayo. Para comparar utilizar 2 tubos control: a) 2 ml de control de saponinas. b) 2 ml de agua destilada.
- Añadir 10 ml de agua destilada a cada tubo. Calentar en baño de maría durante 30 minutos.

- Enfriar, tapar y agitar vigorosamente durante 30 a 40 segundos. Dejar reposar los tubos en posición vertical durante media hora. Si luego de transcurrido este tiempo se observa una capa de espuma mayor de 3 cm. la superficie del líquido, se presume que la muestra contiene saponina. Si la espuma es poca y fugaz puede atribuirse a una mínima concentración de saponinas o también a la presencia de proteínas o ácidos orgánicos. (10)

7.4.2 TEST DE HEMOLISIS:

- Preparar una caja de petri con agar sangre y usando un tubo de ensayo de aproximadamente 1 cm. de diámetro remover una capita de agar de 3 partes diferentes de la caja, equidistantes entre sí.
- Calentar con un mechero un agitador de vidrio de 1 a 2 mm de diámetro, e inmediatamente sellar los bordes del agar de cada agujero, de manera que al introducir dentro de cada copa el líquido de las muestras, no se difunda por debajo de la capa de agar. Es posible que se requiera repetir varias veces el calentamiento hasta sellar adecuadamente.
- Utilizando un gotero o una pipeta pasteur, añadir suficiente extracto vegetal acuoso a una de las copas hasta casi llenarla, de modo que la muestra no se extienda sobre la superficie del agar - sangre. Llenar la segunda copa con control de saponinas y la tercera con agua destilada.
- Dejar en reposo durante 24 horas, y observar la presencia de zonas claras de hemólisis que circunden cualesquiera de las copas. Si se encuentran presentes, medir la zona desde el punto más lejano de hemólisis a la orilla de la copa (en mm.). Anotar los resultados (10).

7.4.3 CARACTERIZACION MEDIANTE CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA:

Preparación del extracto:

- Extraer 1 g. del material vegetal pulverizado con 5 ml de metanol, calentando en baño de maría. Evaporar hasta aproximadamente 1 ml.

Solución estándar:

- Preparar una solución de saponinas al 0.1% en metanol.

Fase estacionaria:

- Cromatoplacas de sílica gel 60 F - 254.

Fase móvil:

- Cloroformo - metanol - agua (64:50:10).
- Con esta fase móvil se separan todas las mezclas de saponinas contenidas en drogas vegetales. Sin embargo, la mezcla debe ser preparada exactamente. Debe emplearse cloroformo grado analítico (el de grado técnico contiene alcohol), y la cromatografía debe realizarse a 20°C, 30 minutos después de haber añadido el solvente, para saturar la cámara. A temperaturas más altas la separación no es lo suficientemente adecuada.

Detección:

- Reactivo de cloruro de antimonio III: preparar una solución de cloruro de antimonio III al 10 % en cloroformo. Asperjar la cromatoplaça, luego calentar por 5 - 6 minutos a 100°C. Evaluar en visible (colores rojo - violeta) o bajo luz ultra violeta de 365 nm. (fluorescencia rojo - violeta, azul y verde) (10).

7.4.4 METODO ESPECTROFOTOMETRICO PARA CUANTIFICACION DE SAPOGENINAS: (13).

- Pesar exactamente 0.125 g del material vegetal pulverizado y añadir 25 ml de etanol de 95°. Agitar, calentar en baño de maría a 60°C por 20 minutos. Filtrar.
- Transferir una alícuota de 4 ml a un beaker de 50 ml y evaporar a sequedad, en baño de maría.
- Enfriar a temperatura ambiente y añadir: 2 ml de acetato de etilo, 1 ml de reactivo A (0.5ml. de anisaldehido más 99.5 ml. de acetato de etilo) y 1 ml de reactivo B (Acido sulfúrico al 50% en acetato de etilo.)
- Agitar y calentar a 60°C en baño de maría durante 20 minutos.
- Enfriar por 10 minutos.
- Leer a 430 nm., utilizando blanco (2 ml de acetato de etilo, 1 ml. de reactivo A y 1 ml del reactivo B) y curva estándar de diosgenina.

Curva de calibración:

Pesar 10 mg. de diosgenina en 100 ml. de etanol de 95°.

A partir de dicha solución preparar los siguientes estándares de referencia:

- Estándar 1 (2 microgramos/ml) : 0.2 ml de stock, aforar a 10 ml
- Estándar 2 (4 microgramos/ml) : 0.4 ml de stock , aforar a 10 ml.
- Estándar 3 (6 microgramos/ml) : 0.6 ml de stock , aforar a 10 ml.
- Estándar 4 (8 microgramos/ml) : 0.8 ml de stock , aforar a 10 ml.

7.5 DISEÑO DE INVESTIGACION:

La cuantificación de sapogeninas esteroidales se realizó a partir de un muestreo no probabilístico a conveniencia, de plantas de *Yucca Elephantipes* recolectadas en el municipio de Mazatenango, departamento de Suchitupéquez, (anexo 3.)

La muestra la constituye una mezcla de cada parte de la planta a trabajar (flor, tallo y hojas) desecadas de distintos ejemplares de *Yucca elephantipes*. Los análisis se efectuaron por triplicado para cada una de las partes de la planta.

Para evaluar si existía o no diferencia estadísticamente significativa entre los porcentajes de sapogeninas esteroidales presentes en las distintas partes aéreas de la planta, se utilizó análisis de varianza de una vía.

8. RESULTADOS

Se realizaron cuatro pruebas a cada una de las muestras para determinar si poseen saponinas, obteniéndose resultados positivos en todas las muestras. Al efectuar el test de espuma se observó en todas las muestras la formación de una capa estable de espuma que alcanzó a los 30 minutos una altura de 7.8 cm en la flor, 7.4 cm en el tallo y 4.7 cm en la hoja, como se muestra en la tabla 1 (pág. 40)

En la tabla 2 (pág. 41) se detallan los resultados obtenidos en el test de hemólisis, los cuales se confirmaron por la formación de un área hemolizada de 4.7 mm. en la flor, 3.8 mm. en el tallo y 3.7 mm. en la hoja.

Por medio de la cromatografía en capa fina (figura 1, pág. 42) se confirmó el contenido de saponinas esteroidales mediante la presencia de manchas azul y verdes bajo luz ultravioleta a 365 nm, al utilizar cloruro de antimonio al 10% como revelador. En el cromatograma se obtuvieron valores de Rf de: flor (0.95; 0.45; 0.21), tallo (0.95; 0.59) y flor (0.95; 0.62).

Mediante la cuantificación espectrofotométrica (tabla 3, pág. 43) se encontró que la flor contiene el mayor contenido de saponinas esteroidales (10.57%), seguido por el tallo (10.28%) y por último las hojas (9.83%).

Para evaluar estadísticamente las diferencias en cuanto al contenido de saponinas esteroidales presentes en cada una de las partes de la planta se utilizó análisis de varianza de una vía, obteniendo un F calculado de 186.46 mayor al F teórico o crítico de 5.14.

9. DISCUSION DE RESULTADOS

Con base a los resultados obtenidos en el test de espuma se pudo establecer que todas las partes aéreas de *Yucca elephantipes* poseen saponinas, debido a la formación de espuma estable a una altura mayor de 3 cm en todos los casos (7.8 cm. en la flor, 7.4 cm. en el tallo y 4.7 cm. en las hojas). Con el test de hemólisis se confirmó la presencia de saponinas debido a la formación de áreas decoloradas de 4.7 mm. de diámetro para la flor, 3.8 mm. para el tallo y 3.7 mm. en las hojas, alrededor del agujero donde fue agregado el extracto vegetal.

Mediante la cromatografía en capa fina se caracterizaron las saponinas esteroidales presentes en las partes evaluadas. mediante la presencia de manchas de color azul y verde al ser observadas bajo luz ultravioleta a 365 nm., característica de las saponinas al reaccionar con cloruro de antimonio III. El tipo de saponinas que se encuentra en una planta puede variar dependiendo de cada una de sus partes, así se encontró que las flores poseen 3 componentes (Rf 0.95; 0.45; 0.21); mientras que en tallo y hojas solo se encontraron 2 componentes, tallo (Rf: 0.95; 0.59), hoja (Rf: 0.95; 0.62).

La cuantificación espectrofotométrica permitió establecer que todas las partes aéreas de la planta contienen un porcentaje alto de saponinas esteroidales. (flor, 10.583%; tallo, 10.283%; y Hojas 9.828%), valores muy superiores al 0.1% considerado como mínimo para que una planta pueda ser utilizada como fuente de materia prima para la síntesis de hormonas sexuales, cortisona, esteroides, diuréticos, vitamina D, y heterósidos cardíacos.

Finalmente el análisis de varianza de una vía, muestra que existe diferencia estadísticamente significativa entre las distintas partes evaluadas de la planta, debido a que en los resultados estadísticos el valor de F calculado (186.43) es mayor al valor de F teórico o crítico (5.14).

Es importante hacer notar que la planta fue recolectada en el municipio de Mazatenango, departamento de Suchitepéquez, con el fin de reducir al mínimo posibles variables que se pudieran presentar, ya que el contenido de sapogeninas al igual que otros componentes químicos puede variar dependiendo de muchos factores externos tales como: época del año, clima, suelo, altitud y latitud.

10 CONCLUSIONES

- Todas las partes aéreas de *Yucca elephantipes* (flor de izote) procedentes de Mazatenango Suchitepéquez, contienen saponinas del tipo esteroidal.
- Tanto las flores, tallo y hojas de la planta presentan sapogeninas esteroidales en porcentajes mayores de 0.1% (flor 10.583%, tallo 10.283% y hojas 9.828%), por lo que poseen potencial utilidad como fuente de materia prima para la síntesis de hormonas sexuales, cortisona, esteroides, diuréticos, vitamina D, y heterosidos cardiacos.

11 RECOMENDACIONES

- Es importante seguir evaluando la presencia de saponinas esteroidales en *Yucca elephantipes*, tomando en cuenta diversos factores tales como clima, procedencia, y época del año, para verificar si existen diferencias significativas debido a estos factores.
- Asimismo, evaluar las diferentes especies del genero *Yucca* con el objetivo de conocer si poseen saponinas esteroidales en porcentaje mayor del 0.1%, y a la vez ver cuál proporciona el mayor porcentaje.
- Investigar el procedimiento de análisis más adecuado para aislar las sapogeninas esteroidales en la planta.

12. REFERENCIAS

1. STANDLEY, C. P.; STEYERMARK, J. A. 1,952. Flora de Guatemala. Chicago. Chicago Natural History Museum. pp. 58-61; 88-91.
2. SWAIN, T. 1965. Chemical Plant Taxonomy. New York. Academic Press London. pp. 341, 353-355
3. HUTCHINSON, J. 1,973. The Families of Flowering Plant. 3^a. Ed. Koenigstein/west Germany. Otto Koeltz Science Publishers. pp. 816-817
4. BACCOU J.C., LAMBERT F., SAUVAIRE J. 1,977. Spectrophotometric Method for the determination of Total Steroidal Sapogenin. Analyst. pp. 102: 458 - 465.
5. CRONQUIST, A. 1,981. An integrated System of Classification of flowering plants. New York. Columbia University Press. The New York Botanical Garden. pp.1217-1221.
6. DOMINGUEZ, X. A. 1,985. Métodos de Investigación Fitoquímica., Distrito Federal. Limusa. pp. 149 - 153
7. ROMO DE VIVAR, A. 1,985. Productos Naturales de la Flora Mexicana. Distrito Federal. Limusa. pp. 201-203 .
8. ESTRADA, E. 1,987. Diagnóstico de la situación actual del izote (Yucca elephantipes) en el Departamento de Santa Rosa. Tesis de Graduación (Ingeniero Agronomo) Facultad de Agronomía Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala pp. 4-15
9. HEYWOOD, V.H. Flowering Plants of the world. 1993. New York Updated edition. Oxford University Press. P. 312, 314 .
10. MEDINILLA , B. 1,999 Manual de Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Universidad de San Carlos de Guatemala. pp. 8-11.
11. SCIENCE NEWS, 1995. Scientist tout the value of Saponinas. Vol. 148 December 9, <file:///A:/saponinstext.htm>
12. TEMAJ, S. 1,995. Cuantificación de Saponinas Esteroidales en Hojas y Rizomas de Smilax lundellii. Tesis de Graduación (Química Farmacéutica)

- Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala pp. 50.
13. MEDINILLA, B. 1,996 Manual de Laboratorio de Farmacognosia. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Universidad de San Carlos de Guatemala. pp. 36-37.
 14. CHINCHILLA, C. 1997. Determinación cuali-cuantitativa de sapogeninas esteroidales en hojas de *Cestrum nocturnum*. Tesis de Graduación (Química Farmacéutica) Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 40 p.
 15. OLIVA, p. 1997. Cuantificación de Sapogeninas esteroidales en *Cestrum Nocturnum* (Huele de Noche) mediante espectrofotometría. Tesis de Graduación (Química Farmacéutica) Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 32 p.
 16. WAGNER H., S. BLADT, & E.M. ZGAINSKI. 1984 Plant Drug Analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas. New York pp. 225, 226, 227.
 17. The plant - Book. Aportable dictionary of the vascular plants. 1,997. 2ª. Ed. The press syndicate of the University of Cambridge. pp 764-765.
 18. ENCICLOPEDIA MICROSOFT © ENCARTA © 99. © 1993-1998 Microsoft Corporation.
 19. PORRAS, V. 1,999. Cuantificación de Sapogeninas Esteroidales en Frutos, Semillas y corteza de *Sapindus saponaria* (jaboncillo). Tesis de Graduación (Química Farmacéutica) Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 31 p.
 20. Martínez, A. Notas del curso de Farmacognosia y fitoquímica Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquía.
<http://quimbaya.udea.edu.co/~facq/indice.htm>

13. ANEXOS

ANEXO 1

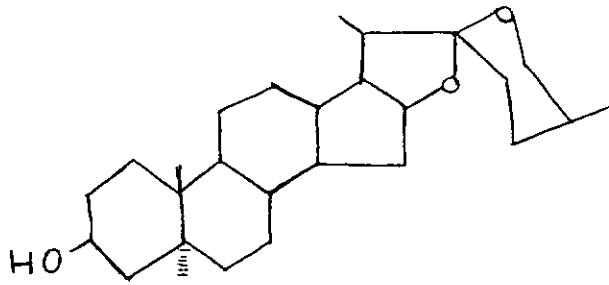


Fig. a Esmilagenina

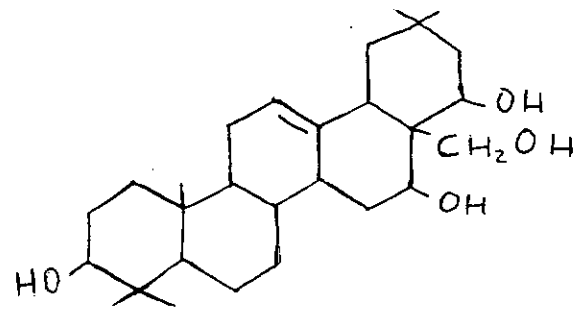


Fig. b chichipegenina

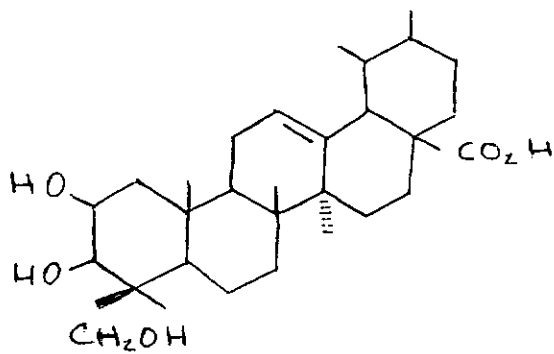


Fig. c ácido asiático

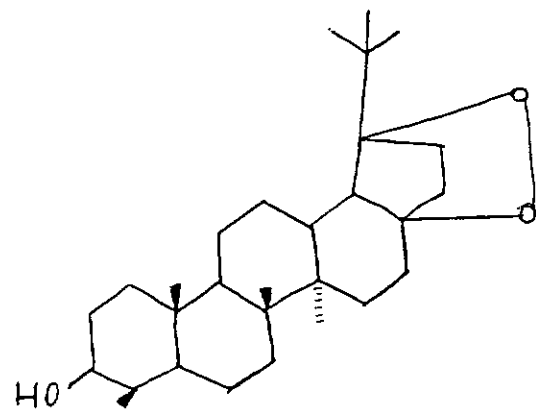


Fig. d estalogenina

ANEXO 2

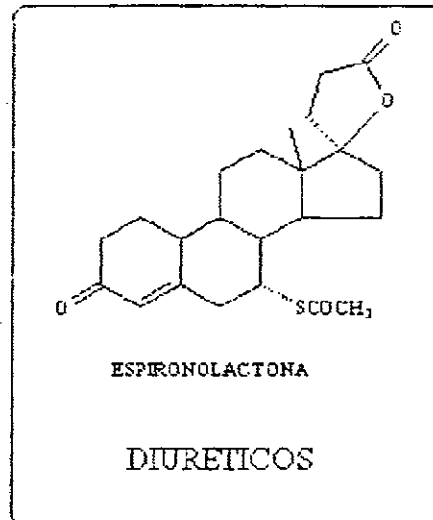
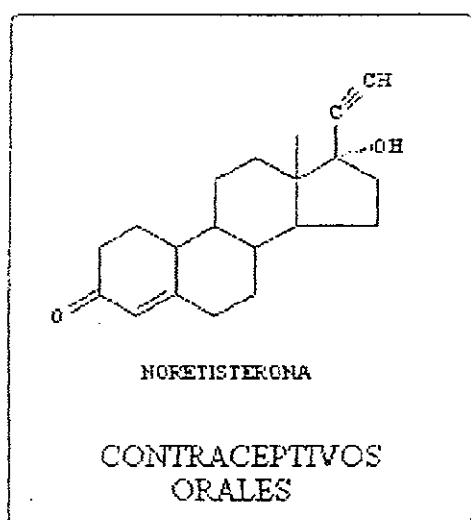
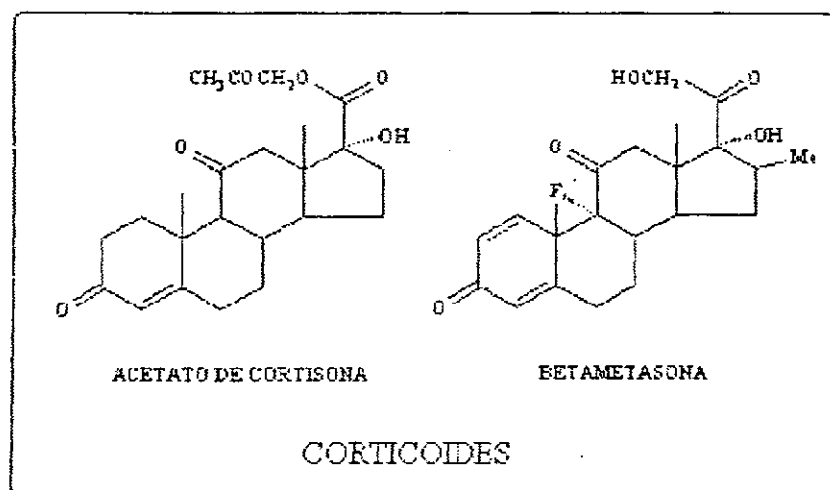
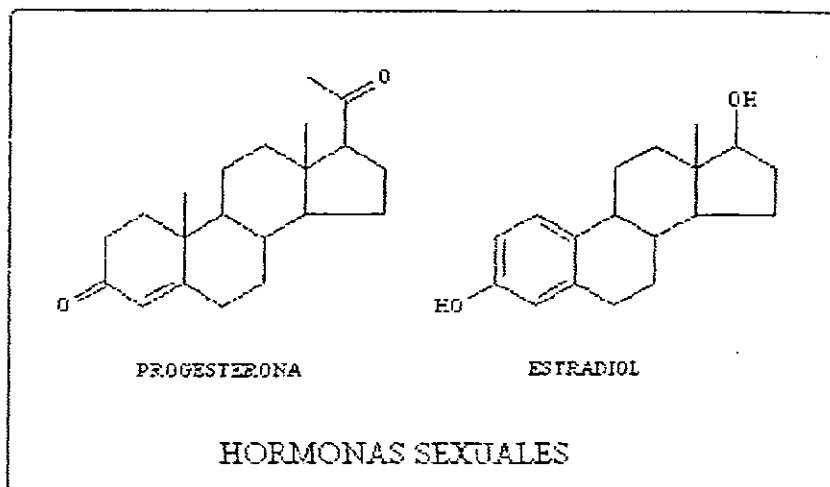


Fig. 1 Estructura de algunos medicamentos esteroides.

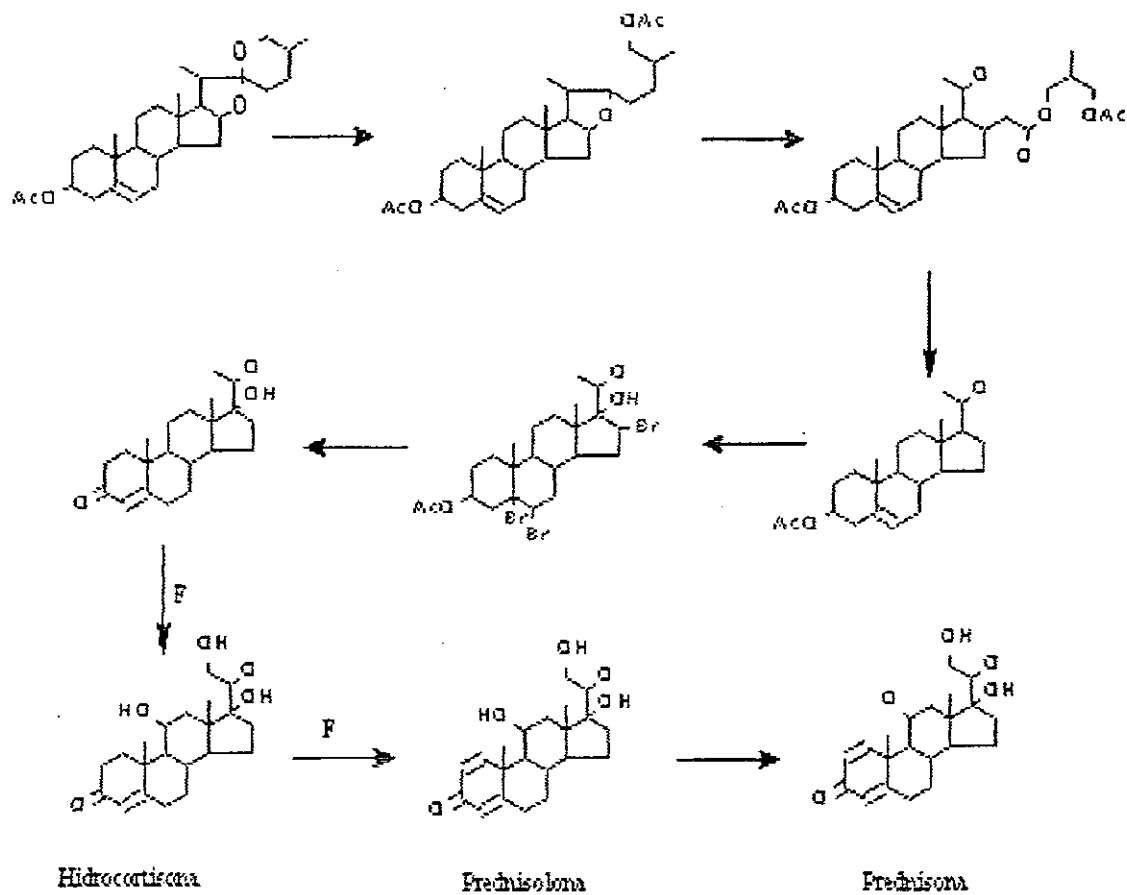


Fig. 2 Esquema del proceso de obtención de medicamentos a esteroides a partir de diosgenina (F= fermentación)

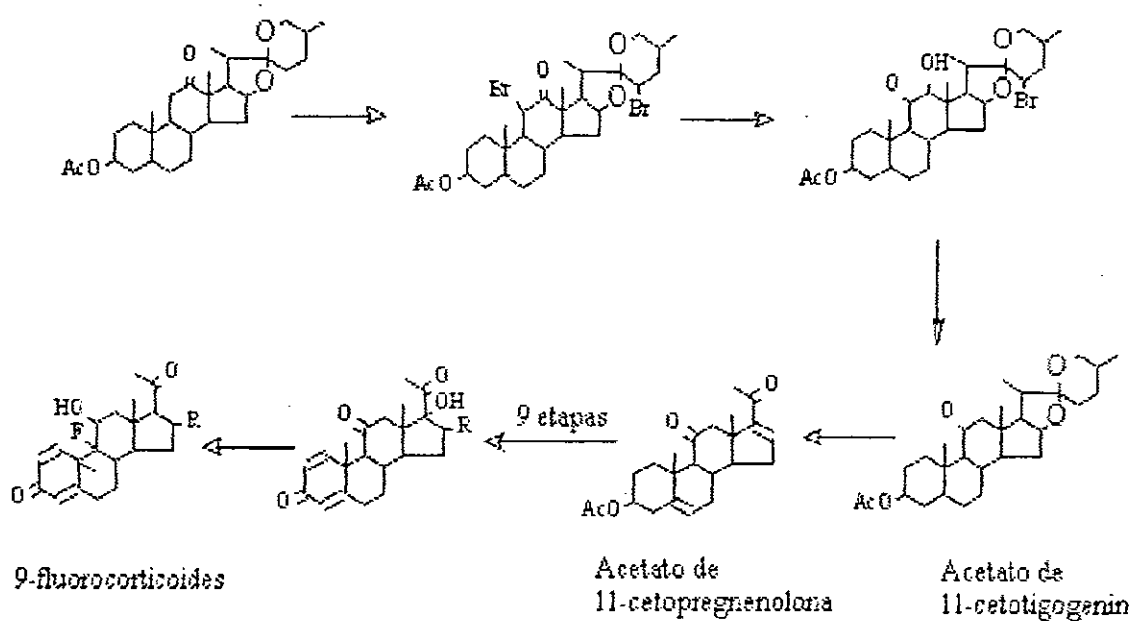


Fig. 3 Esquema de la conversión de Acido de Hecogenina en medicamentos fluorocorticoides.

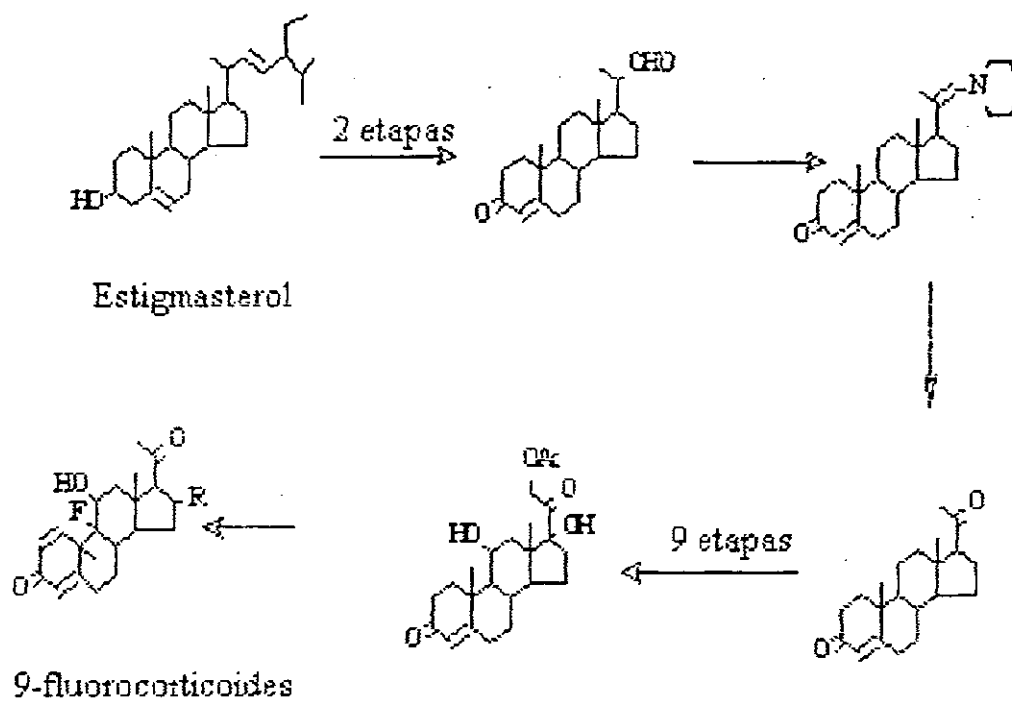


Fig. 4 Esquema de la conversión industrial de estigmasterol en derivados de la cortisona.

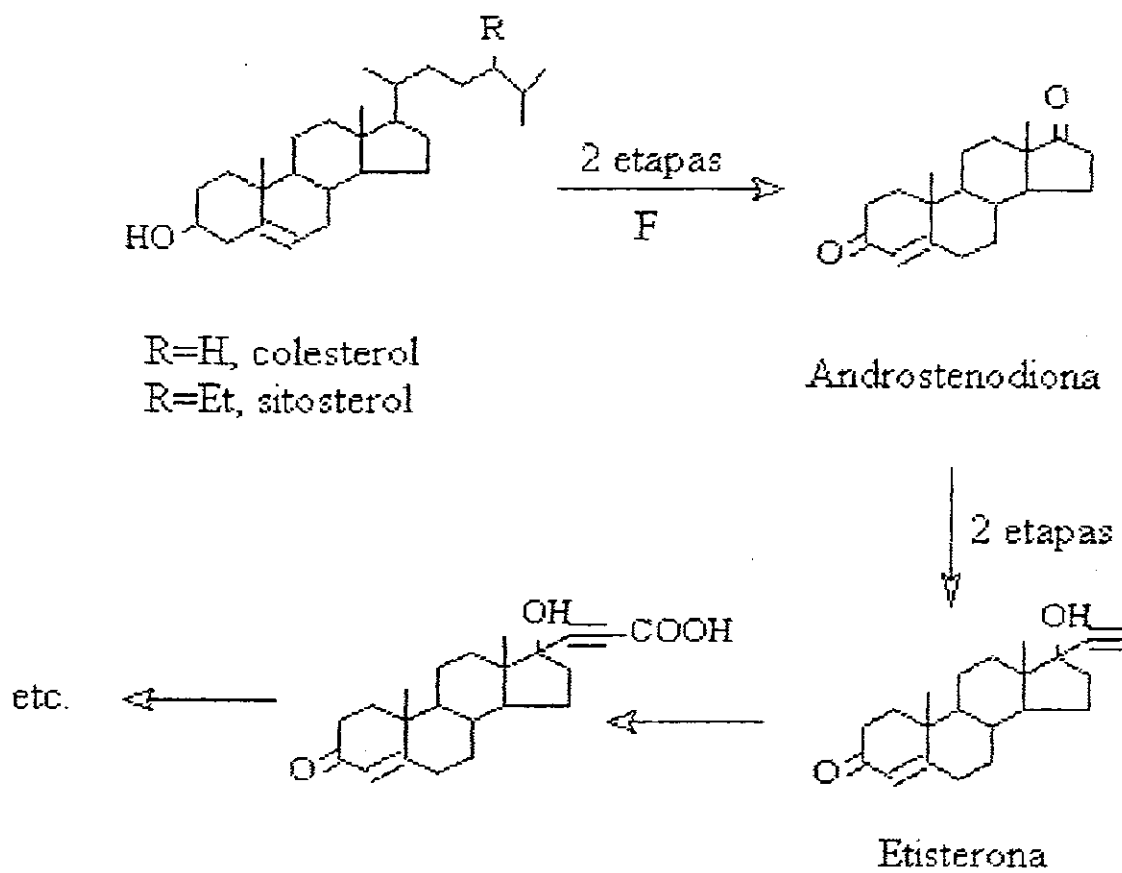


Fig. 5 Esquema de la conversión de colesterol y sitosterol en medicamentos esteroideos, contraceptivos orales.

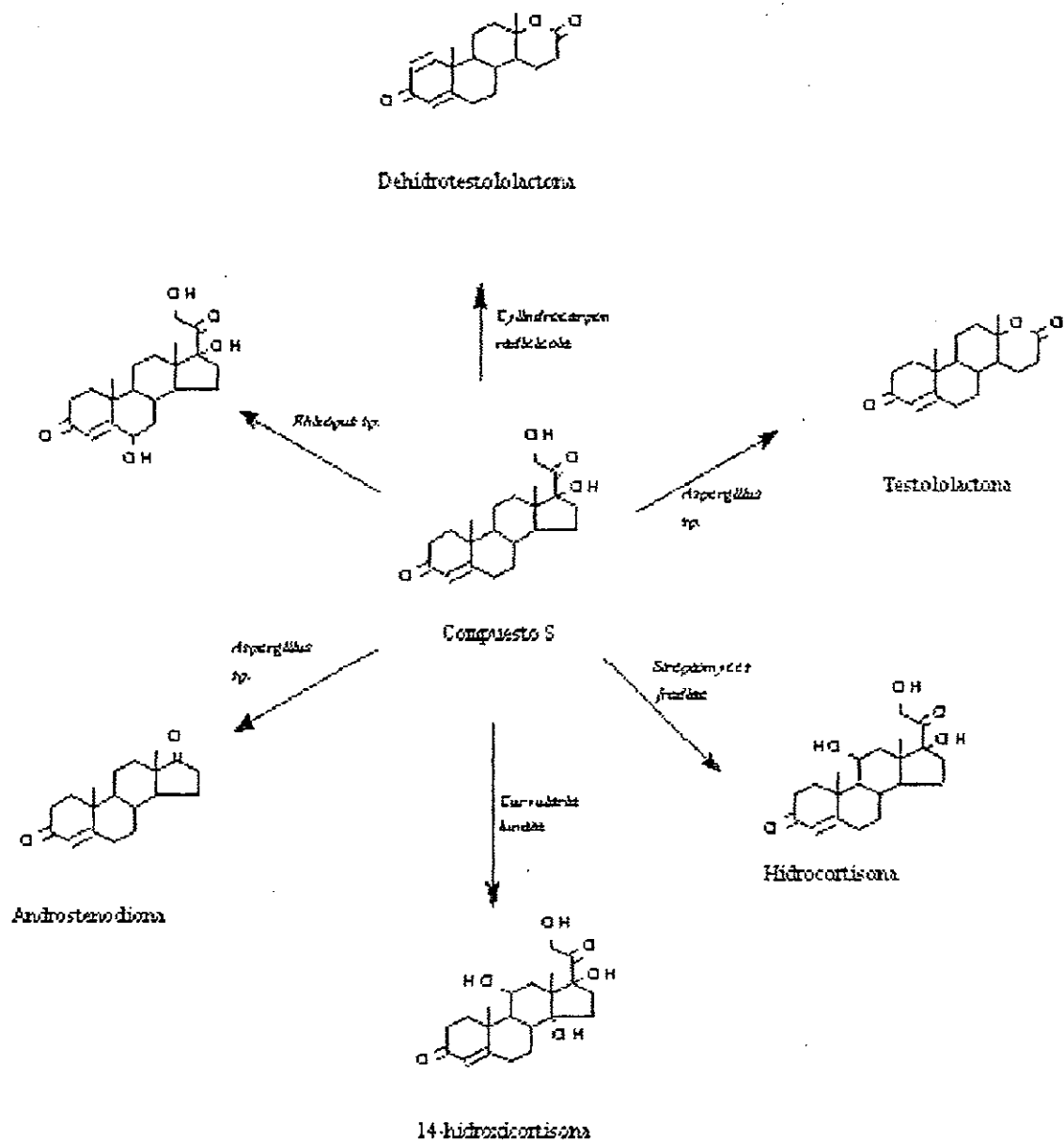


Fig. 6 Algunas conversiones microbianas del denominado compuesto "S" un intermediario clave en la producción de medicamentos esteroides.

ANEXO 3

Yucca:

Género de arbustos y árboles de hoja perenne y rígida, de la familia de las Liliáceas, formado por aproximadamente una treintena de especies nativas de América. Se conocen, en general, con el nombre de yuca. Su aspecto parecido al de las palmas y sus atractivas flores colgantes las hacen muy apreciadas, además de ser útiles. Las hojas lanceoladas nacen en rosetas de cuyo centro brota un largo escapo floral con un grupo de flores péndulas acampanadas. La polinización ocurre pocas veces y sólo por intervención de la mariposa de la yuca.

CLASIFICACION CIENTIFICA:

Las yucas forman el género *Yucca*, de las Liliáceas (Liliaceae). La bayoneta española es la especie *Yucca aloifolia*; la daga española, *Yucca gloriosa*; la aguja de Adán, *Yucca filamentosa*; la especie que crece en las llanuras, *Yucca glauca*; la yuca de los dátiles, *Yucca filifera*; la palma loca es *Yucca treculeana*; la palmita o izote es *Yucca elephantipes*. Se denomina palma samandoca a especies como *Yucca australis* y *Yucca carne rosana*. La mandioca es la especie *Manihot utilissima*.

Yucca elephantipes:

Conocida comúnmente como Flor de Izote, es originaria de Mesoamérica, se le localiza desde el sur de los Estados Unidos, México y Centro América. El nombre de Izote, deriva de la palabra Nahuatl que significa Jabón.

Standley y Steyermark reporta que en nuestro país el izote se distribuye en los departamentos de El Petén, Alta Verapaz, Jalapa, Escuintla, Huehuetenango, San Marcos y posiblemente en todos los otros departamentos. Esta especie también es localizada en Honduras, El Salvador, donde constituye un símbolo patrio, representando la Flor Nacional.

CLASIFICACIÓN BOTANICA DE LA FLOR DE IZOTE

- Reino.....Vegetal
- Sub-reino.....Embryobionta
- División.....Magnoliophyta
- Clase.....Liliópsida
- Sub-clase.....Liliadae
- Orden.....Liliales
- Familia.....Liliaceae
- Género.....Yucca
- Especie.....Yucca elephantipes
- Nombre Común.....Flor de izote.

YUCCA ELEPHANTIPES

(Flor de Izote)



YUCCA ELEPHANTIPES

(Flor de Izote)



TABLA 1

RESULTADOS TEST DE ESPUMA

n	h FLOR	h TALLO	h HOJAS
1	7.7	7.5	4.5
2	8.2	7.2	5.0
3	7.6	7.4	4.7
X	7.8	7.4	4.7
std.	5.1	5.1	5.1

h: Altura de espuma formada luego de transcurrir 30 minutos.

TABLA 2

RESULTADOS TEST DE HEMOLISIS

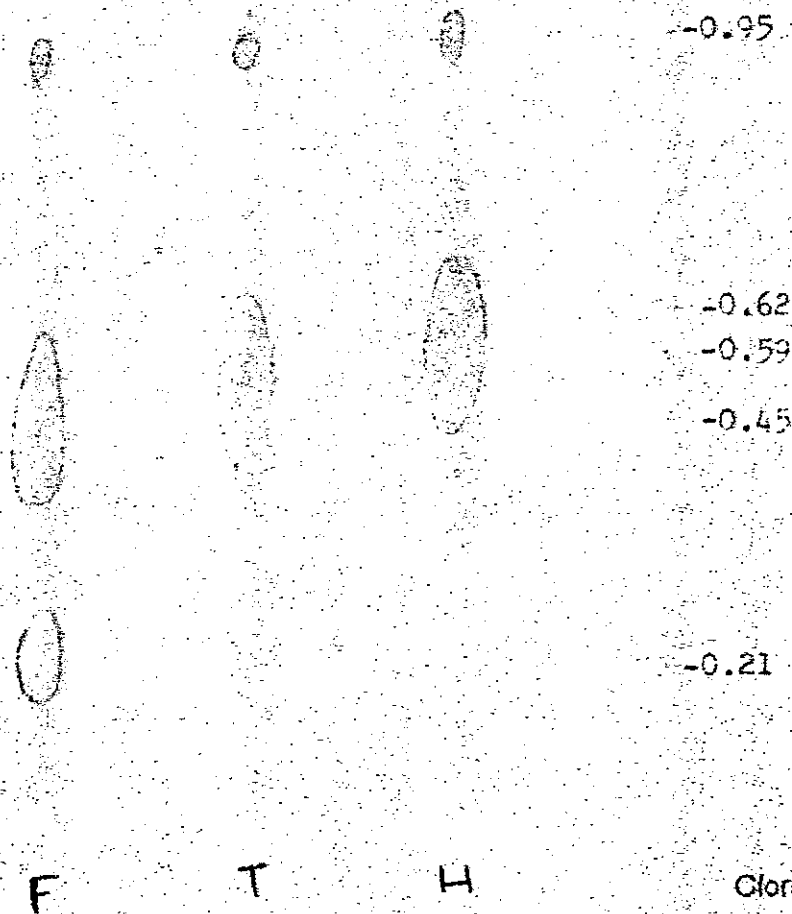
n	FLOR mm.	TALLO mm.	HOJAS Mm,
1	4.5	4.0	3.5
2	5.0	4.0	4.0
3	4.5	3.5	3.5
x	4.7	3.8	3.7
std.	4.4	4.3	4.4

mm.: formación del área hemolítica.

FIGURA No. 1

CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

Detección de saponinas esteroideas en flor, tallo y hojas de *Yucca elephantipes* (flor de izote)



Detección:
Cloruro de antimonio III
al 10% en cloroformo.
Observación:
Luz UV a 365 nm.

TABLA 3

Contenido de sapogeninas esteroidales

FLOR:

n	ug/ml	%
1	0.528	10.568
2	0.531	10.613
3	0.528	10.568
X	0.529	10.583

TALLO:

n	C	%
1	0.511	10.211
2	0.518	10.349
3	0.514	10.290
X	0.514	10.283

HOJA:

n	C	%
1	0.492	9.836
2	0.494	9.864
3	0.490	9.785
X	0.492	9.828

CALCULOS

n	FLOR	TALLO	FRUTO
1	10.568 %	10.211 %	9.836 %
2	10.613 %	10.349 %	9.864 %
3	10.568 %	10.290 %	9.785 %
N	3	3	3
X	31.749	30.850	29.485
X	10.583	10.283	9.828
X ²	336.001	317.250	289.792

N total: 9

(X total)²: 8,479.463

X² total: 943.043

DESVIACION ESTANDAR (s)

Flor

s: 6.481

Tallo

s: 6.297

Hoja

s: 6.019

ANALISIS DE VARIANZA

Suma Cuadrática total: 0.880

Suma cuadrática entre grupos:

SC ent: 0.870

Suma cuadrática dentro de grupos

SC dent: 0.014

Media cuadrática ente grupos

MC ent: 0.435

Media cuadrática dentro de grupos

MC dent. 2.33×10^{-3}

Factor F calculado:

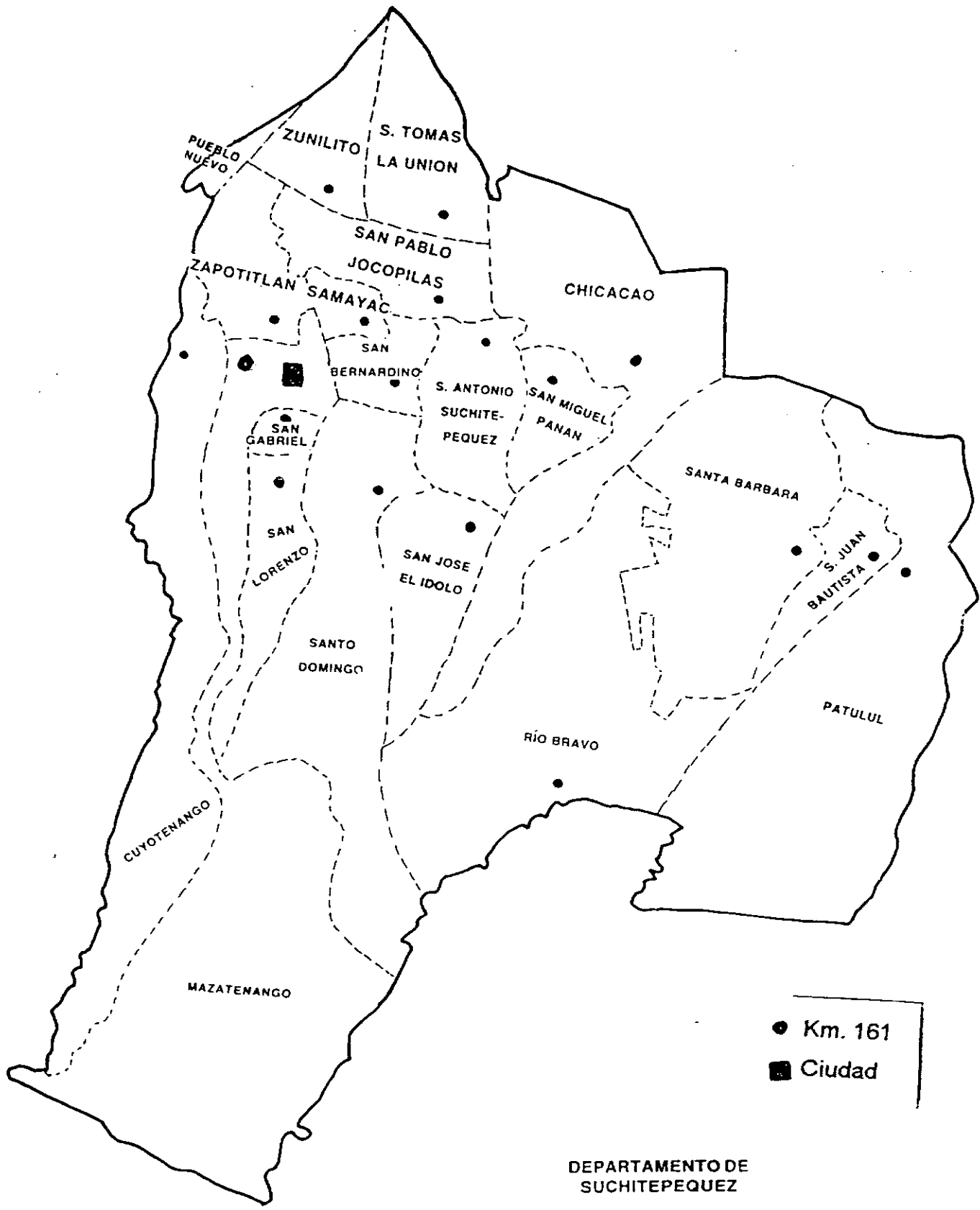
F: 186.46

Nivel de confianza 95%

Grados de libertad (2,6)

F. teórica o crítica: 5.14

F calculada es mayor a F teórica,
la concentración de sapogeninas es
diferente en tallo, fruto y hojas.



DEPARTAMENTO DE
SUCHITEPEQUEZ





HERBARIO BIGUA

Escuela de Biología
Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia

5 de mayo de 1,999.

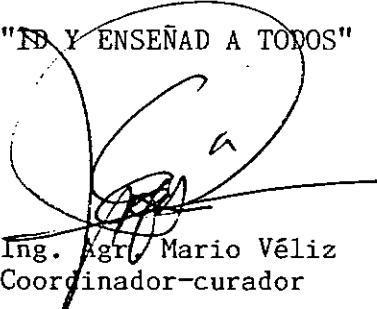
A QUIEN INTERESE:

Por este medio se hace constar que la señorita LILIAN MARIA LURSSSEN CORDOVA, estudiante de la Carrera de Química Farmaceutica, solicito la determinación taxonomica de especímenes de Izote (Yucca elephantipes Regel [AGAVACEAE]), depositando siete (7) especímenes de Izote para su incorporación a las colecciones de este herbario; dado el volumen de especímenes actualmente manejado, se encuentra pendiente de que se le asigne un número correlativo de inventario.

A solicitud de la interesada, se le extiende la presente en el mismo lugar y fecha arriba indicados.

Atentamente,

"ED Y ENSEÑAD A TODOS"



Ing. Agr. Mario Véliz
Coordinador-curador

MV.




Lilian María Lürssen Córdova

AUTORA



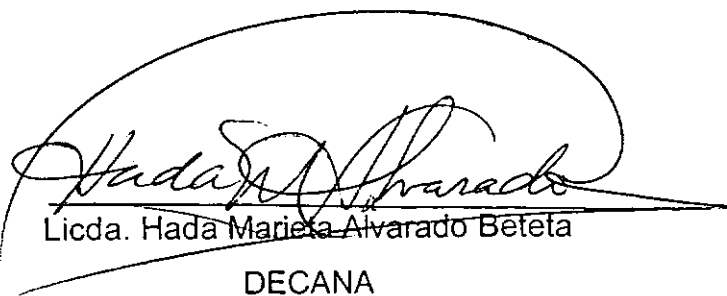
Licda. Beatriz E. Medinilla Aldana

ASESORA



Lic. Estuardo Serrano Vives

DIRECTOR



Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta

DECANA