

ALCALOIDES DEL SOLANUM MARGINATUM II. EXTRACCION DIRECTA DE SOLASODINA Y CONTENIDO DE LA MISMA EN TRES ESTADOS DE MADUREZ DE LOS FRUTOS

*Antonio Sanabria Galindo

*(Laboratorio de Fitoquímica del Departamento de Farmacia)

I. INTRODUCCION

En una comunicación anterior (1) se informó sobre la identificación de los alcaloides presentes en los frutos maduros del *S. marginatum*.

El contenido de alcaloides cambia con el estado de madurez de los frutos de plantas del género *Solanum*, por ejemplo Khanna y Murty (2) en un estudio del *S. khasianum* encontraron que los frutos maduros son más ricos en solasodina (1%) y entre los frutos verdes y pintones no observaron mayores diferencias en la cantidad de solasodina presente (cerca del 0.6%). Jácome y Proaño (3) en un análisis del contenido de solasodina en tres estados de madurez de los frutos del *S. marginatum* que crece en Ecuador encontraron que los frutos verdes contienen 2,18%, los frutos pintones 2,23% y los frutos maduros 2,24% de solasodina; estos resultados indican que no hay prácticamente cambios en la cantidad de solasodina con la madurez de los frutos de esta planta. Sin embargo, en este trabajo la solasodina presente en tres estados de madurez de los frutos del *S. marginatum* fue evaluada por el método de Birner (4) y se encontró que entre los frutos verdes (2,5%) y pintones (2,3%) el contenido de solasodina es similar, mientras que en estado maduro dicho contenido decrece bastante (1,4%), resultados que son importantes si se piensa en la explotación de esta planta como fuente de solasodina para la producción industrial de hormonas esteroidales.

Jácome y Proaño (5) hicieron un estudio muy extenso sobre la extracción de solasodina a partir del *S. marginatum*, empleando un método en el que primero se precipitan los glicoalcaloides, éstos son hidrolizados y después de varias purificaciones obtienen la solasodina; esta técnica es un poco

larga y desde el punto de vista económico no muy aconsejable. En el presente trabajo se le hicieron varias modificaciones al procedimiento que emplearon Panina y Col. (6) para la extracción directa de solasodina de las hojas de una especie de *Solanum* que crece en Rusia y se llegó a un método que permitió la obtención de solasodina, a partir de los frutos verdes y secos del *S. marginatum*, con un rendimiento del 2.1%.

II. MATERIALES Y METODOS

1. Contenido de solasodina en los frutos de *S. marginatum* en tres estados de madurez.

1.1. *Material vegetal utilizado.*

Fueron recolectados en la ciudad de Bogotá frutos de *Solanum marginatum* (*Solanaceae*) en los siguientes estados de madurez: verdes (frutos desarrollados de color verde), pintones (frutos desarrollados que comienzan a tomar coloración amarilla) y maduros (frutos completamente amarillos). Los frutos recolectados fueron cortados en tajadas y secados durante 4 días en una estufa con aire circulante a 50°C; una vez secos fueron molidos y para el estudio se empleó el material que pasó por un tamiz No. 30 (USP XVIII).

1.2. *Determinación cuantitativa de solasodina.*

Entre los distintos métodos empleados para la determinación cuantitativa de los alcaloides del género *Solanum* (7, 8, 9, 10 y 11), se escogió el de Birner (4) que se basa en la valoración espectrofotométrica del complejo coloreado que forma la solasodina y el anaranjado de metilo. Para la evaluación de solasodina en frutos secos en los tres estados de madurez, se siguió la técnica tal como fue publicada por Birner, pero en la construcción de la curva de calibración además de las concentraciones de 8, 16 y 24 mcg/ml de solasodina patrón fueron empleadas concentraciones de 4 y de 12 mcg/ml. Para cada estado de madurez la determinación se llevó a cabo por duplicado.

2. Extracción de Solasodina en los frutos verdes de *S. marginatum*.

2.1. *Método de Panina y Col. (6).*

Se siguió en todas las etapas el método de Panina y Col. (6) para la extracción de la solasodina presente en 100 g de frutos verdes y secos de *S. marginatum*, obteniéndose 1,4 g. de solasodina técnica con p.f. 200-204°C (sin corregir) que por cromatografía en capa delgada sobre sílica gel G desarrollada con cloroformo-metanol (90:10) y revelada con reactivo de Dragendorff modificado según Munier, dió una gran mancha con Rf. 0.55, semejante al de la solasodina, y una mancha pequeña con Rf. 0.72 debida al $\Delta^{3,5}$ solasodieno. El tratamiento de los 1,4 g de solasodina técnica con isopropanol al 50% en ebullición produjo 1,2g. de solasodina purificada con p.f. 202-204°C (sin

corregir) que por cromatografía en capa delgada en las condiciones anteriores dió una sola mancha con Rf 0.55 similar al de un patrón de solasodina.

2.2. Modificaciones al método de Panina y Col.

El método de Panina y Col. (6) fue repetido con otros 100 g de frutos verdes y secos, pero en lugar de emplear para la hidrólisis ácido clorhídrico al 5% se utilizó al 7%, con lo cual el rendimiento de solasodina purificada aumentó de 1.2% a 1.4%.

Después de algunos ensayos preliminares, el mejor rendimiento de solasodina en frutos verdes y secos se obtuvo siguiendo el método que se describe en la figura 1.

La solasodina técnica obtenida presentó un p.f. de 201-204° C (sin corregir) y por cromatografía en capa delgada sobre sílica gel G, desarrollada con cloroformo-metanol (90: 10) y revelada con reactivo de Dragendorff modificado según Munier, dio una gran mancha con Rf 0.55 similar al de un patrón de solasodina y una mancha menor con Rf 0.72 ($\Delta^{3,5}$ - solasodieno).

Los 11,8 g. de solasodina técnica fueron purificadas suspendiéndolos en 83 ml de isopropanol al 50% (7 partes de isopropanol al 50% por 1 de solasodina) y la mezcla se hizo ebullición al reflujo por 30 minutos, luego se enfrió por una hora en un baño de hielo y se filtró al vacío. El residuo fue lavado con 3 porciones de 12 ml de isopropanol al 20% y secado a 70° C durante 12 horas, obteniéndose 10,5 g de un polvo blanco grisáceo con p.f. 201-202° C y que dio una sola mancha con Rf 0.55 por cromatografía en capa delgada en el sistema citado anteriormente.

III. RESULTADOS Y DISCUSION DE LOS MISMOS

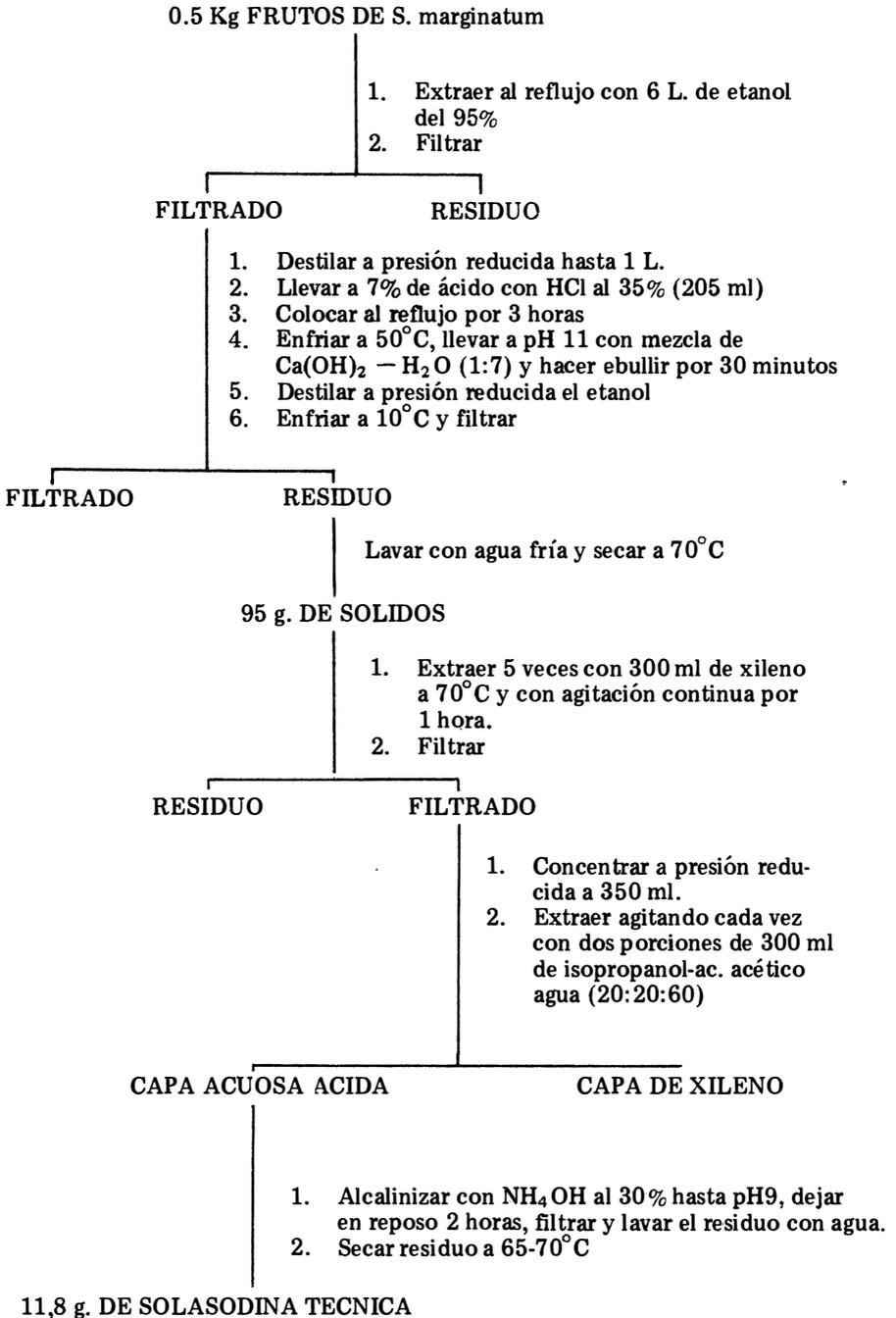
1. Contenido de solasodina en los frutos de *S. marginatum* en tres estados de madurez.

Siguiendo la técnica de Birner (4), se determinó por duplicado el contenido de solasodina en los frutos secos de *S. marginatum* en tres estados de madurez, obteniéndose los siguientes resultados promedios.

Frutos verdes	2,5 %
Frutos pintones	2,3 %
Frutos maduros	1,4 %

Estos resultados indican que para la obtención de solasodina se pueden escoger frutos comprendidos entre el estado verde y pintón y que en los frutos maduros el contenido de solasodina decrece grandemente, resultados que no están de acuerdo con los encontrados por Jácome y Proaño (3) que no hallaron prácticamente cambios en el contenido de solasodina en los tres estados de madurez de los frutos.

Figura 1. Método para la extracción de solasodina de frutos verdes y secos de *S. marginatum*.



2. Extracción de solasodina de los frutos verdes de *S. marginatum*.

Procediendo de acuerdo al método de Panina y Col. (6), a partir de 100 g de frutos verdes y secos se obtuvieron 1,4 g de solasodina técnica con p.f. 200-204° C (sin corregir) que por cromatografía en capa delgada mostró estar constituida por un compuesto en mayor proporción con Rf 0.55 (solasodina) y otro en proporción menor con Rf 0.72 ($\Delta^{3,5}$ -solasodieno). La purificación de la solasodina técnica produjo 1,2 g de un polvo grisáceo con p.f. 202-204° C (sin corregir) que dió por cromatografía en capa delgada una sola mancha con Rf 0.55, igual al de un patrón de solasodina. Este bajo rendimiento de solasodina (1,2%) puede deberse a que en los frutos está presente una buena cantidad de polisacáridos (pectina principalmente) que emplean para su hidrólisis gran parte del ácido clorhídrico y por tanto la cantidad de ácido utilizado es insuficiente para la hidrólisis de los glicoalcaloides; este hecho fue puesto en evidencia al obtener mejor rendimiento (1,4%) cuando la concentración de ácido clorhídrico para la hidrólisis se aumentó del 5% al 7%.

De acuerdo a estudios llevados a cabo por Cionga y Col. (12), si la hidrólisis de los glicoalcaloides se hace por reflujo con ácido clorhídrico al 5% en metanol y durante 3 horas, la cantidad de $\Delta^{3,5}$ -solasodieno formado como producto de deshidratación de la solasodina es mínima. Para evitar utilizar concentraciones mayores del 7% de ácido clorhídrico, que implicarían un aumento en la formación de $\Delta^{3,5}$ -solasodieno, se modificó el método de Panina en el sentido de hacer una extracción de los glicoalcaloides por reflujo con etanol, concentrar el extracto e hidrolizar con ácido clorhídrico al 7%, con lo cual se elimina la presencia de la mayor parte de los polisacáridos. El alcohol isopropílico al 80% tiene una polaridad similar a la del etanol al 95%, pero se sustituyó el primero por el segundo porque al concentrar el extracto de los glicoalcaloides (6 veces) se obtendría una concentración alta de agua en el caso de emplear para la extracción isopropanol al 80% y es bien sabido que la concentración de $\Delta^{3,5}$ -solasodieno como subproducto de la hidrólisis, aumenta con la cantidad de agua presente en el medio de hidrólisis. También se encontró que el carbón activado, recomendado en el procedimiento de Panina, retiene parte de la solasodina y por tanto fue omitida su utilización.

Las consideraciones anteriores llevaron a seguir el método descrito en la figura 1, por medio del cual a partir de 500 g. de frutos verdes y secos se obtuvieron 11,8g. de solasodina técnica (rendimiento 2,4%) con punto de fusión 201-204° C, que por cromatografía en capa delgada dio una gran mancha con Rf 0.55, igual al de un patrón de solasodina y una mancha menor con Rf 0,72 ($\Delta^{3,5}$ -solasodieno); la purificación de los 11,8 g de solasodina técnica por reflujo en isopropanol al 50% produjeron 10,5 g de solasodina con p.f. 201-202° C y que dio una sola mancha por cromatografía en capa delgada. El rendimiento de la solasodina purificada fue del 2,1% en base a los frutos de *S. marginatum* verdes y secos. La purificación de la solasodina técnica por el método de Panina (reflujo con isopropanol al 50%) permitió la eliminación del $\Delta^{3,5}$ solasodieno y se obtuvo la solasodina purificada con un rendimiento del 89%, con respecto a la solasodina técnica.

IV. CONCLUSIONES

1. Por el método de Birner(4) se encontró que el contenido de solasodina en los frutos verdes es de 2,5%, en los frutos pintones de 2,3% y en los frutos maduros de 1,4%, en base a los frutos secos y pulverizados del *S. marginatum*.
2. Se puso en evidencia que la técnica de Panina y Col. (6), desarrollada para la extracción de solasodina en hojas de plantas del género *Solanum*, no dio buenos resultados en la extracción de solasodina en los frutos del *S. marginatum*.
3. Por modificaciones a la técnica de Panina y Col. (6) se logró un rendimiento del 2,1% en la extracción de solasodina a partir de los frutos verdes y secos del *S. marginatum*. El rendimiento obtenido es suficientemente alto para considerar los frutos de esta planta útiles en la obtención industrial de solasodina para su posterior empleo como precursor en la síntesis de hormonas esteroidales.

V. RESUMEN

Se determinó el contenido de solasodina en frutos secos de *Solanum marginatum* en tres estados de madurez, por el métodos de Birner (valoración espectrofotométrica del complejo que forma la solasodina con el anaranjado de metilo). Se encontró que los frutos verdes tienen 2,5%, los frutos pintones 2,3% y los frutos maduros 1,4% de solasodina.

Por modificaciones al método de Panina y Col., se logró extraer solasodina cromatográficamente pura a partir de los frutos de *S. marginatum* con un rendimiento del 2,1%.

VI. SUMMARY

The amount of Solasodine in fruits of *Solanum marginatum* in 3 stages of maturity, was determined by the Birner's method (spectrophotometrical determination of the complex solasodine-methyl orange). The green fruits contained 2,5% Solasodine, the pale yellow fruits contained 2,3% Solasodine and the deep yellow fruits contained 1,4% Solasodine.

The method described by Panina et al was modified and this method was used to obtain Solasodine (chamatography grade) from the green fruits of *Solanum marginatum* with 2,1% yield.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. Sanabria, A. - Alcaloides del *Solanum marginatum* I. Estudio químico. Rev. Col. Cien. Quim. Farm. 3(3), (1977) en prensa.
2. Khanna, K.R. y Murty, A.S. Effect of fruit stage and maturity on the gluco-alcaloid content in *Solanum khasianum*. Chem. Abst. 84, 140790_s (1976).
3. Jácome, W., y Proaño, O. Obtención de solasodina a partir del fruto de *Solanum marginatum*. Politécnica 2 (1), 184 (1970).
4. Birner, J. Determination of total steroid bases in *Solanum* species. J. Pharm. Sci. 58, 259-60 (1969).
5. Jácome, W. y Proaño, O. Obtención de solasodina a partir del fruto de *Solanum marginatum*. Politécnica 2 (1), 155-248 (1970).
6. Panina, V.V. y Col. Preparation of solasodine by the direct hydrolysis of the glycoalkaloids of the lobed nightshade. Pharm. Chem. J. 6 (10), 659-60 (1972).
7. Borkowski, B. y Col. Content of glycoalkaloids within cultivated species of the genus *Solanum*. Chem. Abstr. 55, 26149 (1961).
8. Ruzhentzeva, A. K. y Tubina, I.S. Determination of solasodine in *Solanum aviculare* and the pure solasodine preparation. Chem. Abstr. 54, 1806h (1960).
9. Balcar, E. y Zalecka, M. Determination of the solasodine content in the leaves of *Solanum aviculare* and *Solanum laciniatum*. Chem. Abstr. 59, 2593e (1963).
10. Bite, P. y Col. *Solanum* glycosides V. Determination of solasodine content. Chem. Abstr. 73, 857_s (1970).
11. Khafagy, S.M.; Amin, S. W. y Hassanin, R. A micromethod for the determination of solasodine in *Solanum* species. Planta Medica 21, 139-141 (1972).
12. Gonga, E. y Col. Considérations sur l'hydrolyse des glucoalcaloides du *Solanum laciniatum*, Ait. Ann. Pharm. Franc. 25, 139-146 (1967).