

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA**

**CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LAS SAPONINAS  
DEL ITABO ( YUCCA ELEPHANTIPES)**

Por

**JOSE HUGO HERNANDEZ VILLALOBOS**

**Tesis presentada para optar  
al título de Licenciado  
en Farmacia de la  
Universidad de  
Costa Rica.**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**1959.**

## **DEDICATORIA**

Dedico la presente tesis a mis padres, quienes sin escatimar sacrificios, han hecho posible mi profesionalización en un campo que desde muy pequeño atrajo mi atención.

**José Hugo Hernández V.**

Heredia, Mayo de 1959. -

## C O N T E N I D O

<b>Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>Capítulo I</b> .....	<b>3</b>
<b>Generalidades sobre saponinas</b> .....	<b>3</b>
<b>Historia, definición y presentación</b> .....	<b>3</b>
<b>Constitución química de las saponinas</b> .....	<b>5</b>
<b>Biogénesis y Fisiología de las Saponinas</b> .....	<b>7</b>
<b>Características físicas y usos</b> .....	<b>7</b>
<b>Capítulo II</b> .....	<b>9</b>
<b>Descripción Botánica</b> .....	<b>9</b>
<b>Capítulo III</b> .....	<b>10</b>
<b>Métodos de Investigación</b> .....	<b>10</b>
<b>Métodos generales de identificación</b> .....	<b>11</b>
<b>Reacciones</b> .....	<b>11</b>
<b>Capítulo IV</b> .....	<b>16</b>
<b>Material empleado y métodos de extracción usados en el laboratorio</b> .....	<b>16</b>
<b>Capítulo V</b> .....	<b>24</b>
<b>Discusión</b> .....	<b>24</b>
<b>Capítulo VI</b> .....	<b>28</b>
<b>Conclusiones</b> .....	<b>28</b>
<b>Bibliografía</b> .....	<b>30</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>34</b>

## INTRODUCCION

Para obtener productos estrógenos naturales en el laboratorio se necesitaban minuciosos, lentos y costosos procedimientos, a la vez que enormes volúmenes de orina de animales en estado de preñez, lo que trajo como consecuencia el uso limitado de ellos en terapéutica; de allí el impulso tan grande que ha venido desarrollándose en la síntesis de hormonas, principalmente a partir de las saponinas biogénicamente formadas en los vegetales(8)

El presente trabajo está dirigido en el sentido de comprobar la existencia de saponinas en una especie determinada de nuestra flora: *Yucca elephantipes*, ya que el uso de las flores de esta planta como alimento está muy difundido en nuestro país, y es creencia popular que no debe comerse en tiempo lluvioso ya que puede resultar irritante e incluso venenosa. Asimismo es muy extenso su uso en la medicina popular, en forma de "infusión de flores de Itabo", como diurética, en el tratamiento de la albuminuria, como tónica, etc. También es frecuente entre nuestros campesinos su uso como planta forrajera.

Los métodos y sistemas descritos en esta tesis, con los que he visto efectuar a mis profesores durante las lecciones prácticas en la Facultad de Farmacia. En lo referente a Saponinas y a la *Yucca elephantipes* he consultado publicaciones, revistas y notas según la bibliografía que inserto al final de este trabajo.

Quedo altamente reconocido a los Profesores Licenciados Reinaldo Monge V. y José Alberto Sáenz R, por su valiosa desinteresada cooperación.

Mi mayor agradecimiento a todos los profesores de la Facultad de Farmacia, los que de manera directa o indirecta me han ayudado en la preparación de esta tesis.

## CAPITULO I

### GENERALIDADES SOBRE SAPONINAS

#### HISTORIA, DEFINICION Y PRESENTACION:

La designación Saponinas se encuentra por primera vez en 1819 en el "Manual de Química Teórica (Kofler 1927)" (15).

Se ha comprobado que las saponinas fueron empleadas desde hace siglos para fines prácticos, como medio para lavado, veneno para peces, etc.

Con apoyo en la denominación latina de "Principium saponaceum", se denominó en un principio como saponinas a aquellas sustancias, cuyas soluciones acuosas mostraban la propiedad de formar fácilmente espuma (15).

Con mucha razón han apuntado Tschesche y Heesch (1952) que una concepción más precisa de la denominación Saponinas es deseable (15).

El término Saponina es algunas veces usado como si fuera una sustancia definida, pero correctamente aplicado comprende un grupo de principios glicosídicos libre de nitrógeno, presentes en los vegetales, que dan al disolverse en agua una espuma jabonosa durable, que emulsiona el aceite en agua; y que poseen en común acción hemolítica, toxicidad para los peces y forman suspensiones y emulsiones y finalmente precipitados muy finos. Forman además emulsiones con aceites fijos y sustancias resinosas y previenen la deposición de precipitados finamente divididos.

De acuerdo con Moller (1953) la acción hemolítica no se lleva a cabo

por vía oral, ya que no son absorbidas por el canal de la digestión (15).

En el tracto digestivo tienen efecto cáustico local y dosis altas provocan vómitos. La acción batótona de las saponinas produce una variación de la permeabilidad de las membranas animales.

Las dificultades que se presentan en el aislamiento de las saponinas puras han tenido por consecuencia que numerosas drogas se hayan preparado de la fracción libre de azúcar, esto es, de la sapogenina.

En los últimos años se encontró (Marker y otros, 1957) que varias sapogeninas pueden ser transformadas fácilmente en cantidades apreciables en hormonas sexuales y otros esteroides importantes, que sirven ahora para una síntesis parcial de la cortisona. Estos descubrimientos han producido una intensificación en la investigación de las saponinas que por un lado se han dirigido al campo de la Medicina, lo que ha hecho que muchas plantas se hayan investigado en busca de saponinas; actualmente se conocen más de 80 familias de plantas que contienen saponinas. Por otro lado se mueven las investigaciones en el campo de la química, mejorándose los métodos de estimación y comprobación para el aislamiento y caracterización de las saponinas, e investigándose la estructura de las sapogeninas y las gluconas con todo detalle.

Actualmente se han investigado alrededor de 400 especies vegetales, de origen principalmente mexicano, ya que es en este país en donde se han encontrado las variedades más conocidas de esta clase.

Luft (1926) designó como asidero a asiento más frecuente de saponinas

el tejido básico o parénquima, aunque también en muchas plantas se encuentran las saponinas en tejidos de las hojas, frutos, semillas, cortezas y raíces. (15).

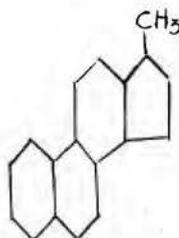
Llama la atención el hecho de que las saponinas se preparan en gran escala especialmente de la familia de las Liliáceas (por ejemplo: el género *Yucca*), de las Amarilidáceas (ejemplo: el género *Agave*) y de las Dioscoridáceas (ejemplo: el género *Dioscorea*).

#### CONSTITUCION QUIMICA DE LAS SAPONINAS:

Desde el punto de vista químico, las saponinas no pertenecen a un solo grupo, puesto que ellas abarcan sustancias de la serie de los esteroides y del triterpeno. Químicamente son glicósidos, que por hidrólisis se desdoblan en azúcares, especialmente glucosa, galactosa y xilosa; y en una aglicona o sapogenina, cuyo carácter sirve para clasificarlas.

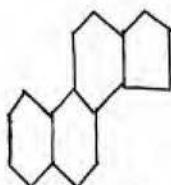
Las saponinas se clasifican en dos grupos, a saber:

1) Aquellas cuyas sapogeninas destiladas con selenio producen el hidrocarburo de Diels, es decir, que derivan del colano y se llaman saponinas esteroides. Se les dice también neutras porque presentan ese carácter. Las mejor estudiadas son aquellas que acompañan a los glicósidos activos de la digital.



Hidrocarburo de Diels (17 metil ciclo pentano fenantreno)

La constitución de estas geninas ha sido establecida gracias a los trabajos de Windaus, Jacobs y Tschesche, los cuales les asignaron fórmulas, haciendo notar que además del grupo colánico tienen un anillo piránico.



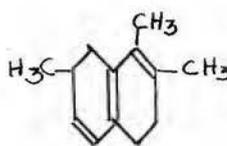
Ciclopentanoperhidrofenantreno



Grupo pirano

Recientemente, Marker, por degradación de la Tigogenina y de la Sarsapogenina, ha logrado convertirlas en Testosterona, y este descubrimiento ha facilitado la semisíntesis industrial de varias hormonas sexuales a partir de diversas saponinas colánicas que abundan en la Naturaleza.

2) Este grupo comprende las llamadas Saponinas Triterpenoides, y son aquellas que sometidas a un tratamiento igual al del anterior grupo dan el Sopotaleno, o sea, el 1,2,7 trimetil naftaleno



Sopotaleno

Estas saponinas forman un grupo mucho mayor, más complejo y menos conocido que el de las esteroides y como muchas de ellas contienen un carboxilo en su molécula, se dicen saponinas ácidas.

Se caracterizan porque sometidas a hidrólisis ácidas se desdoblan en

azúcares y sapogeninas que tienen 30 átomos de carbono. De allí que se les llame Saponinas Triterpenoides.

Estos glicósidos, cuyo aislamiento se verifica gracias a un laborioso procedimiento con mezclas de alcohol y agua, a diversas concentraciones, han podido caracterizarse completamente en cuanto a sus componentes, según se indica en tablas especiales, una de las cuales puede consultarse en la obra "Moderne Methoden der Pflanzenanalyse" (pag 177 volumen III).

#### BIOGENESIS Y FISILOGIA DE LAS SAPONINAS:

Sobre su formación y papel en el cuerpo de la planta se conoce muy poco. Basándose en experiencias llevadas a cabo por Sonderhoff y Thomas, Bloch y Rittenberg en levaduras, ratas y ratones usando isótopos del hidrógeno y del carbono ha podido K. Bloch, paso a paso, analizar en los últimos años el papel de varios compuestos químicos en la formación de las saponinas en el organismo animal. (15).

Las curvas anuales del contenido en las plantas fueron contradictorias por lo que hubo de pensarse en relaciones biogénicas entre las saponinas y los aceites etéreos. Sobre la coexistencia de algunas saponinas y las sustancias colorantes de las flores y frutas ha llamado la atención Zimmermann en 1944, 1945 y 1946. Hay excepciones para esta regla que de todos modos sirve de confirmación para gran número de casos, y que de ninguna manera permite conclusiones para la biogénesis de las saponinas. (15).

#### CARACTERISTICAS FISICAS Y USOS:

La mayor parte de las saponinas son amorfas, pero unas pocas pueden ser

obtenidas en forma cristalina.

En general las saponinas son solubles en agua y alcohol, pero escasamente solubles en éter, benceno y cloroformo.

Las saponinas usualmente tienen sabor acre y amargo, irritan la conjuntiva y las mucosas nasales provocando el estornudo.

La aplicación terapéutica de las saponinas como tal, es al presente, incierta. Se ha establecido aparentemente que la administración simultánea de por lo menos ciertas saponinas con una droga aumentan el poder de absorción por el intestino; y el uso en ancianos de algunas saponinas en infecciones crónicas sugieren por lo menos una posibilidad de algunos efectos terapéuticos(16)

En general las saponinas son muy tóxicas administradas por vía intravenosa, porque producen hemólisis y ejercen un poderoso efecto sobre el sistema nervioso central, aunque este poder varía considerablemente en su acción fisiológica; las más poderosas son las llamadas Sapotoxinas.

Hay saponinas coloidales y no dializables. (14)

Algunas saponinas se usan como agentes emulsificantes y fraudulentamente para producir espuma en refrescos y en cervezas. También se usan para lavar seda, en extinguidores de incendio, soluciones de champú y en general en diversas aplicaciones en las artes y en las industrias, merced a diversas propiedades, una de las cuales, según se anotó anteriormente es producir espuma: basta disolverlas al 1:1000 para obtener bastante espuma, de allí su nombre (del latín: Sapo; jabón).

## CAPITULO II

### DESCRIPCION BOTANICA

Crece en Costa Rica una planta mexicana de la familia de las Liliáceas que el vulgo llama Itabo o Hitabo, y que posiblemente fue traída antes de la conquista. ( 6).

El Itabo es una planta cultivada y bien conocida en todo el país. En realidad su importancia como planta alimenticia y para setos vivos es relativamente grande pues se usa con bastante frecuencia.

En Belice la llaman May-Pole y en México Izote (del mexicano: Iczotel)(6).

El Itabo (*Yucca elephantipes*, Regel), es una planta americana de las Liliáceas, de 3 a 8 metros de altura, aunque no es raro encontrarla de 10 metros. Tiene aspecto de palma, con tallo sencillo e hinchado en forma de pata de elefante, de donde le viene el nombre botánico a esta especie; a veces se presenta ramificado en forma de abanico con penacho de hojas. Estas son fuertes, largas, rígidas, punzantes y asperas en los bordes, paralelinervias, coriáceas y a veces de 1 metro de largo.

Las flores se presentan en panículos; y tienen seis piezas perigonales, seis estambres y tres carpelos soldados.

Su raíz es un rizoma.

### CAPITULO III

#### METODOS DE INVESTIGACION

En la obtención pura de saponinas han caído en desuso los métodos más viejos de precipitación con bario y plomo, prefiriéndose actualmente el empleo de las diferencias de solubilidad. (15).

El reconocimiento, del azúcar mediante el ataque por hidrólisis de las saponinas cae fuera del campo de este trabajo.

Las dificultades que aparecen en el aislamiento de las saponinas puras, así como la relación entre el desarrollo de los órganos y la formación de las mismas, las variaciones que sufren de acuerdo con los métodos de preparación y extracción, hacen que este trabajo quede sujeto a ampliaciones y posteriores revisiones.

La obtención de estos principios en forma pura y la caracterización de ellos es difícil y requiere mucho tiempo y métodos muy complejos, debiendo tenerse principal cuidado en la extracción y purificación, controlándolas con ayuda de reacciones analíticas de identificación. Por eso numerosas saponinas no se han logrado aislar hasta la fecha.

En el presente trabajo sólo se llegó a obtener saponinas crudas por extracción (Decocción) del material vegetal mediante alcohol, evaporando luego la solución a sequedad por medio de destilación al vacío y purificación con acetona, éter de petróleo, éter sulfúrico y alcohol de 95°.

Cuando la saponina es soluble en alcohol frío no es aplicable este método.

Las saponinas en este estado están todavía muy impuras y amorfas y a causa de la condición lubricante de este preparado, es difícil su filtración, por lo cual para su separación, se empleó de preferencia el método de decantación, previa concentración en la centrifuga, disolviendo nuevamente el residuo en alcohol de 60° y produciendo luego una precipitación fraccionada con alcohol de 95°. Vuelto a decantar el solvente se obtuvo un precipitado blanco amorfo de la solución de alcohol diluido.

A pesar de este lento y laborioso proceso las saponinas quedan conteniendo sustancias orgánicas y grandes cantidades de sustancias inorgánicas.

#### METODOS GENERALES DE IDENTIFICACION:

Durante las diferentes extracciones, concentraciones, disoluciones, etc. se efectuaron varias reacciones de identificación; algunas de las cuales se aprovecharon al final para la clasificación de las mismas.

Muchas de las reacciones son positivas para esteroides y triterpenoides en determinadas condiciones.

Entre estas reacciones podemos citar:

1) REACCION DE SALKOWSKI: A algunos miligramos de la sustancia como tal o en solución, de preferencia cloroformica, agregar solución concentrada de ácido sulfúrico (Peso específico 1,76). Se forma una coloración amarilla, que se transforma lentamente en rojo profundo (15).

2) REACCION DE LIEBERMANN-BURCHARD: Algunos miligramos de la sustancia se disuelven en caliente en 1 ml de anhídrido acético, luego se agrega una gota de ácido sulfúrico concentrado. Se forma una coloración verde, ya sea inmediatamente o después de tonos rojos y azules. (15).

3) REACCION DE ROSENTHALER (1902): Con 1% de vainillina en HCl. (15).

4) REACCION DE TSCHUGAJEW (1900): A la solución de la sustancia en cloroformo se agrega un exceso de cloruro de acetilo, luego un pedacito de cloruro de zinc y se hierve. Se forma una coloración roja de eosina con fluorescencia verde-amarilla. (15).

5) REACCION DE NOLLER, SMITH Y OTROS (1942): A más o menos 0,02 gramos de la sustancia se agregan 0,5 ml de un reactivo, que consta de cloruro de tionilo de lo más puro, más 0,01% de solución de cloruro de estaño purísimo. Usar tubo de ensayo pequeño y cerrado. En el curso de varias horas se forma una escala de tonalidades de colores entre los cuales siempre está contenido el rojo (15)

Esta reacción cuya significación no se conoce todavía, parece ser específica para los triterpenos. Los oxiaácidos deben poseer por lo menos un grupo libre  $\text{OH}^-$ , para dar una coloración fuertemente positiva. Las sustancias isómeras dan a menudo muy diversas tonalidades de colores. El cloruro de estaño puede reemplazarse por 0,01% de HCl sin hidrógeno, 0,01% de  $\text{SbCl}_3$ , 0,01% de  $\text{POCl}_3$  más 0,5 de agua (15).

6) REACCION DE HIRSCHSOHN: Un poco de la sustancia caliéntese con ácido tricloroacético. Se obtiene una coloración de amarilla hasta roja (15).

- 7) METODO DE KOFER, FISCHER Y NERVESLY (1929): Para apreciar can-  
tidades muy pequeñas de saponinas en solución diluida, en asocio con otras sus-  
tancias acompañantes, se agrega una cantidad limitada de colesteroína en solu-  
ción. La reacción falla en aquellas saponinas que no forman colestéridos(15).
- 8) REACCION DEL BICLORURO DE MERCURIO: El  $HgCl_2$  en presencia de sa-  
poninas se reduce a calomel, apareciendo un precipitado blanco que cambia a  
gris (12).
- 9) REACCION DE FEHLING: La solución de Fehling es precipitada en frío o  
en caliente por las saponinas, transformando el anión complejo de cobre a óxi-  
do cuproso, que aparece como un precipitado cuya coloración va del amarillo  
al rojo ( 13 y 11).
- 10) REACCION DEL FERRICIANURO DE POTASIO: Las saponinas precipitan  
azul de prusia en presencia de este reactivo y unas gotas de cloruro férrico(12)
- 11) REACCION DE NESSLER: En solución acuosa fría el reactivo de Nessler,  
en presencia de saponinas da un color amarillo, luego rojo que pasa a pardo y  
finalmente a gris. Si la solución se calienta la aparición del gris es inmedia-  
ta. (12).
- 12) REACCION DE FRÖHDE: En frío o en caliente las soluciones que contienen  
saponinas dan un color verde, que pasa a azul celeste y por último a azul con  
el reactivo de Fröhde (1).
- 13) REACCION DEL PERMANGANATO DE POTASIO: La solución acuosa de  
saponinas en presencia de una solución de permanganato de potasio, da un pre-  
cipitado pardo (13).

- 14) REACCION CON EL AGUA: Las saponinas forman abundante y persistente espuma al ser agitadas con agua.
- 15) PRUEBA DEL MERCURIO: Al agitar el mercurio metálico con una solución alcohólica de saponinas, se separa en partículas muy tenues, que quedan en suspenso durante mucho tiempo. (16).
- 16) PRUEBA DEL ACEITE O RESINA: Se aprovecha la propiedad de formar emulsiones estables con sustancias insolubles en agua y solubles en alcohol.
- 17) PRUEBA DEL CALOR: Si se evapora a sequedad una solución acuosa de saponinas, deja un residuo de barniz brillante, si se somete a la ignición da olor a caramelo (16).
- 18) REACCION DE LA DIGITONINA: A la muestra que posiblemente contiene saponinas se agrega solución de digitonina en alcohol de 96°. Se forma un precipitado blanco ( 8 y 18).
- 19) TOXICIDAD PARA LOS PECES Y RENACUAJOS: Los peces dorados y otros pequeños peces de acuario se ponen en una solución acuosa del material bajo prueba. La intoxicación con saponinas se pone de manifiesto en una fase de excitación creciente, en la manera de nadar el pez de lado o espaldas abajo, finalmente en la paralización y muerte. La toxicidad de las saponinas para los peces y otros animales acuáticos, por ejemplo, para los renacuajos, se relaciona con el daño al aparato respiratorio (15)
- 20) ACCION HEMOLITICA: Algunas saponinas tienen la particularidad de causar lisis de los glóbulos rojos. La acción hemolítica, de las saponinas descubierta por Kobert (1887), puede aplicarse como identificación cualitativa, tam-

bién histoquímica. Kofler y otros autores emplean sangre desfibrinada, y nue  
vos investigadores, en su mayoría, sangre citratada, aunque ambos coinciden  
en que la sangre debe ser fresca (15)

## CAPITULO IV

### MATERIAL EMPLEADO Y METODOS DE EXTRACCION

#### USADOS EN EL LABORATORIO

En el presente trabajo se analizaron las flores, las hojas, las cortezas y raíces del Itabo. Los frutos no se conocen porque en nuestro país no se encuentra la *Pronuba yuccasella*, su polinizador específico (Polilla del género *Pronuba*) (6).

En la extracción de las saponinas se practicó el método de cambio de disolvente, no usándose la precipitación con bario o plomo, y en general con los metales pesados, por estar estos métodos, como se anotó antes, fuera de uso; prefiriéndose la purificación y precipitación de las saponinas por el uso de solventes orgánicos en los cuales las saponinas son insolubles, pero si lo son algunas de las sustancias que las acompañan.

El método clásico a seguir fue el siguiente:

- 1) La muestra fue reducida a pedazos muy finos por medio de un cortaplumas.
- 2) Se maceró la muestra durante 10 minutos con etanol frío de 95° y se agregó suficiente agua para dar una concentración final de alrededor de 60% de etanol.
- 3) La solución se calentó al reflujo hasta la ebullición durante 10 minutos, luego se filtró. Esta operación se repitió, agregando menstruo, las veces que fue necesario hasta comprobarse la no existencia de saponinas en el filtrado. Ocurre

una precipitación coloreada y de naturaleza de gel al enfriarse la solución.

Este precipitado fue separado por decantación.

4) El líquido decantado y enfriado se concentró en la centrifuga y se filtró.

El residuo se reunió con el gel anterior. La solución restante se evaporó hasta sequedad mediante la destilación al vacío. En el mismo frasco se desecó, con igual procedimiento, la mezcla de los precipitados gelosos.

5) El residuo desecado, obtenido en el paso anterior, fue tratado con acetona caliente, usándose destilación al reflujo. La solución obtenida se filtró en caliente y se desechó el líquido filtrado, conservándose el residuo insoluble en acetona, ya que se comprobó que las saponinas no son solubles en acetona, pero sí otras sustancias acompañantes de las mismas, posiblemente resinas, esencias, taninos, etc. Este paso se repitió las veces que fue necesario.

6) El residuo insoluble se trató en el mismo aparato y siguiendo el mismo procedimiento, con éter de petróleo, eliminándose así, posiblemente, la mayor cantidad de esencias, resinas, ceras, clorofilas, glúcidos, alcaloides, etc.

7) La parte insoluble en éter de petróleo fue sometida a procedimiento análogo, pero usándose como solvente éter etílico, para librarlo de colorantes, resinas, alcaloides, ácidos orgánicos, esencias, ceras, glúcidos, taninos, sustancias amargas, etc.

8) El residuo fue disuelto en alcohol de 60° y precipitado por medio del alcohol absoluto. El precipitado se separó por medio de la centrifuga y del líquido supernatante se obtuvo más precipitado agregando más alcohol absoluto. Esta operación se repitió varias veces, uniendo los diferentes residuos y desecando

al vacío. Se obtuvo así un polvo amorfo, el cual fue redisolto en agua y vuelto a precipitar con alcohol etílico absoluto por dos o tres veces para purificarlo.

En el polvo amorfo obtenido se verificaron las diferentes reacciones antes mencionadas, que se usaron también como control durante los diferentes pasos para comprobar la existencia o no de saponinas en el mentruo o en el residuo.

En la separación de las saponinas no se usó el cloroformo como medio de purificación ya que se comprobó que el líquido obtenido de la filtración daba las reacciones características de las saponinas, demostrando con ello que gran parte de ellas se perdía por disolución en el cloroformo.

TABLA NO. 1

CUADRO ABREVIADO DEL METODO CLASICO

<b>Muestra vegetal</b>	<b>Solvente</b>	<b>Residuo Insoluble (Saponinas)</b>	<b>Algunas características físico-químicas del líquido filtrado</b>
<b>FLORES</b>	<b>ACETONA</b>	Como las saponinas son insolubles en acetona, se separaron por medio de la filtración	El líquido filtrado es de color verde limón, sabor amargo resinoso; consistencia muy fluida y al evaporarlo completamente, toma consistencia ligeramente viscosa y de color pardo amarillento. Olor característico a acetona. Agitado con agua no forma espuma y tratado con algunos reactivos dió reacción negativa. Este líquido filtrado fue desechado
<b>Residuo Insoluble en acetona</b>	<b>ETER DE PETRO-LEO</b>	El precipitado que lleva consigo las saponinas fue separado por filtración	La solución obtenida de la filtración es de color verde paja, sabor trementináceo. Consistencia fluida que al ser evaporada da aspecto a coia. Agitada con agua no forma espuma; da reacción negativa con los diferentes reactivos. Esta solución se desechó
<b>Residuo Insoluble en Eter de Petróleo</b>	<b>ETER ETILICO</b>	La parte insoluble se separó por filtración aislando así el residuo que contiene las saponinas	El líquido filtrado es débilmente amarillento, de sabor amargo. Consistencia fluida y al evaporarlo deja muy poco residuo de consistencia sólida. No forma espuma al agitarlo con agua y en presencia de los diferentes reactivos el resultado es negativo. El filtrado se desechó.

#####

HOJAS	ACETONA	De la solución resultante se separó la parte insoluble (saponinas), por medio de la filtración	El filtrado de color verde aceituna, de consistencia demasiado viscosa, se evaporó completamente quedando fondo opaco brillante. - El sabor de la solución es característico a hojas en infusión, con ligera astringencia. - Agitado en agua no forma espuma, pero sí un precipitado terroso. Con los reactivos para saponinas el resultado fue negativo. Esta solución fue desechada
Residuo insoluble en acetona	ETER DE PETRO-LEO	La parte insoluble, donde se encuentran las saponinas fue separada por filtración	La solución obtenida del filtrado es de color verde amarillento, brillante, de olor típico, débilmente a café, de sabor amargo que recuerda a tal sustancia. - Agitado con agua no forma espuma. - Con los reactivos no se indentifican saponinas. - Esta solución fue desechada. -
Residuo insoluble en éter de petróleo	ETER ETILICO	El líquido supernatante se separó de la fracción insoluble, por medio de filtración. -	La solución verde pardo, resultante de la filtración, es inodora de sabor amargo débil. Al calentarla hasta evaporación completa, queda residuo con consistencia de barniz. Es insoluble en agua fría, solubilizándose ligeramente al elevar la temperatura, formándose una solución de color débilmente pardo verdosa, que no forma espuma al agitarla. Con los reactivos el resultado no fue positivo. Se desechó este filtrado.

CORTEZA	ACETONA	El precipitado de las saponinas se separó por filtración	El filtrado es una solución verde aceituna, de olor a trementina. Cuando se deseca da consistencia de barniz. De sabor amargo que recuerda la trementina, ligeramente astringente. No forma espuma al ser agitada con agua. Al tratarla con los reactivos el resultado fue negativo. Este líquido fue desechado.
Residuo insoluble en acetona	ETER DE PETROLEO	Por la insolubilidad de las saponinas en este solvente se pudieron aislar por filtración. -	El filtrado resultó de color amarillo, de olor a canela y consistencia aceitosa, y sabor amargo untuoso. - Al agitarla con agua no da espuma y con los reactivos para saponinas no da reacción positiva. Este filtrado se desechó.
Residuo insoluble en acetona	ETER ETILICO	De la solución obtenida se separaron las saponinas por filtración, ya que son insolubles en este solvente	El filtrado resulta de color amarillo, de sabor aceitoso, que al evaporarlo adquiere consistencia untuosa, de color blanquecino, ligeramente amarillento e inodoro. Al agitarla con agua da espuma no persistente. Al tratarla con los reactivos no da resultado positivo. Este filtrado se desechó.
RAIZ	ACETONA	El precipitado que contiene las saponinas fue separado por filtración.	El líquido filtrado es de color rojo oscuro y de sabor amargo astringente. Al evaporar da un aspecto de barniz brillante, transparente. Es insoluble en agua aun después de calentar. -Con los reactivos típicos no da reacción positiva. El filtrado fue desechado.

Residuo insoluble en acetona	ETER DE PETRO-LEO	La parte insoluble que contiene las saponinas fue separada por filtración-	El líquido filtrado resulta de color débilmente rojo, de sabor amargo desagradable. Al evaporarlo da un residuo de consistencia resinosa y untuosa al tacto. No es soluble en agua aun después de calentar. Con los reactivos de saponinas el resultado es negativo. el filtrado se desechó.
Residuo insoluble en éter de petróleo	ETER ETILICO	Por medio de la filtración se separó la parte insoluble.	El líquido filtrado es de color ligeramente rosado, con sabor a trementina, y olor resinoso. Al evaporar la solución por medio de calor se desprende un olor picante e irritante que pronto desaparece, quedando el olor característico a éter. Es insoluble en agua fría y caliente y con los reactivos da resultados negativos. Este filtrado se desechó.

Tratadas las muestras de la manera anteriormente citada se disolvió cada uno de los residuos, por separado, en alcohol etílico de 60°, obteniéndose una solución transparente, blanquecina o débilmente amarillenta. Cuando quedó algo de soluto sin disolver, éste se disolvió en agua y se filtró; la solución obtenida se agregó a la solución correspondiente.

A continuación se practicó una precipitación por cambio de disolvente, usándose alcohol etílico absoluto,- La solución se concentró en la centrifuga y se repitió el mismo proceso hasta agotar la precipitación.

Estos precipitados así obtenidos se sometieron a la acción de diferentes reactivos obteniéndose los siguientes resultados:

**TABLA NO. 2**

REACTIVO	MUESTRA			
	FLORES	HOJAS	CORTEZA	RAIZ
Reacción de Salkowski	+	+	+	+
Reacción de Liebermann-Burchard	+	+	+	+
Reacción de Rosenthal	-	-	-	-
Reacción de Tschugajew	*	*	*	*
Reacción de Noller, Smith y otros	-	-	-	-
Reacción de Hirschsohn	+	+	+	+
Reacción del HgCl <sub>2</sub>	+	+	+	+
Reacción de Fehling	+	+	+	+
Reacción del Ferricianuro de Potasio	+	+	+	+
Reacción de Nessler	+	+	+	+
Reacción de Fröhde	+	+	+	+
Reacción del Permanganato de Potasio	+	+	+	+
Reacción del Agua	+	+	+	+
Prueba del Mercurio	+	+	+	+
Prueba del Aceite de Linaza	+	+	+	+
Prueba del Calor	+	+	+	+
Reacción de la Digitonina	+	+	+	+
Toxicidad para los peces y renacuajos	+	+	+	+
Acción Hemolítica	+	+	+	+

Negativo : -  
Positivo : +  
Dudoso : \*

## CAPITULO V

### DISCUSION

Se usa alcohol de 50 a 70°, para eliminar los fermentos que de una manera natural y espontánea hidrolizan las saponinas, en sus correspondientes geninas y fracción azucarada. La temperatura de ebullición del alcohol de 60°, mucho más baja que la del agua pura, destruye los fermentos pero no las saponinas.

Además esta mezcla hidroalcohólica tiene la propiedad de disolver numerosas sustancias orgánicas e inorgánicas que, por cambios de solvente precipitan más fácilmente que con el agua pura.

Es difícil librar las saponinas completamente de ciertas sustancias, ya que al adquirir el estado coloidal con relativa facilidad, posiblemente retienen de una manera tenaz las otras sustancias que podrían considerarse como impurezas. -

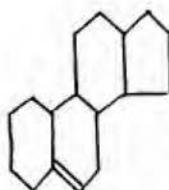
Por la razón anterior se prefirió el método de precipitación fraccionada, ya que el coloide de saponinas, por ser reversible, puede perder su carácter en solución acuosa para obtenerlo en forma de precipitado, eliminándose así, aunque lentamente, una serie de sustancias que podemos considerar como impurezas, para luego volverlo a llevar a su estado de coloide y volverlo a precipitar con otros varios solventes con el mismo fin anterior. Claro está que en este constante cambio de estado es lógico que se pierda una cantidad grande del coloide (saponinas), pero logramos así obtener una muestra más o menos purificada.

Se usó una serie grande de reactivos con el fin de comprobar, por varios métodos, la verdadera existencia de saponinas, evitando su confusión con otras sustancias que también pueden precipitar con algunos de los reactivos empleados.

En cuanto a las diferentes reacciones y pruebas mencionadas, sólo describiré en detalle el uso de aquellas que revisten más importancia.

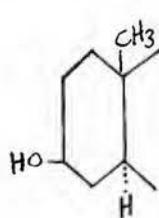
La Reacción de Liebermann-Burchard, además de poner en evidencia la presencia de tales sustancias, sirve para determinar el doble enlace entre los carbonos 5-6 del grupo esteroide ( 8 ). En general los esteroides no saturados dan la reacción mucho más rápidamente que los saturados ( 18 ).

En esta reacción se trata probablemente de la formación de compuestos de tipo salino entre el ácido sulfúrico y el grupo no saturado del colesterol(7).

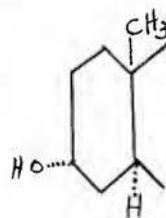


La prueba de la Digitonina resulta positiva sólo en presencia de aquellos esteroides que contienen el oxhidrilo del carbono 3 orientado en configuración  $\beta$  ( 8 )

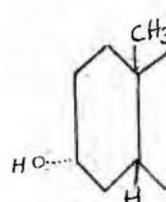
Esta reacción nos permite diferenciar los esteroides  $\beta$  de los esteroides  $\alpha$  y de aquellos epímeros que poseen el oxhidrilo en configuración  $\alpha$  ( 8 ).



$\beta$



$\alpha$



epímero  $\alpha$

En ambos casos ocurre la formación de digitónidos pero estos son solubles en los esteroides de configuración  $\alpha$ , e insolubles y por lo tanto precipitan en los de forma  $\beta$  (18). Esta reacción no se altera si el enlace doble va entre los carbonos 5-6, o, 4-5 (18).

En la Reacción de Noller, Smith y otros, se usó la muestra seca y cloruro estannoso. La experiencia se realizó en dos tubos de ensayo pequeños, uno se taponó con tapón de corcho y el otro con tapón de hule. Veinticuatro horas después no había aparecido color rojo, aunque sí otros colores: amarillo, pardo, pardo oscuro casi negro. Este último color se observó aun después de haber transcurrido cuatro días, y posiblemente se debe a la descomposición total o parcial de la materia orgánica.

La Reacción de Hirschsohn da un color rojo hasta violeta en presencia de los esteroides a temperatura ambiente o por calentamiento a  $60^{\circ}\text{C}$ , mientras que con los triterpenos es necesaria una temperatura de  $110^{\circ}\text{C}$  (15)

La Prueba con el Mercurio nativo y los Aceites y Resinas se funda, posiblemente, en que las saponinas son coloides liófilos (emulsoides), ya que la atracción entre la fase dispersa y la fase continua es muy pronunciada, siendo por tanto difícil su separación, y cuando esta ocurre el sol es reversible, es decir, resoluble. Además las saponinas siendo coloides naturales adquieren el estado coloidal por simple solución, pudiendo alcanzar la fase dispersa una gran concentración.

La prueba de hemólisis también reviste importancia porque permite clasificar las saponinas en saponinas y saponinas, según muestren o no he-

**mólisis.**

Para determinar la acción hemolítica se usó sangre fresca de res con solución anticoagulante de citrato (F. E. U. XIII). También se usó sangre des-fibrinada, sangre fresca de rata gris y de hombre. En todos los casos el resultado fue positivo.

## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES

- 1) Las saponinas se encuentran distribuidas en toda la planta, constituyendo, posiblemente, el principio amargo característico a que se refiere la Lic. Agripina Chen Apuy en su tesis "Yucca elephantipes, Itabo".
- 2) Las saponinas presentes en la Yucca elephantipes son, principalmente, pertenecientes al grupo de los esteroides, ya que en presencia del Reactivo de Liebermann-Burchard, la reacción es casi instantánea y a temperatura ambiente, demostrando además la presencia del grupo no saturado en 5-6.
- 3) La Prueba de la Digitonina produjo precipitado insoluble y con la de Hirschsohn no se necesitó calentar para obtener el color característico. Estas dos pruebas junto con la anterior confirman la estructura esteroide de estas saponinas, y además su configuración.
- 4) La toxicidad para los peces y renacuajos y el producir hemólisis, catalogan estas saponinas entre las sapotoxinas.
- 5) Posiblemente estas sapotoxinas se producen en la planta en mayor cantidad en la época de lluvia, causando así los trastornos en el tubo digestivo, por irritación de la membrana mucosa, que el vulgo atribuye a las flores de la planta cuando se ingieren en época lluviosa.
- 6) El efecto diurético que el vulgo le atribuye, si lo tuviera, puede deberse ya sea a los productos azucarados de la hidrólisis o a la naturaleza misma de las saponinas de estructura semejante a la de algunos de los glicósidos cardíacos.

Las saponinas hoy en día no tienen aplicación en terapéutica, pero antes se emplearon como expectorantes y eméticos ( 5 ) . Todavía las encontramos en algunos preparados expectorantes como las gotas Pertussin (Etepha S.A., Schean).

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

**1) BAMFORD FRANK, B. Sc.**

**Poisons Their Isolation And Identification**  
**Third Edition**  
**J. & A. Churchill Ltd.**  
**London-Great Britain**  
**1951 viii y 316 pp.**

**2) CARRERA F. DE LA Y VARGAS F.**

**Conocimientos Fundamentales de Química**  
**Tercera Edición**  
**Universidad de la Habana**  
**Cultural S.A.**  
**Habana-Cuba.**  
**1949 viii y 358 pp.**

**3) COLLIER P. F. & SON CORPORATION**

**Collier's Encyclopedia**  
**Twenty Volumens**  
**Volumen IX**  
**New York- U.S.A.**  
**1958 649 pp.**

**4) CONANT JAMES B Y BLATT ALBERT H.**

**Química de los Compuestos Orgánicos**  
**( Un Curso de Química Orgánica)**  
**Trad. de la 3ª Ed. Norteamericana por el**  
**Prof. Antonio Soler.**  
**Ediciones Aguilar S.A.**  
**Madrid-España.**  
**1953 xix y 675 pp.**

**5) COOK Y MARTIN**

**Farmacia Práctica de Remington**  
**Trad. de la 10ª Ed. en Inglés por**  
**Oscar G. Carrera.**  
**U. T. E. H. A.**  
**México.**  
**1943 xviii y 1786 pp.**

**6) CHEN APUY LIC. AGRIPINA**

**Yucca elephantipes, Itabo**  
**Tesis de Conclusión de Estudios**  
**Facultad de Farmacia.**  
**Universidad de Costa Rica**  
**Costa Rica.**  
**1941.**

**7) EDELBACHER S. Y LEUTHARD S.**

**Tratado de Química Fisiológica**  
**Universidad de Basilea**  
**Suiza**  
**1958.**

**8) FIESER Y FIESER**

**Química Orgánica**  
**Trad. Española de Francisco Giral**  
**Editorial Atlante S.A.**  
**México D. F. México**  
**1948 xii y 1112 pp.**

**9) KARRERA DR. PABLO**

**Tratado de Química Orgánica**  
**Revisado y Trad. de la 11ava Edición en Alemán**  
**por el Prof. Dr. Juan M. García M.**  
**Tercera Ed. Española**  
**Editor Manuel Marín**  
**Barcelona España**  
**1943**

**10) LEWIS JOHN R**

**Resumen de Química General**  
**Trad. por F. Chaves Molina**  
**Colección de Textos Universitarios No. 3**  
**Universidad de Costa Rica**  
**Costa Rica**  
**1945 - XIII y 345 pp.**

**11) Mc. ELVAIN SAMUEL M.**

**La Caracterización de los Compuestos Orgánicos**  
**(Análisis Orgánico Funcional)**  
**Trad. por los Drs. José Fontan Y. y Angel Martín M.**  
**Ediciones Aguilar S.A.**  
**Madrid - España**  
**1953 xvi y 267 pp.**

- 12) MERCK & Co. INC. RAHWAY**  
The Merck Index  
Fifth Ed.  
N. J. Philadelphia - U.S.A.  
1940 1060 pp.
- 13) MENDEZ A. LIC. YOLANDA**  
Contribución al Estudio de las Saponinas y Sapo-  
toxinas Presentes en Algunas Variedades de Nues-  
tra Flora  
Tesis de Grado  
1958 35 pp
- 14) OSOL-FARRAR**  
The Dispensatory of the United States of America  
25 th. Edition  
J. B. Lippincott Company  
U. S. A.  
1956 xvii y 2139 pp.
- 15) PAECH K. TRADY M.V.**  
Modern Methoden Pflanzenanalyse  
Drietter Band  
Springer-Verlag  
Berlin-Alemania  
1955 xii y 761 pp.
- 16) PUIG S.S. IGNACIO**  
Gran Formulario Industrial  
Editorial Sopena  
Argentina
- 17) U.T.E.H.A.**  
Diccionario Enciclopédico  
U.T.E.H.A.  
X Volúmenes  
México  
1953

**18) WEST & TODD**

**Textbook of Biochemistry  
Second Edition  
The Macmillan Company  
New York  
1955**

**19) ZAPPI E.V.**

**Tratado de Química Orgánica  
Tomo V  
Serie Cíclica  
Librería y Editorial "El Ateneo"  
Buenos Aires - Argentina  
1952 667 pp.**

## R E S U M E N

Este trabajo tuvo por objeto investigar las saponinas contenidas en el Itabo (*Yucca elephantipes*).

Se hicieron ensayos con las flores, hojas, cortezas y raíces de la planta. Se describe el método de extracción y precipitación fraccionada con distintos disolventes, empleado en el trabajo.

Se lograron obtener cuatro grupos de saponinas más o menos puras, correspondientes a cada uno de los órganos de la planta: Flores, hojas, corteza del tallo y raíces.

Se describen y comentan numerosas pruebas, veinte en total, características para saponinas; se anotan en una tabla los resultados obtenidos, que fueron idénticos para los cuatro grupos; según ellos puede afirmarse que las saponinas son de estructura esteroide, configuración beta y doble enlace entre carbonos 5-6.

Además por los ensayos biológicos realizados pueden clasificarse en el grupo de las sapotoxinas. -