UES BIBLIOTECA CENTRAL
INVENTARIO: 10120728

T
581.19247
Ch512c
1974
F-CC.QQ

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

COMPUESTOS SEMEJANTES A PROSTAGLANDINAS EN VARIAS ESPECIES DE PLANTAS Y ESTUDIO DE LA COMPOSICION DE SUS LIPIDOS

TESIS

PRESENTADA POR

MARIA LUISA CHAVEZ RIVAS

PREVIA A LA OPCION DEL TITULO DE

LICENCIADA

EN

QUIMICA Y FARMACIA

OCTUBRE DE 1974

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
BIBLIOTECA CENTRAL
SAN SALVADOR, EL SALVADOR, C.A.

SAN SALVADOR EL SALVADOR CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

R E C T O R

DR.CARLOS ALFARO CASTILLO

SECRETARIO GENERAL

DR.MANUEL ATILIO HASBUN

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

D E C A N O

DR.AMILCAR AVENDAÑO Y ORTIZ

S E C R E T A R I A

DRA.MARIA GLADYS DE MENA GUERRERO

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

DRA. ALBA GLORIA CAÑAS

DR. ROMEO AMILCAR ROVELO BATRES

DRA. LILIAN NAVARRETE DE AYALA PINO

El presente Trabajo de Tesis fue realizado en los Laboratorios del Instituto Centroamericano de Investigaciones y Tecnología Industrial (ICAITI), dentro del Proyecto - multinacional de "Extractos Vegetales" que forma parte de los Programas de Investigación que el ICAITI lleva a cabo en colaboración con la Oficina de Asuntos Científicos de la Organización de Estados Americanos.

R_E_C_O_N_O_C_I_M_I_E_N_T_O_ _

Agradezco a la Organización de Estados Americanos (O.E.A.) y al Instituto Centroamericano de Investigaciones y Tecnología Industrial (I.C.A.I.T.I), especialmente al Departamento de Extractos Vegetales por la gran ayuda que se me brindó para la realización de este trabajo de investigación.

Deseo expresar mi gratitud al Lic.Antonio Fuentes y al Lic. Carlos Luján por su constante asesoría en la elaboración de este trabajo.

Asimismo agradezco al personal de la División de Análisis, pruebas y ensayos del I.C.A.I.T.I por su colaboración en la realización de este trabajo de tesis.

D E D I C A T O R I A

A MIS PADRES: LUIS OSCAR CHAVEZ
BERTA RIVAS DE CHAVEZ

A MI NOVIO: JOSE RAFAEL ANDREU

C O N T E N I D O .

		PAG.
I N T R O D U C C I O N		1
PARTE EXPERIMENTAL.		7
	Extracción de ácidos grasos y prostaglandinas	7
	Fraccionamiento e identificación de prostaglandinas	8
	Cromatografía en capa fina de prostaglandinas	8
	Extracción de Lípidos	9
	Estimación de Lípidos totales	10
	Preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos del Extracto de Lípidos totales	10
	Cromatografía de gas-líquido	11
	Determinación del indice de ácidez	11
	Espectroscopía Ultravioleta	11
FIGURA 1 .-	Representación esquemática de la separación de PG patrones por cromatografía en capa fina	14
FIGURA 2.-	Representación esquemática del corrimiento de PG patrones y PG como compuesto en Theobroma cacao.-	16
FIGURA 3.-	Espectro I.R de P.G. parcialmente purificada de semillas de Theobroma cacao .	17
FIGURA 4.-	Separación por C.G.L. de ésteres metílicos de Theobroma cacao .-	18
-Figura 5.-	Separación de ésteres metílicos de Passiflora edulis por cromatografía de gases.	20
Figura 6.-	Separación por C.G.L. de ésteres metílicos de semilla de algodón	22
FIGURA 7.-	Separación por C.G.L. de ésteres metílicos de Equisetum giganteum.	24
FIGURA 8.-	Separación por C.G.L de ésteres metílicos de Salvinia natans .	26
FIGURA 9.-	Separación por C.G.L. de ésteres metílicos de ácidos grasos patrones	28

PAG.

FIGURA 10.- Cromatografía de gases de ésteres metílicos de P.G. como compuesto de las semillas de - Theobroma cacao. 30

FIGURA 11.- Distribución del ácido C12 31

FIGURA 12.- Distribución del ácido C14 32

FIGURA 13.- Distribución del ácido C14:1 33

FIGURA 14.- Distribución del ácido C16 34

FIGURA 15.- Distribución del ácido C16:2 35

FIGURA 16.- Distribución del ácido C18;1 36

FIGURA 17.- Distribución del ácido C18 37

FIGURA 18.- Distribución del ácido C18:3 38

FIGURA 20.- Distribución del ácido C19:2 40

FIGURA 22.- Distribución del ácido C20;1 42

FIGURA 23. Distribución del ácido C22 43

TABLA No.1. Valores de Rf. para PG. Patrones y PG como compuesto en varias especies de plantas. 44

TABLA No.2. Valores de absorbancia en UV. Muestras y PG. patrones 45

TABLA No.3. Composición de Lípidos en varias especies de plantas 46

TABLA No.4 Porcentaje Relativo de la composiicón de ácidos grasos 47

TABLA No.5. Distribución de ácidos grasos 48

TABLA No.6. Distribución de ácidos grasos 49

TABLA No.7. Distribución de ácidos grasos 50

R E S U L T A D O S 51

D I S C U S I O N 58

LISTA DE ABREVIATURAS. . . 60

BIBLIOGRAFIA GENERAL. . . 61

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

Las prostaglandinas comienzan a ser conocidas en los años de la época - de 1930, cuando el Dr.Goldblat en Inglaterra y el Dr.Von Euler en Suiza (1, 2), trabajando por separado encontraron que en los extractos del líquido seminal humano y de las vesículas seminales de varios animales, - tenían poderes vasodepresores y de estimulación del músculo liso.

El término de prostaglandinas aparece por primera vez en la Literatura - en 1935, nombre aplicado por Von Euler (3). Este principio activo mostró propiedades ácidas. En los siguientes treinta años se realizaron pocos - estudios, hasta que el mayor avance fue dado en 1960-61 por Bergstrom y sus asociados (4, 5), los cuales lograron aislar prostaglandinas puras y posteriormente determinar su estructura.

(1.) Euler, U.S. Von- A Depressor substance in the vesicular gland -J. Phisiology, Lond. 34,21 p.(1935).

(2) Goldblalt, M.W. Proparties of Human Seminal Plasma.J.Physiology -- Lond. 84, 208-218 (1935).

(3) Euler, U.S. Von- On the Specific Vasodilating and plain Muscle -- Stimulating Substance From Accesory Genital Glands in Man and Certain . Animals. - 3. Physiology, Lond. 88, 213-234 (1936).

(4) Bergstrom, S.Science, 4 157-382 (1967).

(5) Bergstrom, S. Ryhage, R. Samuelson, B. and Sjöval, J.Chemical, Scand, 16, 504 (1962).

Actualmente se conocen como ácidos grasos cíclicos oxigenados con veinte átomos de carbono, teniendo como base el esqueleto del ácido prostanoico(6). Las prostaglandonas se dividen en cuatro series dependiendo de las insaturaciones y de las funciones presentes en el anillo ciclopentano. así las PGE se caracterizan por un grupo carbónico en el carbono nueve (C_9)., y un grupo hidroxilo en el C_{11} y C_{15}. La serie PGF posee un grupo hidroxilo en C_9 , C_{11} , C_{15} .La serie PGA se diferencia de las PGE unicamente en que posee un doble enlace $\Delta^{10,11}$ y las PGB que siendo isómeras de las PGA lo posee en $\Delta^{8,12}$ (6,7). Estos seis miembros son conocidos como prostaglandinas primarias.

Las prostaglandinas han sido encontradas no solo en los órganos reproductores masculinos sino también en riñones, timo, cerebro, pulmones, etc.(7,8,9,10), siendo su concentración a la mayoría de los tejidos menos de 1 mg/gr.

---

(6) Steling, T. C., Morozowich,W.and Roseman,T.J., prostaglandins, Journal of pharmaceutical Science,Vol 61 No.12,1861-94(19720.

(7) Bergström, S., L.A. Carlson and J.R.Weeks, pharmac.Rev., 20,1 -- (1968).

(8) Bergström, S, prostaglandins- A Group of Hormonal Compounds of - Wide Spread Ocurrance. Biochem.pharmac., 12,413-414(1963).

(9) Bergström, J., Prostaglandins and Their Influence on Lipid Metabolism.- J.Am. Oil Chem.Soc., 42,608-609 (1965)..

(10) Daniels, E.G., Winman,J.W., Leach, B.E., Muirhead E., Identification of prostaglandins E_2 As the principal Vasopressor Lipid of Rabbit Renal Medulla. Nature 215. 1298 (1957).

Siendo una excepción el fluído seminal humano en el cual es de 50-60 - mg./ml.(11, 12).

En 1969 Wheinheimer y Spraggins (13), reportaron el aislamiento de grandes cantidades de un compuesto 15(R)-PGA_2. En los cuernos del coral plexaura homomalla encontraron Schnider y colaboradores(14,15) otra forma de prostaglandinas la 15 (S)-PGA_2 . En base al peso mojado de la muestra se determinó un 0.4% de ester-metílico 15 (S)-PGA_2 . El peso de la 15 (R)-PGA_2 y de 15 (S)-PGA_2 representó un 1.5% del peso de la corteza - del coral seco.

---

(11) Kurzrok,R. and Lieb, C.C., Biochemical Studies of Human Semen. Proc. Soc. Exp. Biol.Med. 26:268 (1930).

(12) Pike, J.E.- Total Synthesis of Prostaglandins-Reprint Progress in - the Chemistry of Organic Natural Products XXVIII. 314-339, N.Y.

(13) Weinheimeier, D.J.- and Spraggins, R.L.- The Ocurrence of Two New - Prostaglandins Derivatee (15-EPI-PGA_2) and ita Acetata Methyl Ester in the Gorgonian plexaura Homomalla. Chemistry of Coelenterates. XV. Tetrahedron Letters, 59,51, 5185,(1969).

(14) Samuelson, B,. E. Granstrom and Hombergm.- Prostaglandins, Nobel Simposium 2, 5. Bergström and Samuelson.- Ed.Intercience, New York p. 45 (1967).

(15) Schneider, W.P., Hamilton, R.D. and Rhuland, R.E.- Journal of Ameri-- c an Chemical Socyete. 94, 2122 (1972).

El Dr.Brundy y colaboradores (16, 17), lograron convertir químicamente por la ruta de epoxi-oxidación usando el compuesto inactivo 15 (S)-PGA_2 en dos derivados activos, las prostaglandinas PGE_2 y PGF_2 .

Se ha comprobado que la formación de las prostaglandinas no se encuentra tan restringida como otras sustancias activas tales como las hormonas.

Estudios realizados (18, 19) , acerca de la Biosíntesis de las prostaglandinas, sugieren que estas de manera semejante a las hormonas en el organismo animal se forman por ciclación y oxidación de ácidos grasos esenciales.

Algunos investigadores (18,20,21), mostraron con certeza que los ácidos grasos polienoicos W-6 insaturados de veinte carbonos son los precursores biológicos de las prostaglandinas.

---

(16) Brundy, G.L.; Lincoln, I; Nelson, N.; Pike, J. and Schneider.- Novel Prostaglandin Synthesis. Ann. N.Y.Acad.Sc. 180. 76-90-(1971).

(17) Brundy, G.L. and Nugteren, D.H. Isolation of Two New Natural -- Prostaglandins From Corals. J.Am.Soc.Chem. 94, 2124(1972).

(18) Bergström, S. Danielsson, H.Kenberg, D., and Samuelsson. B.- The Enzimatic Convertion of Esencial fatty acids into prostaglandins. J.Biol. Chem. 239, 4006-4008-(1964).

(19) Van Dorp, D.A . Beerthuis, R.K, Nugleren, D.H. and Vorkerthan, Nature 203, 389 (1964).

(20) Bergstrom, S., Danielsson, H. and Samuelsson, B.- The Enzimatic Formation of prostaglandin E, from Arachidonic Acid. Biochem.Bio-- phys. Acta 90. 204-2060(1964).

(21) Nugtere, D.H. and Vorkernan H. -Biochem, Biophys Acta 90 207-210 (1964).

Esto ha sido comprobado (22,23) por la incubación de un homogenizado de vesículas seminales de carnero y de estómago de rata con los ácidos homo linoleico araquidónico y 4,5, 6, 11, 17 eicosopentanoico que formaron las prostaglandinas E_1 , E_2 , y E_3.

Estos ácidos grasos esenciales son constituyentes endógenos de los tejidos de fosfolípidos, los cuales son dejados en libertad en forma esterificada después de una estimulación hormonal(25). Estos ácidos grasos liberados son biosintetizados por un sistema enzimático asociado a la fracción microsomática, que no está completamente dilucidada, pero si se conocen que se introducen varias moléculas de oxígeno al átomo de carbono 9, con formación de un grupo cetónico en el carbono 5 del anillo y de grupos hidroxílicos en el carbono 11 y 15 (25, 26, 27).

---

(22) Asciak, P.C. y Wolfe, L.S. A novel prostaglandin derivate formed from arachidonic acid by rat stomach homogenates. Biochemistry 10; No. 20, 3657 - 3663 (1964).

(23)Anggarde, E.Y Samuelsson, B.J. Biol. Chem. 240, 3518 (1965)

(24) Vogt, W.; Borlets, J,; Kunz , H; y Meyer U. Proc.Int.Congr. Pharmacol.

(378) (1969) (Abstr.)

(25) Bargström, S. Prostaglandins member of a new Hormonal System. Science 157, 382-391 (1967).

(26) Flack, J.D.; Rewell, P.W. y Shaw, J.E. Rndocrinological implications of prostaglandins. Reprited from current topice in experimental endocrinology. vol. 1 199-219 (1971).

(27) Andersen, N.I. Dehydration of prostaglandins: stody by spectroscopy method. J.Lipid. Res. 10:320.

Se ha notado que las prostaglandinas y el sistema enzimático adenil ciclasa participan en la transformación de ATP a AMP cíclico en las terminaciones nerviosas de la corteza de ratas(30).

La síntesis de prostaglandinas ofrecen un especial reto a la química orgánica. Para lograr esta se han empleado diferentes precursores químicos y diferentes rutas(28, 29).

Un gran significado biológico están representando las prostaglandinas - debido a su potencia y diversidad de acción farmacológica en grandes -- áreas como son la Regulación Celular, patología y terapéutica.

Los estudios indican que en ciertos corales existe la posibilidad de lograr una fuente para proveerse de prostaglandinas o de los intermediarios para poder hacer modificaciones químicas a bajo costo.

Hasta ahora las prostaglandinas no se han aislado de ningún origen que - no sea el animal por lo que si se encontrara una fuente vegetal competitiva y un proceso fácil de obtención no cabe duda que se explotaría más las propiedades de estos compuestos desde un punto de vista de utiliza-- ción biomédica.

---

(28) Corey, E.J.; Ulattas, I. ; Anderson, N.H. y Mording, K. A new total synthesis of the E_1 and F_1 series inclusing 11-epi prostaglandins. J.Am.Chem. Soc.90, 5947(1968)

(29) Axen, V. Pike, J.E. y Schneider, W.P. the total synthesis of prostaglandins. Off prints from synthesis, Vol. 1 edited by J.W. Apsimon. 81-129 (1972).

(30) Shaw, J.E. y Ramwell, P.W. Separation, identification y estimation of prostaglandins in, Methods of Biochemical Analisis, 17, D. - - Glick, ed. Interscience, New York, p. 235(1969).

PARTE EXPERIMENTAL

Extracción de ácidos grasos y prostaglandinas .-

La extracción del material vegetal fue llevada a caobo por un procedi-- miento ligeramente modificado del descrito por S Jovall para tejidos - animales.

Dicho méto consiste esencialmente en la extracción del material por homogenización con cuatro volúmenes de metanol 95% a 4°C dejándolo en maceración a esta temperatura toda la noche. La suspensión fue filtrada y el filtrado concentrado fue acidificado a PH 3 y extraído con acetato de etilo.Las prostaglandinas presentes en la fase orgánica fueron extraí dos con una solución tampón 0.02 M de fosfatos PH 8 separando la fase de acetato y reservándola para ser usada posteriormente, la fase del -- tampón fue asidificada a PH 3 y las prostaglandinas solubles en esta fa se fueron extraídas con acetato de etilo.Los dos extractos se juntaron se lavaron con la menor cantidad de agua posible para ponerlos a PH neutro, se concentraron los extractos a sequedad bajo presión reducida. El extracto se suspendió en acetona y se centrifugó. El sobrante se concentró a sequedad a baja temperatura.

Otro método empleado para la extracc ión de prostaglandinas es el descrito a continuación:

5 Kg de muestra se homogenizan en frío con agua a PH 7 por no menos de 5 minutos, se agregan 3 volúmenes de acetona, se agita y se deja en reposo durante toda la noche a 4°C.Se filtra y el filtrado (75% de acetona)se - concentran al vacío(la solución contiene 10-20% de acetona), esta se lle va a PH 7 y se extrae dos veces con éter de petróleo (30°-60°C), la fase acuosa se acidifica con HCl 1N hasta Ph 3 y se extrae tres veces con cloruro de metileno, se unen los tres extractos y se concentran al va-

cío hasta aproximadamente un litro, al concentrado se extrae con solución tampón de fosfatos PH 8 0.2 M, reservando la fase del cloruro de metileno. La del tampón se lleva a PH 3 con HCl 1N y se extrae con cloruro de metileno se unen y se concentran al vacío a una temperatura no mayor de 40°C.

Fraccionamiento e identificación de prostaglandinas .-

El extracto crudo fue purificado por medio de cromatografía en capa fina preparativa y por columna cromatográfica de sílica gel G ácida empacada con ciclohexano. La muestra se eluyó de la columna con los sistemas de - solventes siguientes: ciclohexano, ciclohexano:acetato de etilo 40%, ci-- clohexano: acetato de etilo 60%, acetato de etilo, acetato de etilo: metanol 15%, en orden consecutivo.

Cromatografía en capa fina de prostaglandinas. .-

Sobre placas de vidrio de 20 x 20 centímetros se esparció una capa de gel de sílica (sílica gel G Merck)de 250 micras de espesor , según el método - descrito por Sthal, secadas al aire y luego activadas por calentamiento a 100°C durante una hora antes de ser utilizadas. Se aplicaron en las placas las fracciones de las especies vegetales estudiadas, después de haberse pasado por columna, juntamente con muestras patrones de PGA_1 , PGB_1 , PGE_1 , PGE_2 , $PGF_{1\alpha}$, $PGF_{2\alpha}$. La aplicación se hizo con una micropipeta. Los cromatogramas se prepararon en duplicado y se desarrollaron con los medios de elución: cloroformo-metanol-ácido acético (16:2:1).

benceno-metanol (19:1), cloroformo-metanol-ácido acético (13:4:3), cloroformo-metanol-ácido acético (18:10:2), eter de petróleo-benceno-metanol-ácido acético (30:3:1:1).

Despúes que el solvente hubo alcanzado una distancia de 15 centímetros a partir del punto de aplicación, las placas fueron sacadas de la cámara de desarrollo y secadas al aire. Los cromatogramas secos fueron asperjados uniformemente con el revelador:ácido fosfomolíbdico 10%, ácido clorhídrico concentrado 5%, en alcohol absoluto. Mediante calentamiento a 100°C los compuestos presentes se hicieron visibles como manchas de color azúl.

Extracción de Lípidos.

La extracción de lípidos se realizó primero por el método de Oyer y Morton que es un método rápido pero se comprobó que extrae solamente una fracción del total de los lípidos. Otro método ensayado fue el de Folch y colaboradores que presenta algunos inconvenientes y la cantidad de solventes que se emplean; por lo tanto la extracción del total de lípidos contenidos en las diferentes muestras se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Bligh y Oyer, procediéndose en la forma siguiente: se pesó exactamente el material vegetal y se molió en una licuadora con el sistema solvente cloroformo-metanol (2:1 v/v), se dejó en maceración con el mismo solvente durante nueve horas a la temperatura ambiente en la obscuridad, se filtró y se extrajo de nuevo por el mismo procedimiento; uniéndose ambos extractos.

Para obtener una extracción total se homogenizó el resíduo con todo y papel filtro en exceso de cloroformo y se unió con el filtrado original antes de remover la capa de metanol-agua. En la capa clorofórmica -

se encuentra la fracción sin lípidos.

La fase hidroalcohólica se concentró a presión reducida con una temperatura de 40-50°C.El concentrado se extrajo tres veces con éter de petróleo (p.e.60-80°C) cualquier emulsión formada se rompió por centrifugación. Los extractos se combinaron, se lavaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron a presión reducida, para ser utilizados posteriormente en la estimación de líquidos totales, ácidos grasos y preparación de los ésteres metílicos de ácidos grasos.

Estimación de lípidos totales.

Para la estimación de lípidos totales se llevó a sequedad el extracto de lípidos usando presión reducida a una temperatura de 40-50°C y desecamiento en una cámara desecadora conteniendo pentóxido de fósforo hasta peso constante. Se pesó el residuo seco y los resultados se expresan como porcentaje en base al peso del material vegetal fresco.

Preparción de los ésteres metílicos de los ácidos grasos del extracto de lípidos totales.

Se pesaron en un erlenmeyer (125 ml) tres gramos de muestras, se agregó 50 ml. de metanol y 2 ml. de hidróxido de sodio metanólico 0.5 N, dejando la solución 10 minutos a ebullición con agitación mecánica(se usó refrigerante de aire). Se adicionaron 30 ml de agua por el refrigerante. Se enfría y se extrae en una ampolla de decantación con tres porciones de 20 ml de cloroformo. Se unen los tres extractos y se lavan dos veces con agua destilada (10ml). Se seca la fase clorofórmica con sulfato de sodio anhidro para eliminar toda traza posible de agua.Se filtra sobre -

algodón.

Los ésteres metílicos así obtenidos fueron inyectados en un cromatógrafo de gases.

Cromatografía de gas-líquido.

El análisis cualitativo y cuantitativo de los diferentes ácidos grasos se realizó por esta técnica mediante el uso de un cromatógrafo de gases "Hewllet-Packard" modelo 402, equipado con detector de ionización a la llama, se utilizó una columna en forma de "U" de 6 pies de largo y -- 1/2 de pulgada de diámetro, con Chromosorb (80-100 de tamiz) como fase sólida y DEGS como fase líquida(dietilen-glicol succinato).Las condiciones de trabajo fueron las siguientes. temperatura de la puerta de inyección 230°C.temperatura del detector de ionización a la llama 240°C temperatura de la columna 180°C., presión de hidrógeno 10,presión de - nitrógeno 32 y presión de oxígeno 35.

Para la deducción se ha aplicado el principio según el cual para identificar los homólogos sucesivos de una misma serie (homóloga)existe una - relación lineal entre los logaritmos decimales de los tiempos de retención (ordenada en minutos) y el número de átomos de carbono(abscisa)..

Determinación del índice de acidez .-

Los índices de acidéz se determinaron siguiendo el método volumétrico - de acuerdo a la Asociación Americana del Aceite escala semi-micro y por un segundo método más fácil y rápido consistente en lo siguiente:

Disolver 10 g de material vegetal pesados exactamente en 50 ml de una -- mezcla de éter y etanol (v/v) o en alcohol neutralizado con NaOH usando

fenoftaleína como indicador.

En los casos en que no se disolvió la muestra en frío, se calentó suavemente a reflujo, agitando con frecuencia, hasta lograr una completa disolución.

Se añade 1 cc. de fenoftaleína y se titula con hidróxido de sodio 0.1N hasta el aparecimiento y conservación de un color ligeramente rosado,- después de 30 segundos.

En los casos de Salvinia natans y Equisetum giganteum se obtuvo extractos muy pigmentados siendo imposible su titulación colorimétrica, por lo que se procedió primero a eliminar los pigmentos con carbón activo y seguidamente se tituló con fenoftaleína; en segundo lugar se realizaron titulaciones potenciométricas. En ambos procedimientos los resultados fueron similares.

Se calculan en índice de ácido reportado como porcentaje de ácido oleico:

$$\% = \frac{\text{ml de álcali gastados x N x 28.2}}{\text{peso de la muestra}}$$

$$\text{I.A.} = \% \times 1.99$$

Espectroscopía Ultravioleta.

Para determinar la absorción mediante espectroscopía de ultravioleta a 278/m se disolvió la muestra con metanol y se trató con NKOH para obtener una solución final 0.041 M.

FIGURA 1.

Representación del corrimiento en cromatografía en capa fina de sílica gel G, espesor 250 μ, de prostaglandinas patrones en el sistema de solventes cloroformo-metanol-ácido acético -- (18:2:1) y como revelador ácido fosfomolíbdico 10% , HCl 5% en alcohol absoluto.

F I G U R A 1 .-

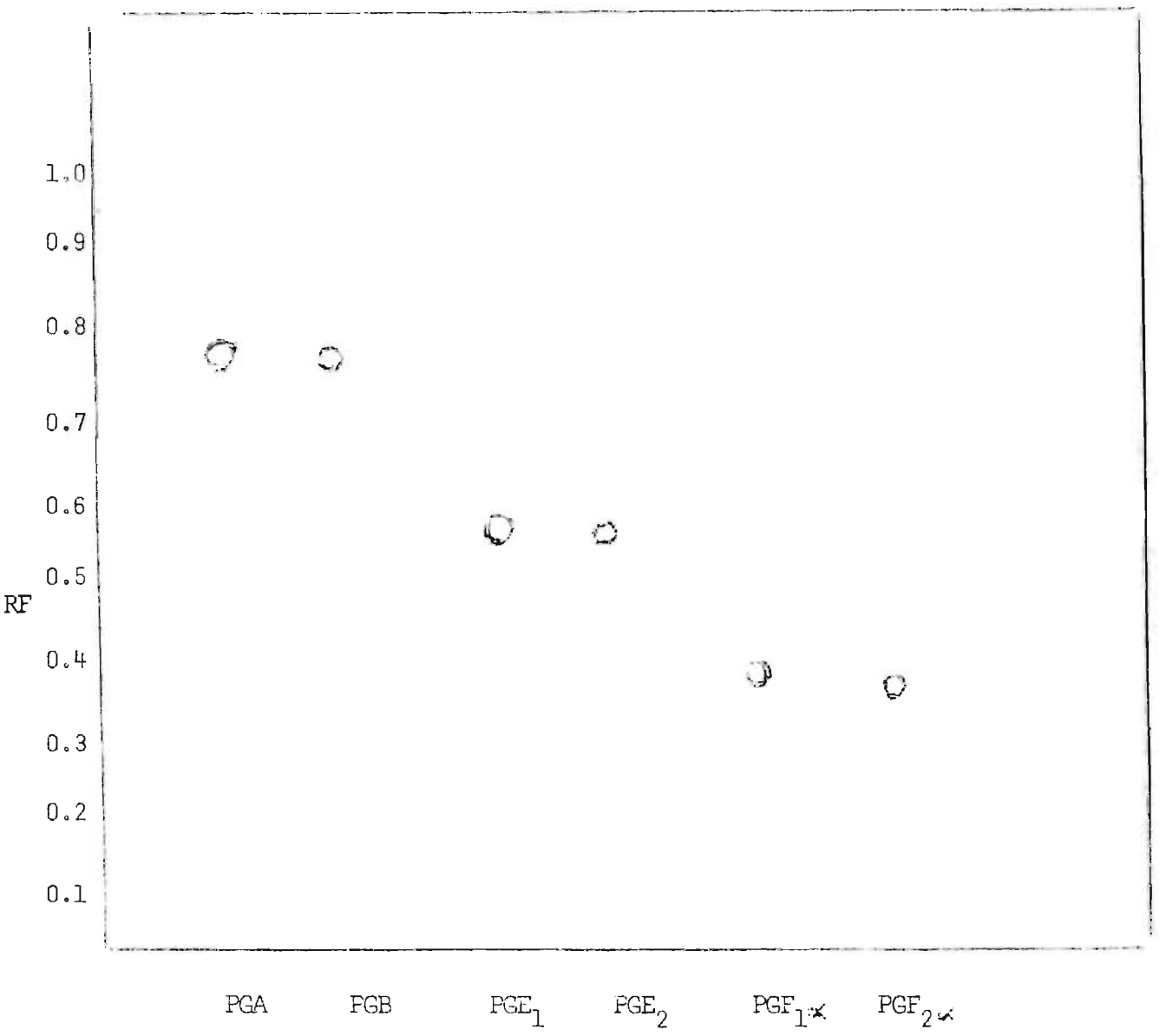

Fig.1 .- Representación esquemática de la separación de prostaglandinas patrones por cromatografía en capa fina.

PGA_1 , RF=0.767; PGB_1, Rf=0.764; PGE_1, Rf=0.547; PGE_2, Rf=0.540; $PGF_{1\alpha}$ Rf=0363; $PGF_{2\alpha}$, Rf=0.360

FIGURA 2

Representación del corrimiento en cromatografía en capa fina de prostaglandinas patrones y prostaglandinas como compuestos en semillas de Theobroma cacao. La separación en capa fina se efectúo en gel de sílice (sílica gel G Merck) 250 μ con cloroformo-metanol-ácido acético (18:2:1) como sistema solvente. Acido fosfomolíbdico 10% y HCl 5% en alcohol absoluto, como reactivo asperjado. Nótese la presencia de compuestos semejantes a $PGF_{2\alpha}$ en las fracciones 6, 7 y 8 de cacao (extractos para ácidos grasos ciclopentênicos pasada por columna cromatográfica de gel de sílica y por columna con ácido silícico). La comparación se basa en el valor de Rf y aparición de color azúl después de asperjar y calentar a 100°C.

F I G U R A 2

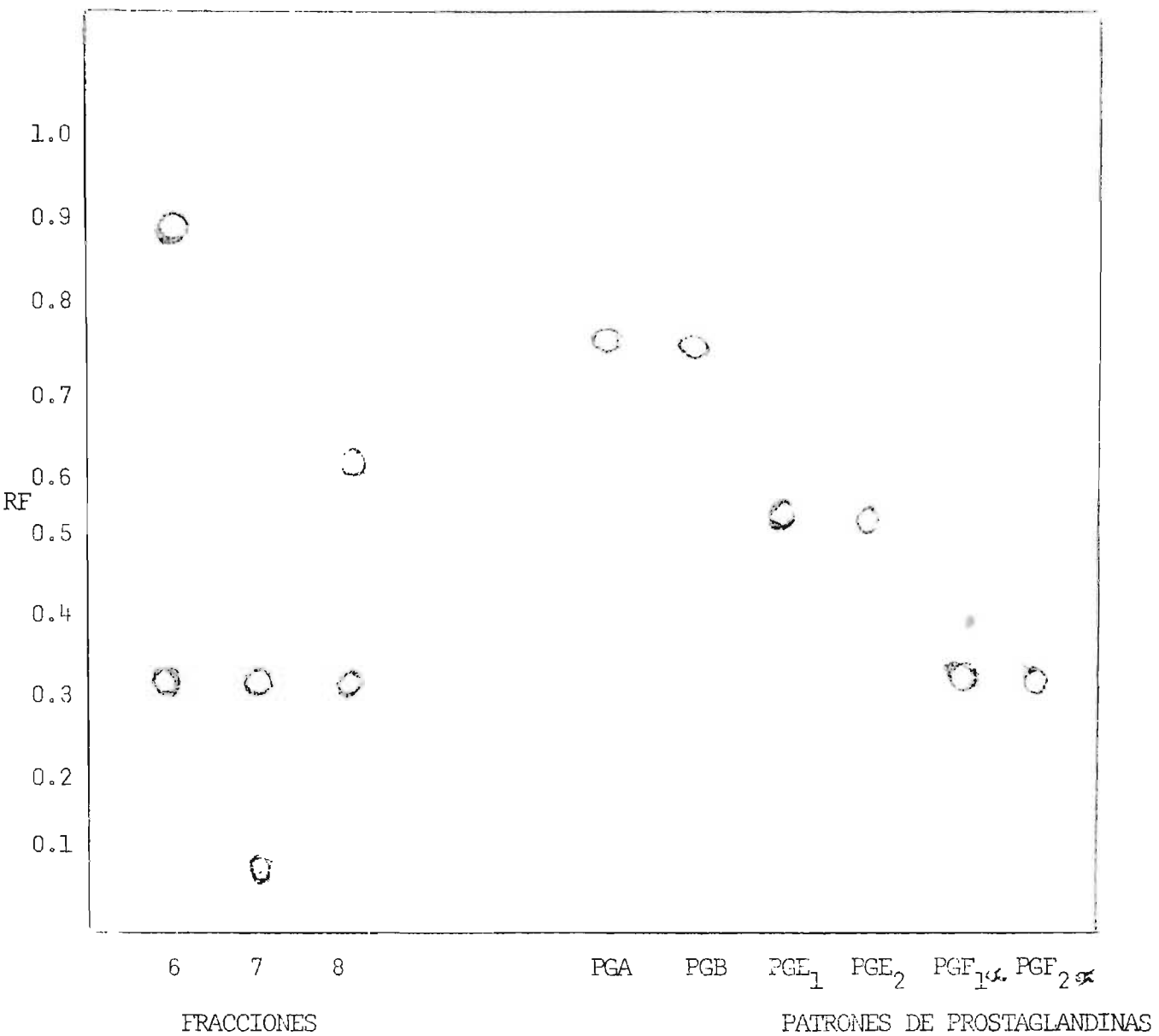

Fig.2.- Representación esquemática del corrimiento de prostaglandinas patrones y prostaglandinas como compuesto en Theobroma cacao

$PGF_{1\alpha}$ como compuesto, Rf =0.360.

FIGURA #3

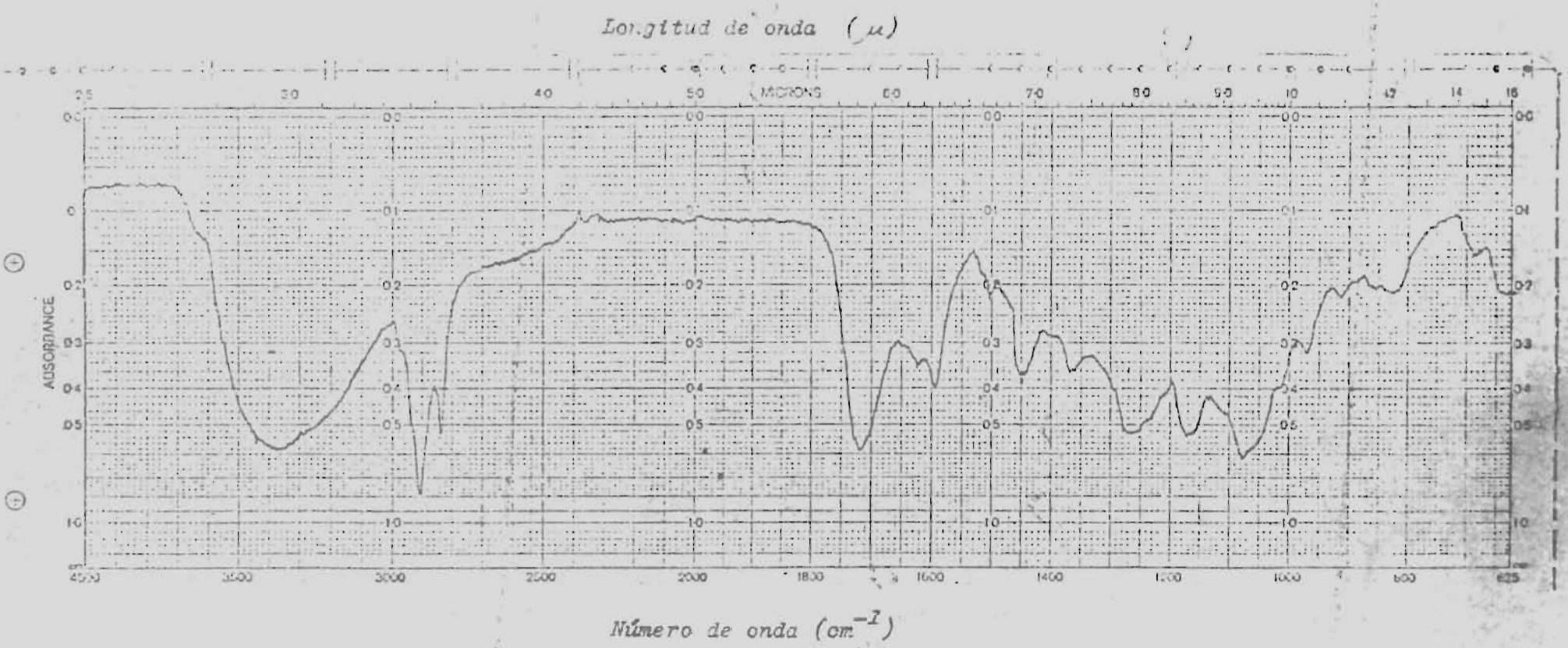

Fig. Espectro infrarrojo de P.G. parcialmente purificada de semillas de <u>Theobroma cacao</u>, el espectro presenta las siguientes bandas de absorción:

Grupos $C = O$ *a 1730* cm^{-1}
$C = C$ *a 1585* cm^{-1}
CH_3 *a 2900* cm^{-1}
CH_2 *a 2840* cm^{-1}
OH *a 3000* cm^{-1}

FIGURA 4

Separación por cromatografía de gases de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de Theobroma cacao . El instrumento usado - fué un cromatógrafo de gases Hewlett- Packard modelo 402, equipado con detector de llama de ionización, columna de vidrio de 6 - pies de largo y 1/8 de pulgada de diámetro, empacada con cromosorb W (80-100 mallas) cubiertas con SE-30 al 10 %. Condiciones: presión N=32 ; presión 0_2 =25 ; presión H_2 =10. Temperatura de la puerta de inyección 280°C ; temperatura de la columna250C. temperatura del detector 270°C; atenuación 8; rango 10^8 ; velocidad del papel 0.25 pulgadas por minuto.

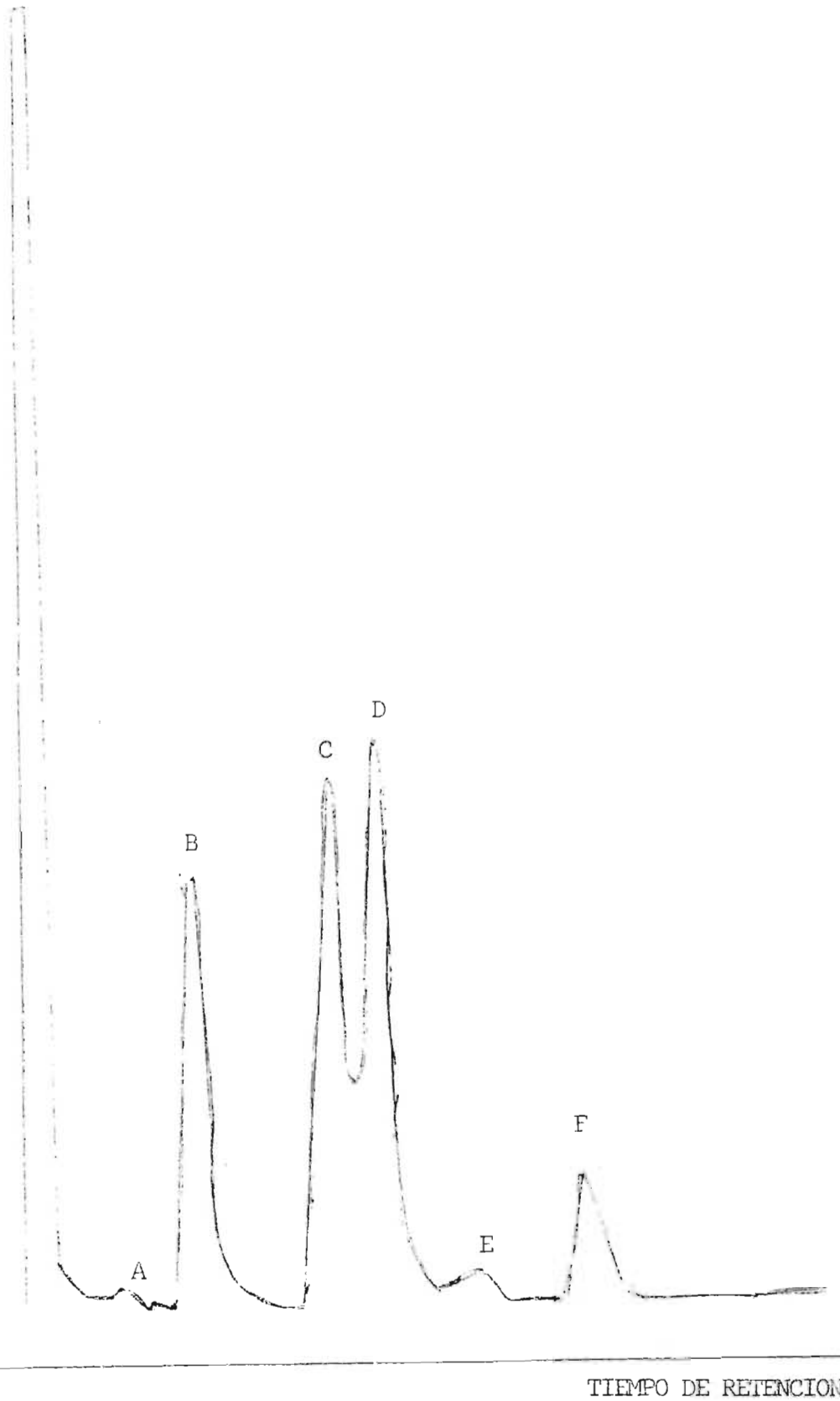

FIG.4.- Separación por C.G.L. ésteres metílicos de Theobroma cacao.

Significado: Ac.mirístico; B=Ac. Palmítico; C = Ac Esteárico

D = Ac. Oléico; E = Ac. Linoléico; Ac.Linolénico =(F)

FIGURA 5

Separación por cromatografía de gases de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de Passiflora edulis. El instrumento usado fué un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard modelo 402, - equipado con detector de llama de ionización, columna de vidrio de 6 pies de largo y 1/8 de pulgada de diámetro, empacada con - chromosorb W (80-100 mallas) cubierta con SE-30 al 10%. Condiciones: presión de nitrógeno =32; presión de oxígeno=25; presión de hidrógeno=10. Temperatura de la puerta de inyección 280°C; -- temperatura de la columna 260°C; temperatura del detector 270°C; atenuación 8, rango 10^{8} , velocidad del papel 0.25 pulgadas por minuto.

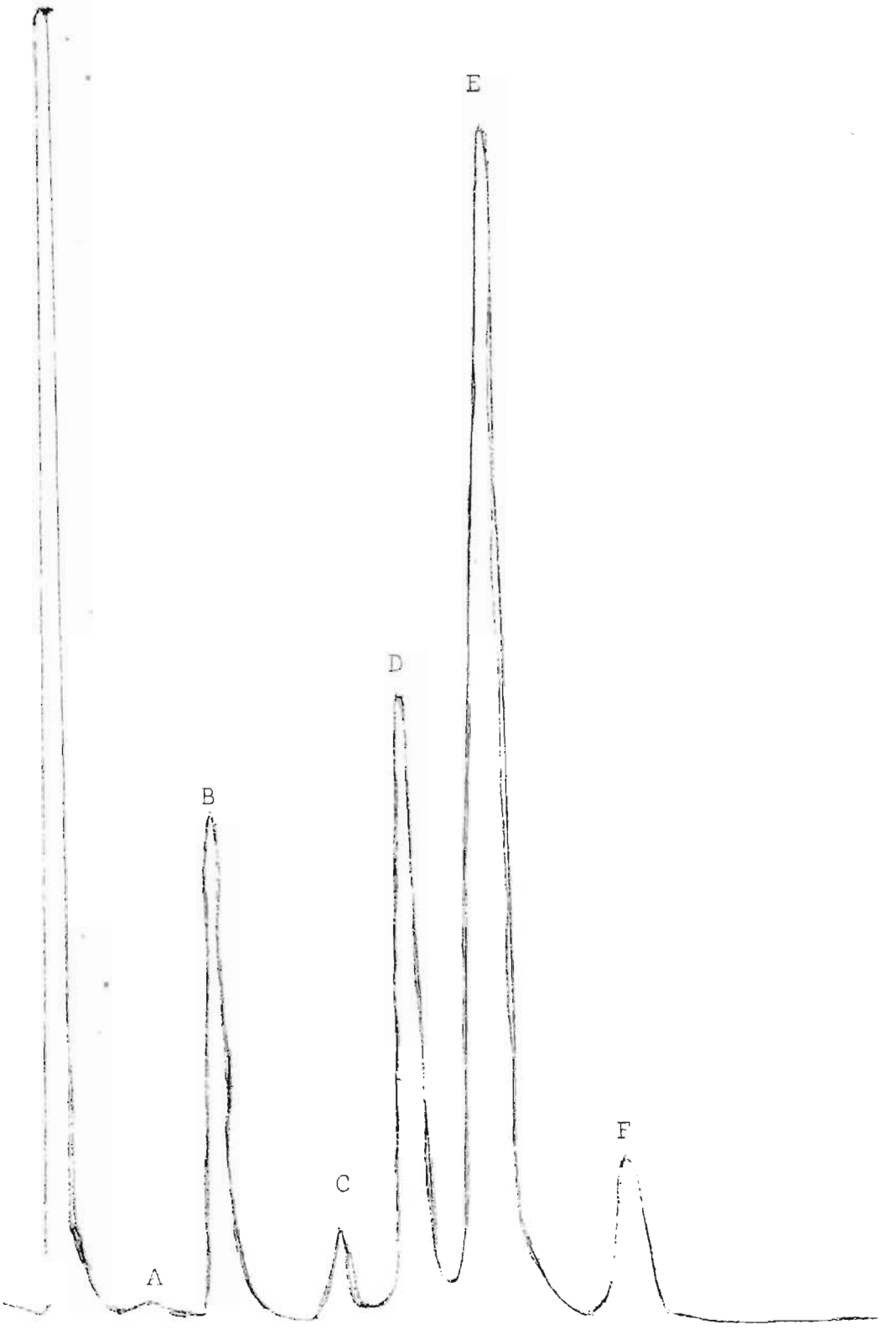

FIG.5.- Separación de ésteres metílicos de Passiflora edulis por cromatografía de gases.

Significado: A=Acido mirístico; B= Ac.palmítico; C= Ac Esteárico; D= Ac. Oleíco; E= Ac.Linoléico, F= Ac. Linolénico.

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FIGURA 6

Separación por cromatografía de gases de los ésteres metílicos de los ácidos grasos en la semilla de Gossypium herbaceum (algodón). El instrumento usado fué un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard modelo 402, equipado con detector de llama de ionización , columna de vidrio de 6 pies de largo y 1/8 de pulgada de diámetro, empacada con cromosorb W (80-100) mallas, cubierta con SE-30 al 10%. Condiciones: presión N_2 = 32; presión O_2 = 25; presión H_2 =10.

Temperatura de la puerta de inyección 280° C; temperatura de la columna 250°C; temperatura del detector 270°C; atenuación 8; rango 10^8 ; velocidad del papel 0.25 pulgadas por minuto.

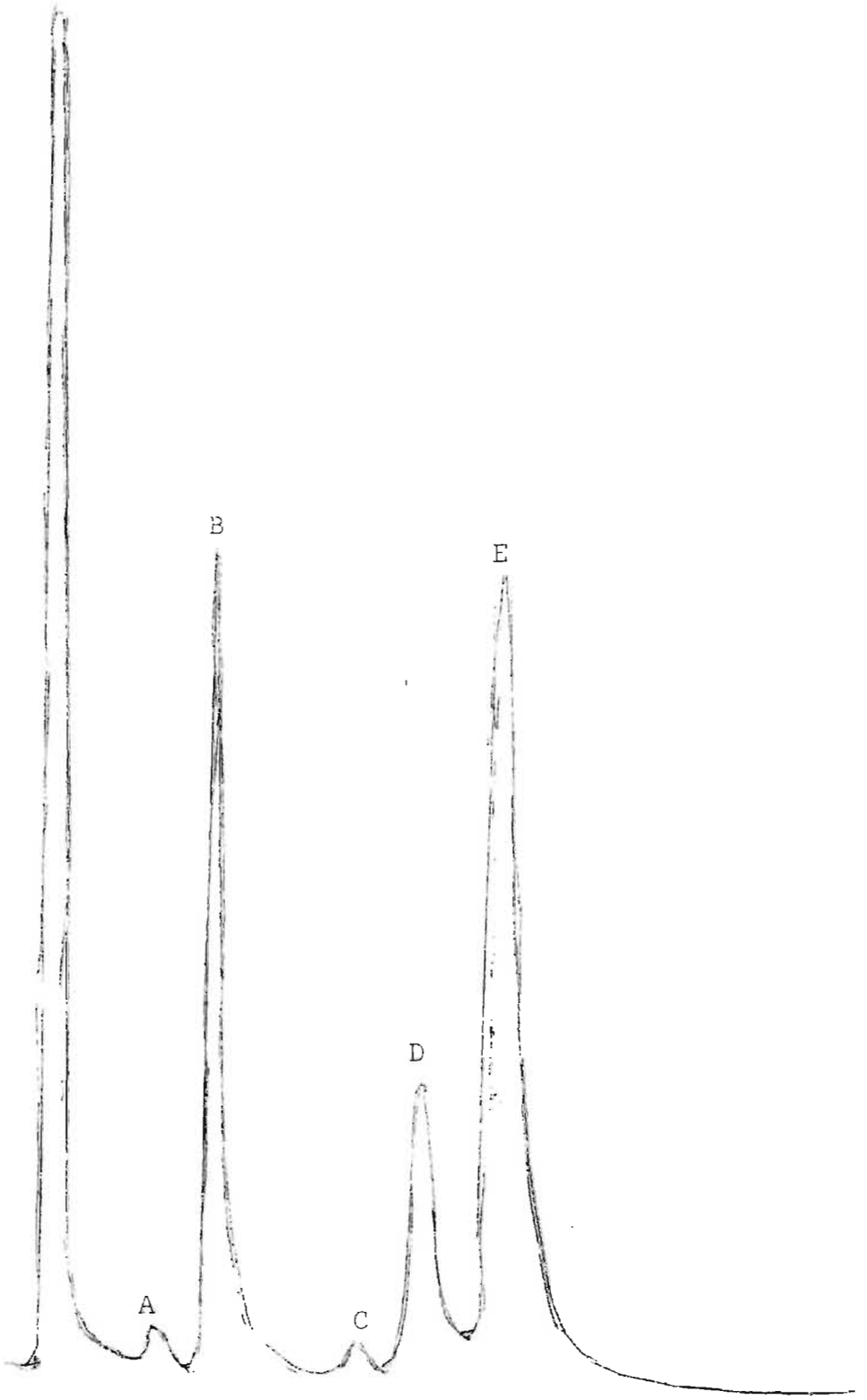

FIG. 6.- Separación por C.G.L. de ésteres metílicos de semilla de algodón.

Significado: A= Ac. mirístico; B= Ac.Palmítico; C =Ac. Esteárico

D= Ac.Oleico; E = Ac. Linoleico; F= Ac.Linolénico.

FIGURA 7

Separación por cromatografía de gases de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de Equisetum giganteum (planta completa). El instrumento usado fué un cromatógrafo Hewlett-Packard modelo 402, equipado con detector de llama de ionización, columna de vidrio de 6 pies de largo y 1/8 de pulgada de diámetro, empacada con gromosorb W (80-100) mallas, cubierta con SE-30 al 10%.

Condiciones: presión N_2 = 32 ; presión O_2 =25 presión H_2 =10. Temperatura de la puerta de inyección 260°C; temperatura de la columna 250°C; temperatura del detector 270°C; atenuación 8, rango 10^8 ; velocidad del papel 0.25 pulgadas por minuto.

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

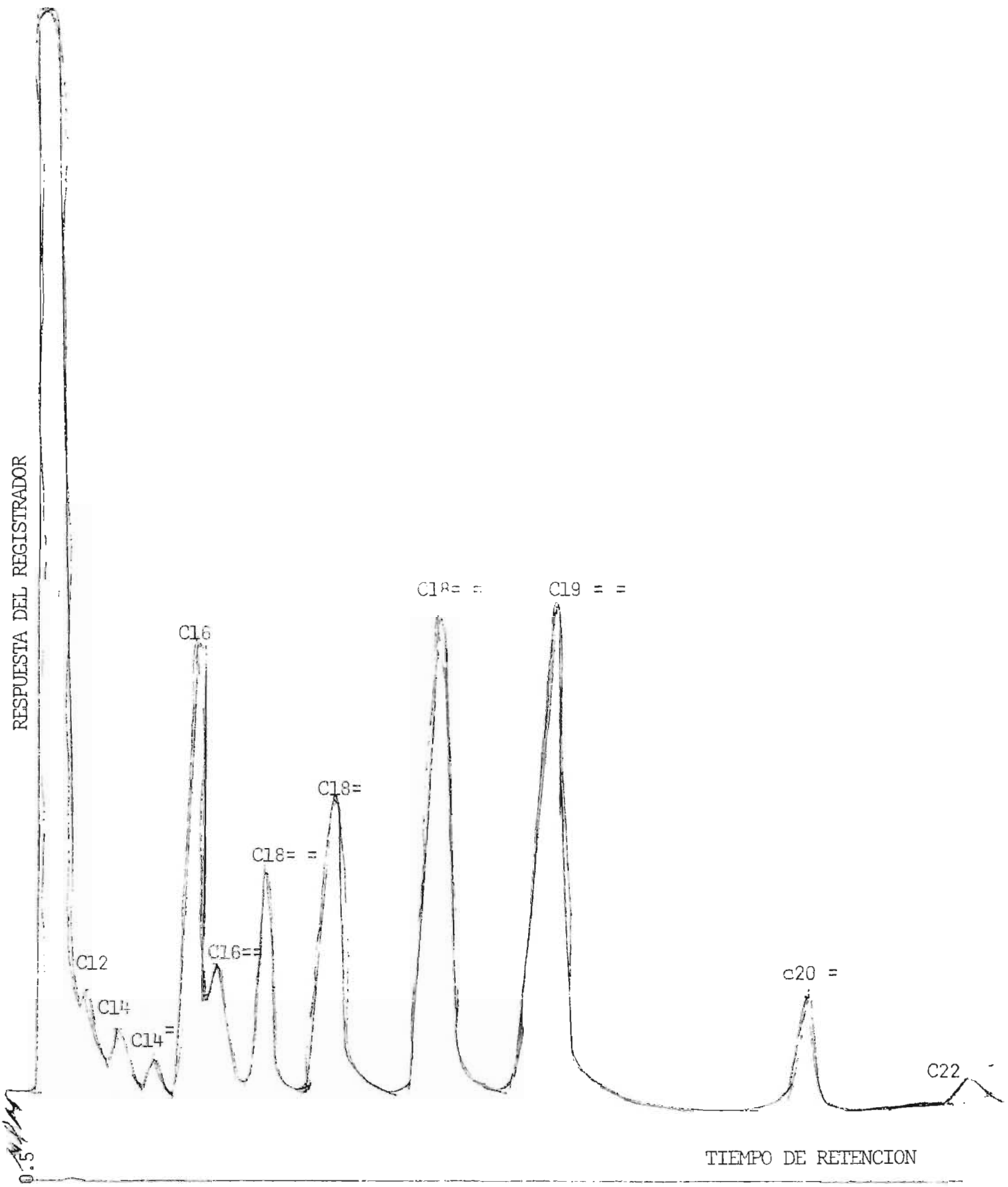

Fig.7.- Separación por cromatografía Gas-líquido de ésteres metílicos de Equisetum giganteum.

FIGURA 8

Separación por cromatografía de gases de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de Salvinia natans (planta completa)

El instrumento usado fué un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard modelo 402, equipado con detector de llama de ionización, columna de vidrio de 6 pies de largo y 1/8 de pulgada de diámetro, empacada con gromosorb W (80-100 mallas) cubierta con SE-30 al 10%.

Condiciones: presión N_2 =32 ; presión O_2 = presión H_2 =10. Temperatura de la puerta de inyección 280 C. temperatura de la columna 250 C; temperatura del detector 270 C; atenuación 8; rango 10^8 ; velocidad del papel 0.25 pulgadas por minuto.

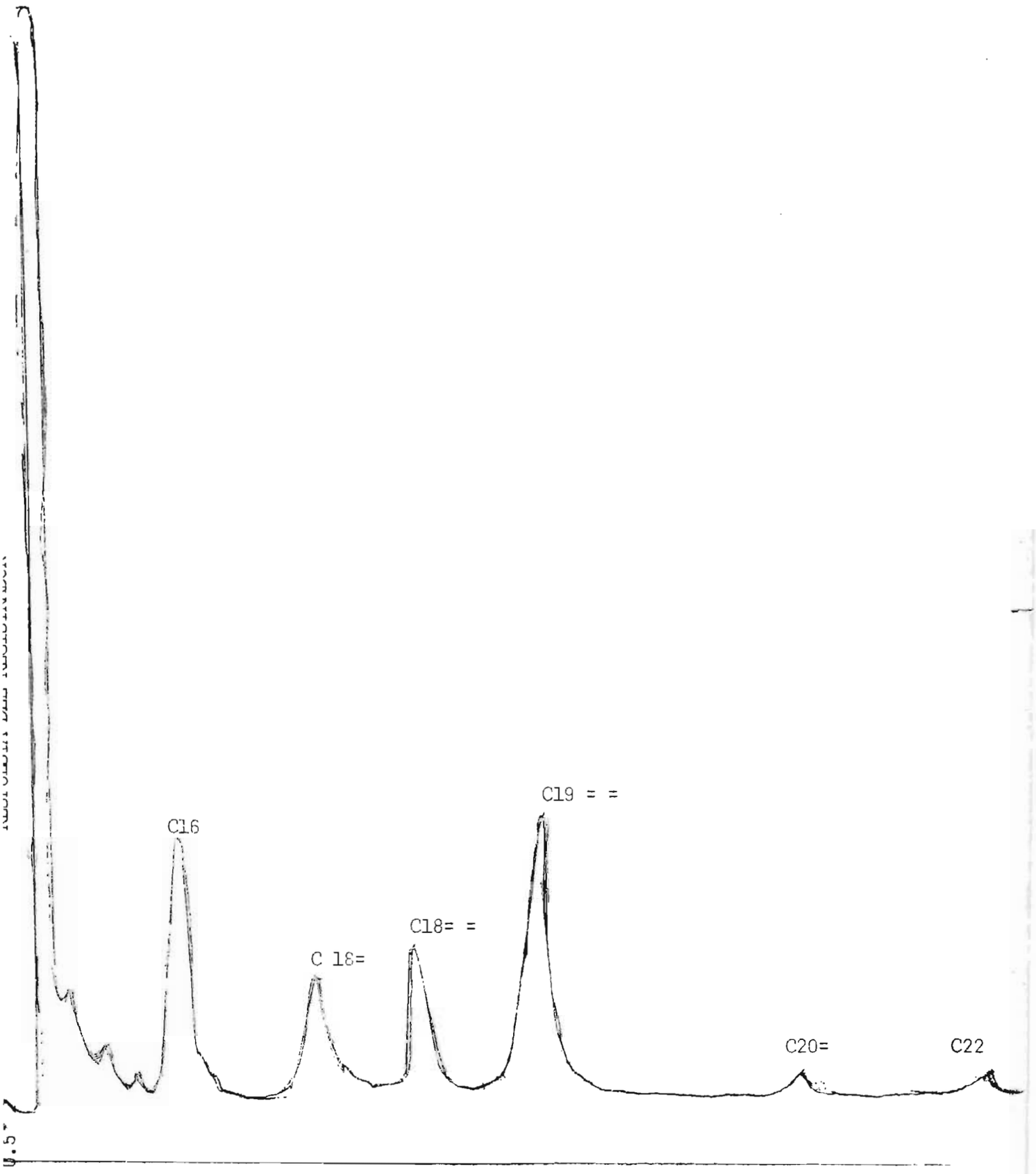

Fig.8.- Separación por cromatografía Gas-líquido de ésteres metílicos de Salvinia natans

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FIGURA 9

Separación por cromatografía de gases de los ésteres metílicos de ácidos grasos patrones, usando un cromatógrafo Hewlett Packard modelo 402, equipado con detector de llama de ionización, columna de vidrio de 6 pies de largo y 1/8 de pulgada de diámetro, empacada con cromosorb W (80-100 mallas), cubierta con SE-30 al 10%.

Condiciones: presión N_2 =32 ; presión O_2 =25; presión H_2=10; temperatura de la puerta de inyección 280° C; temperatura de la columna 250°C temperatura del detector 270° C; atenuación 8; rango 10^8 ; velocidad del papel 0.25 pulgadas por minuto.

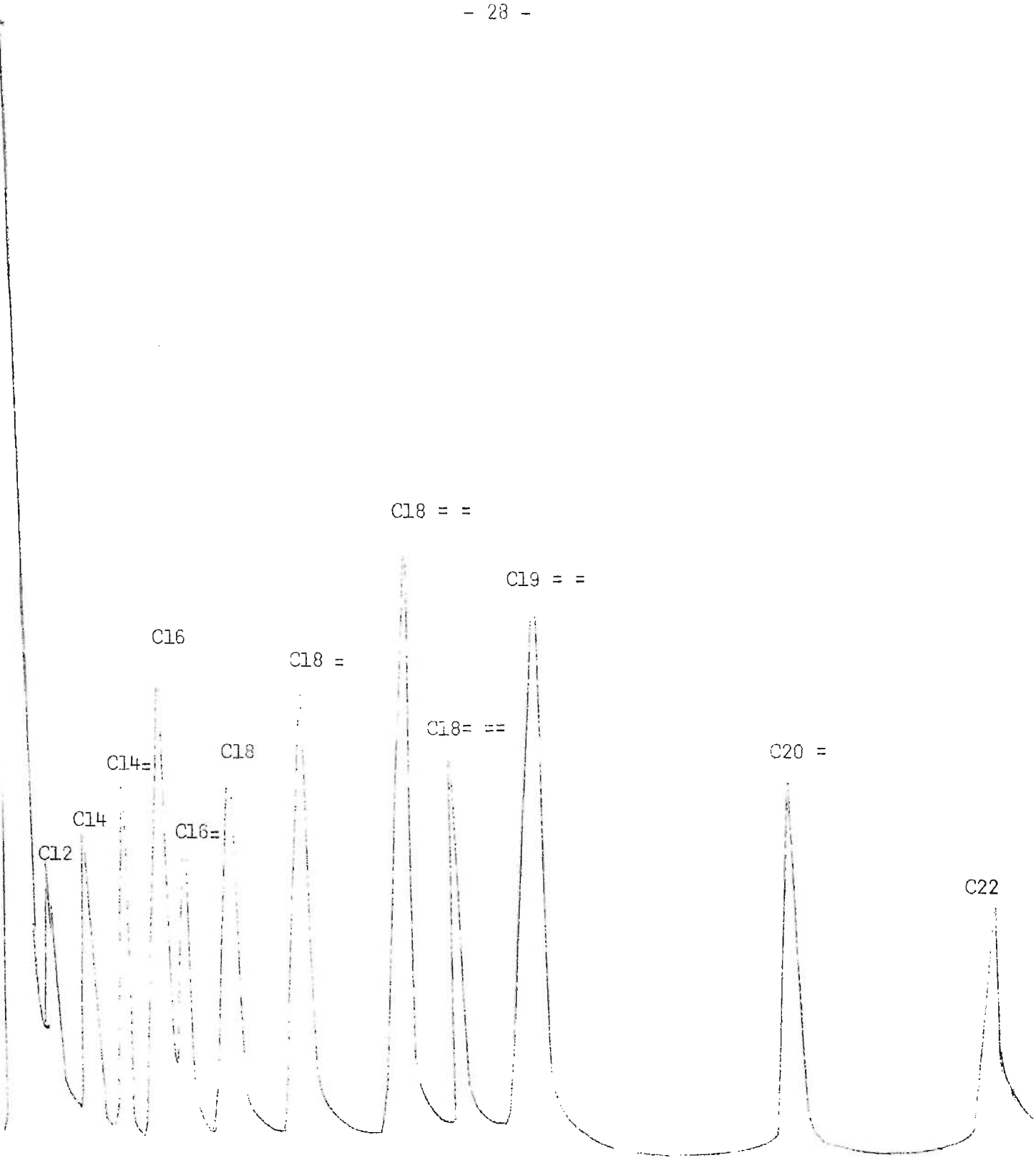

FIG. 9.- Separación de ésteres metílicos de ácidos grasos patrones por cromatografía de gases.

FIGURA 10

Cromatografía Gas-Líquido de ésteres metílicos de P.G. como compuesto de las semillas de Theobroma cacao .

El instrumento usado fué un cromatógrafo Hewlett-Packard modelo 402, equipado con detector de llama de ionización, columna de vidrio de 6 pies de largo y 1/8 de pulgada de diámetro, empacada con cromosorb w (80-100 mallas), cubierta con SE-30 al 10%.

Condiciones; presión de N_2 =32 , presión de O_2 =25 ;presión de H_2 = 10 ; temperatura de la puerta de inyección 280°C; - temperatura de la columna 250°C; temperatura del detector 270°C; atenuación 8 ; rango 10^8 ; velocidad del papel 0.25 pulgadas por minuto.

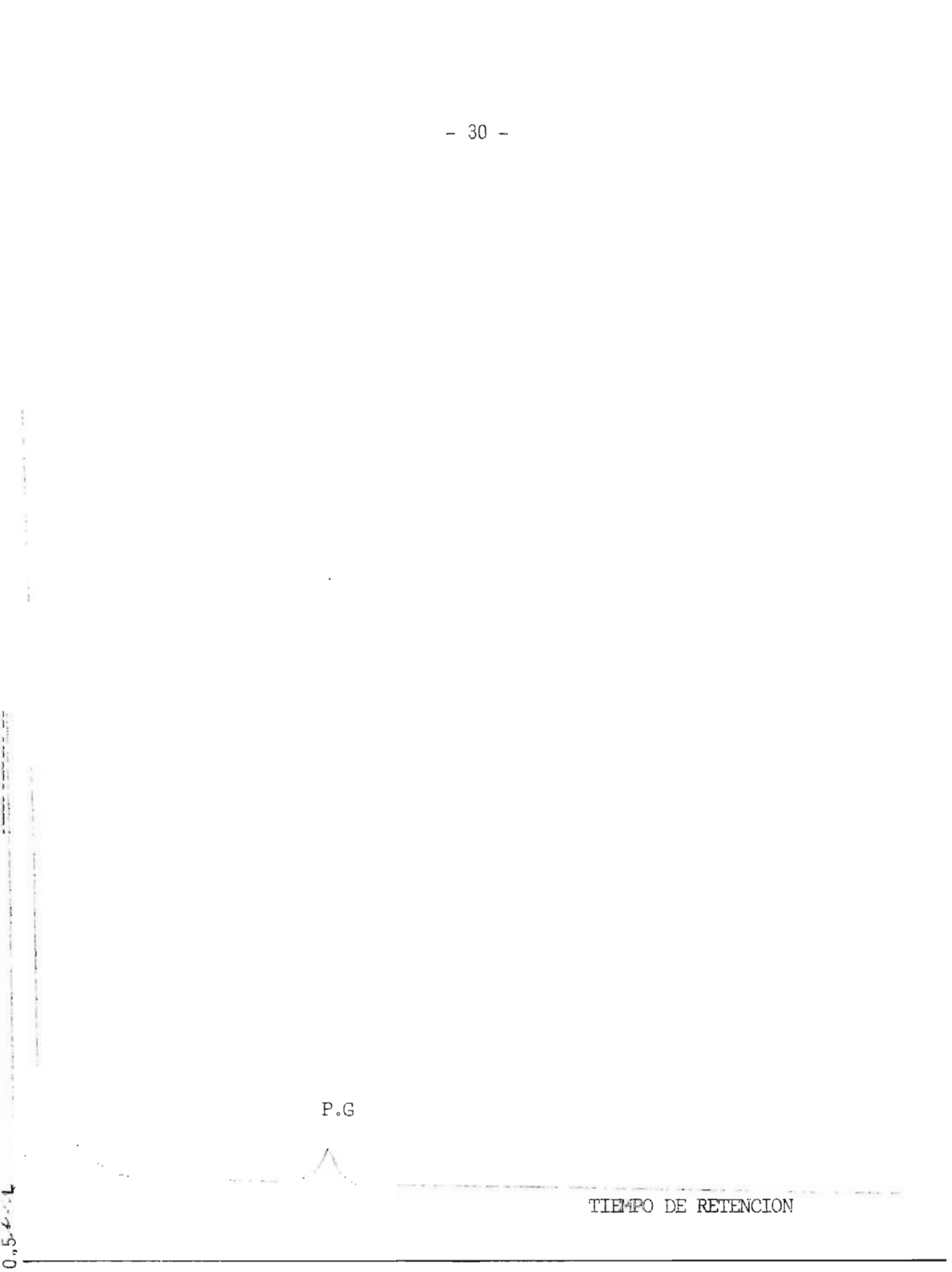

FIG.10.- Cromatografía de gases de ésteres metílicos de prostaglandinas como compuesto de las semillas de Theobroma cacao .

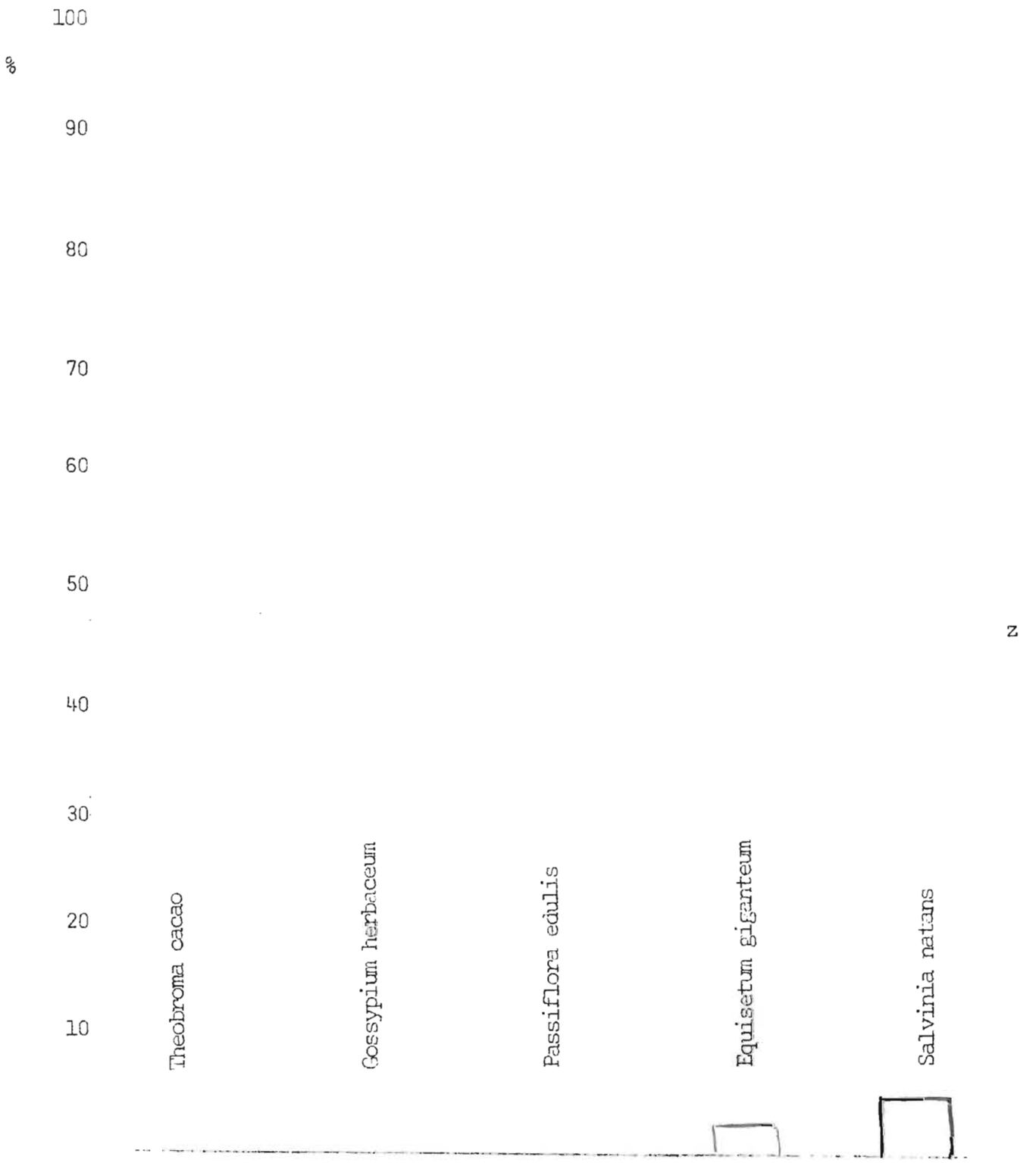

FIG.11.- Distribución del ácido C12 en varias especies de plantas.

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

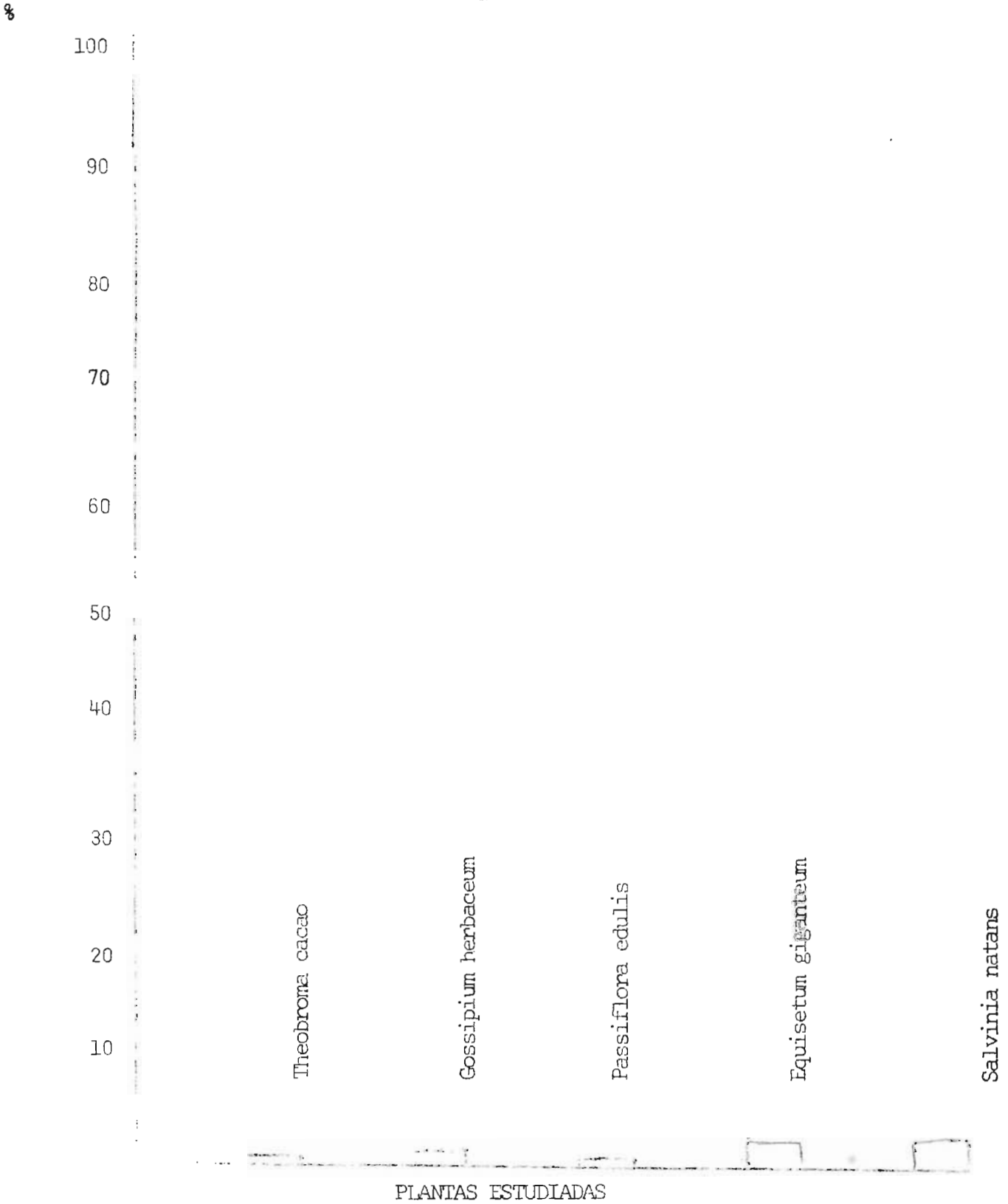

FIG.12.- Distribución del ácido C14 en varias especies de plantas

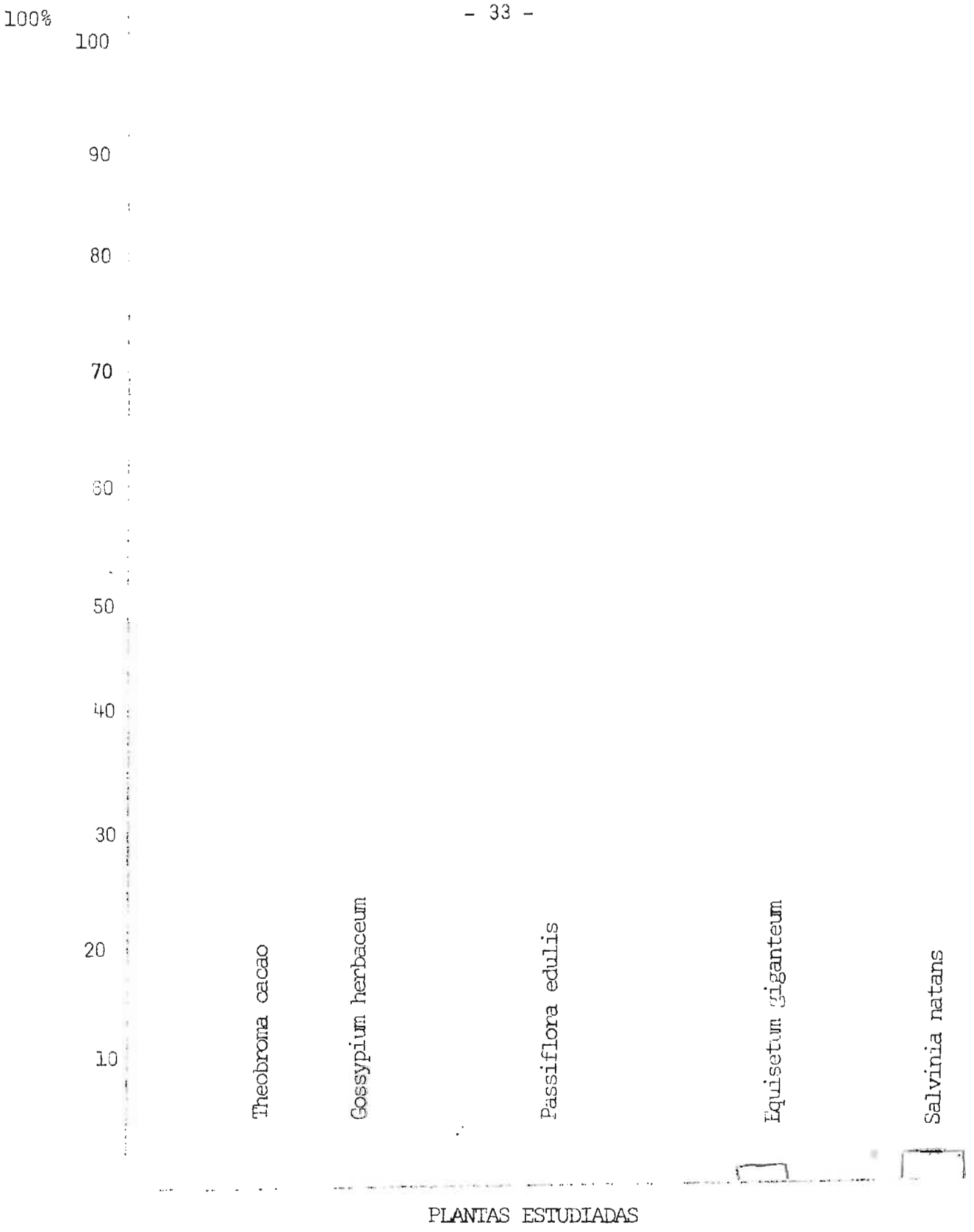

FIG.13.- Distribución del ácido C 14 : 1 en varias especies de plantas.

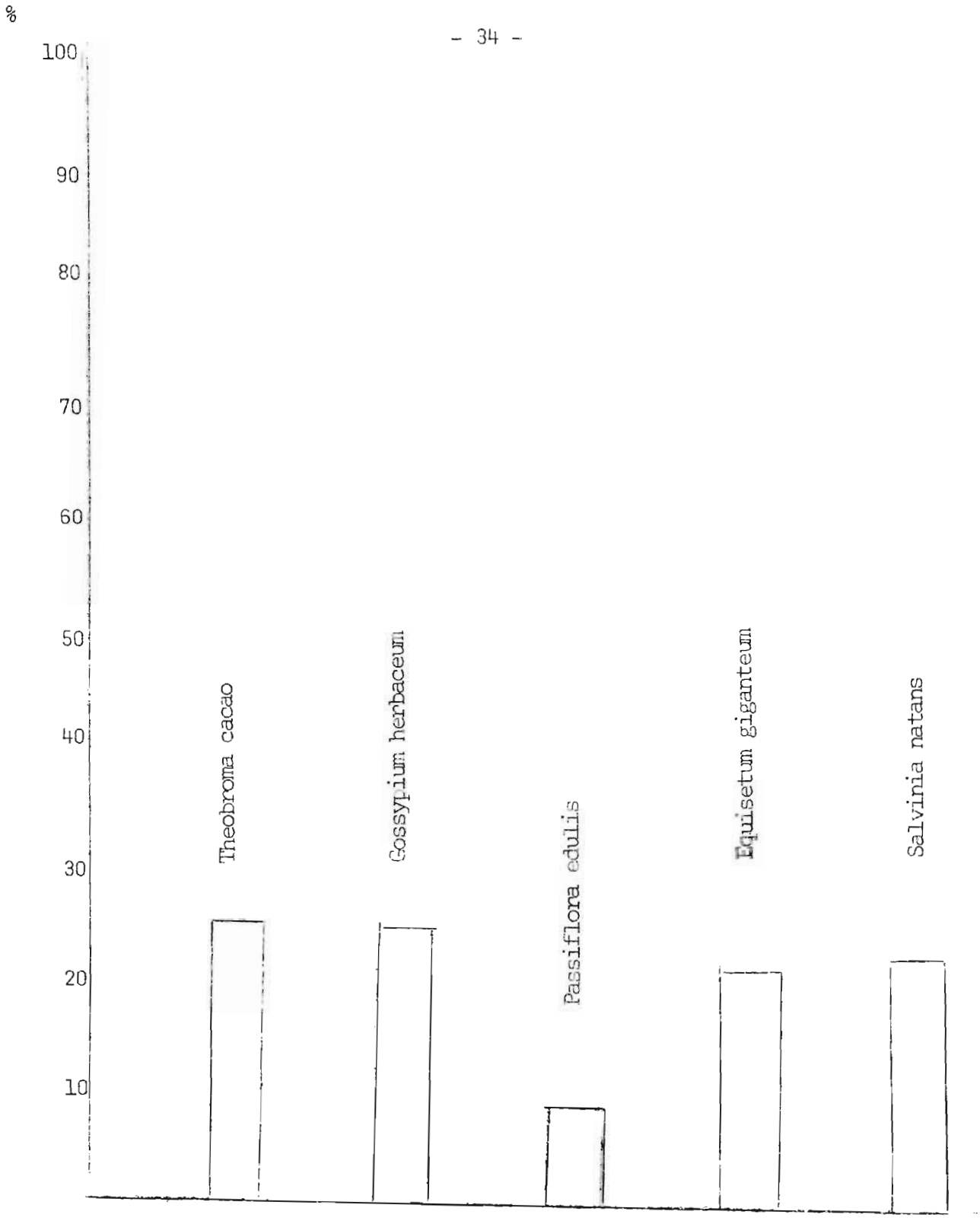

FIG. 14.- Distribución del ácido C 16 en varias especies de plantas.

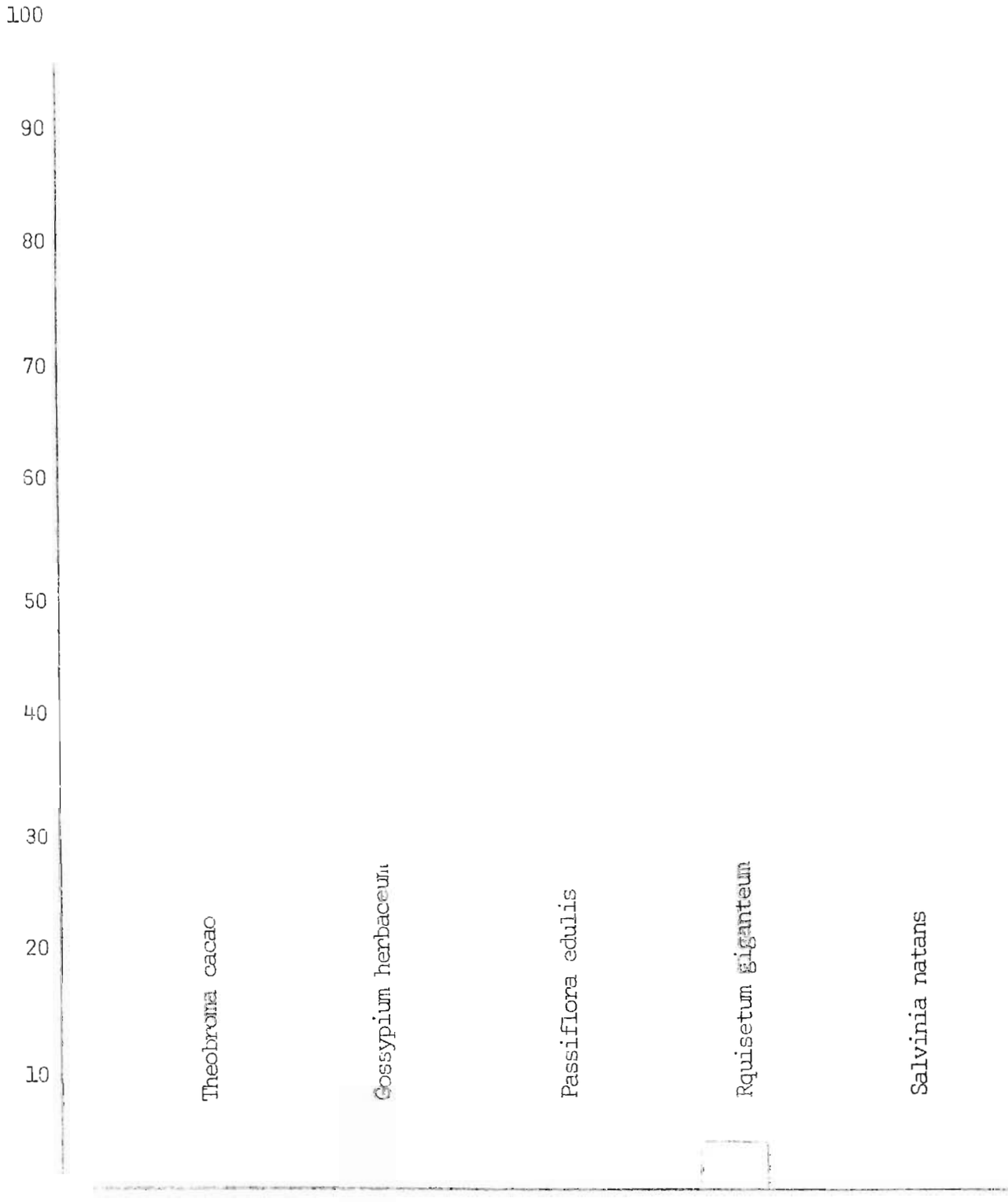

FIG.15.- Distribución del ácido C 16:2 en varias especies de plantas.

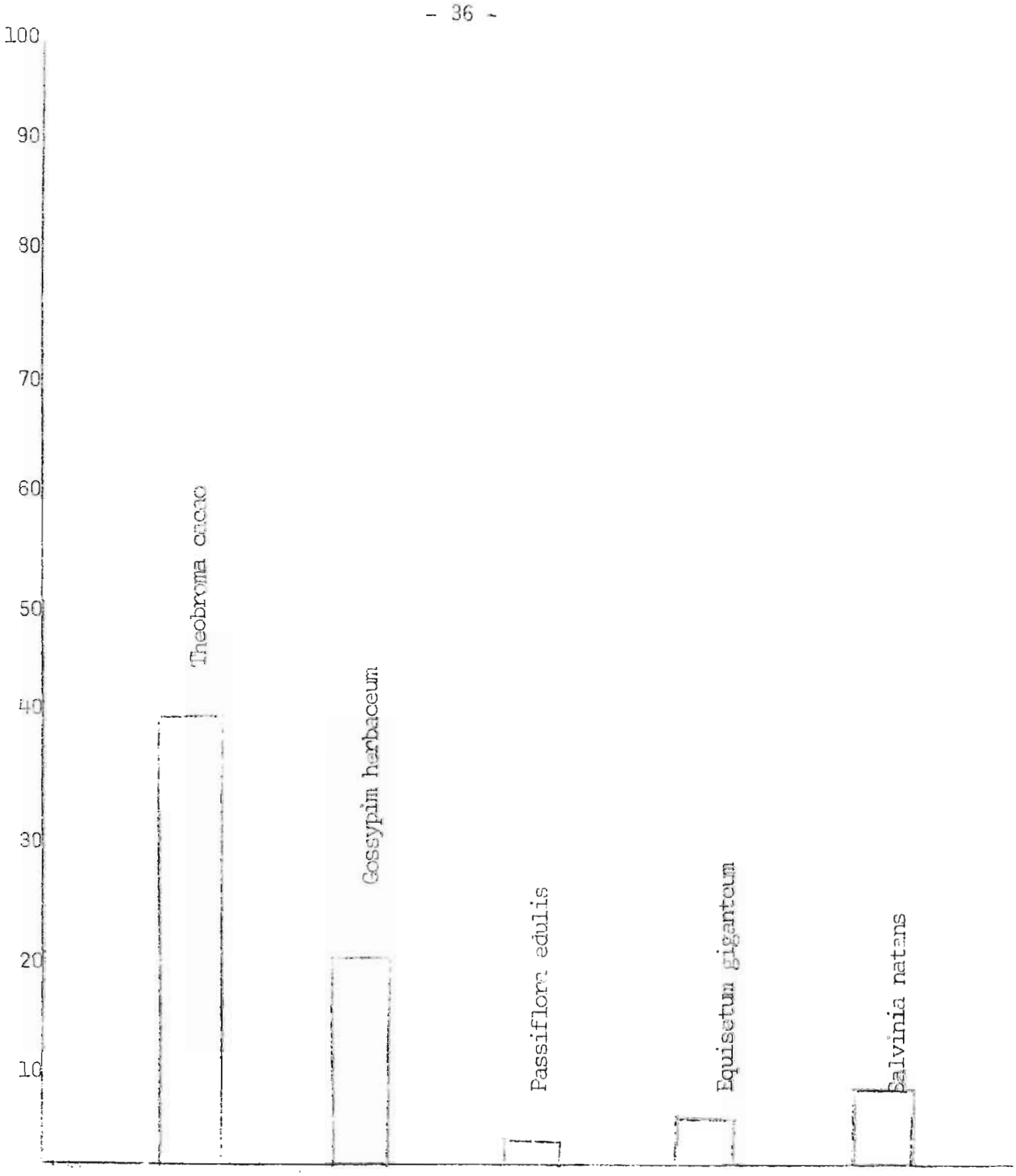

FIG.16.- Distribución del ácido C 18 : 1 en varias especies de plantas

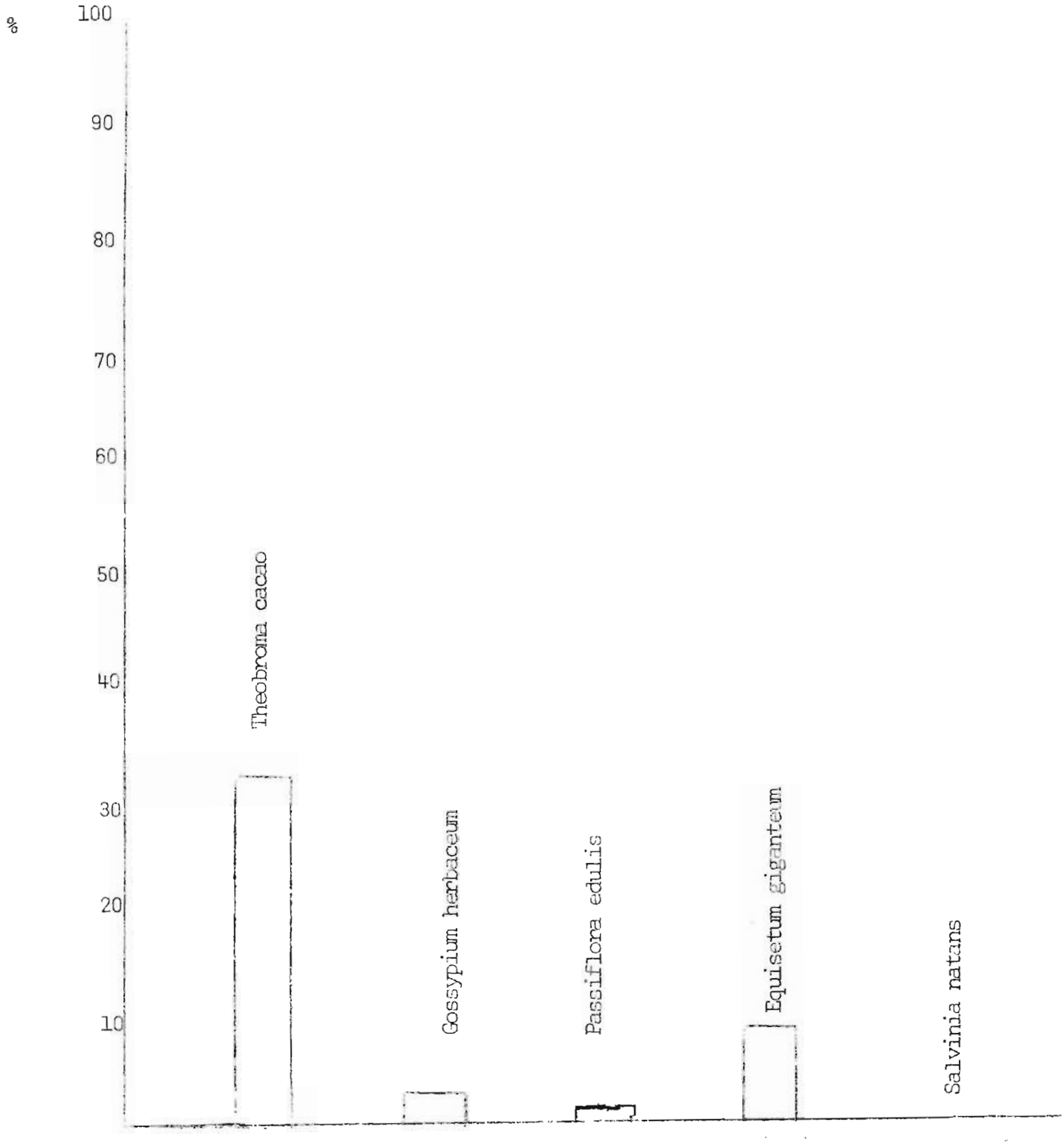

FIG.17 .- Distribución del ácido C 18 en varias especies de plantas.

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

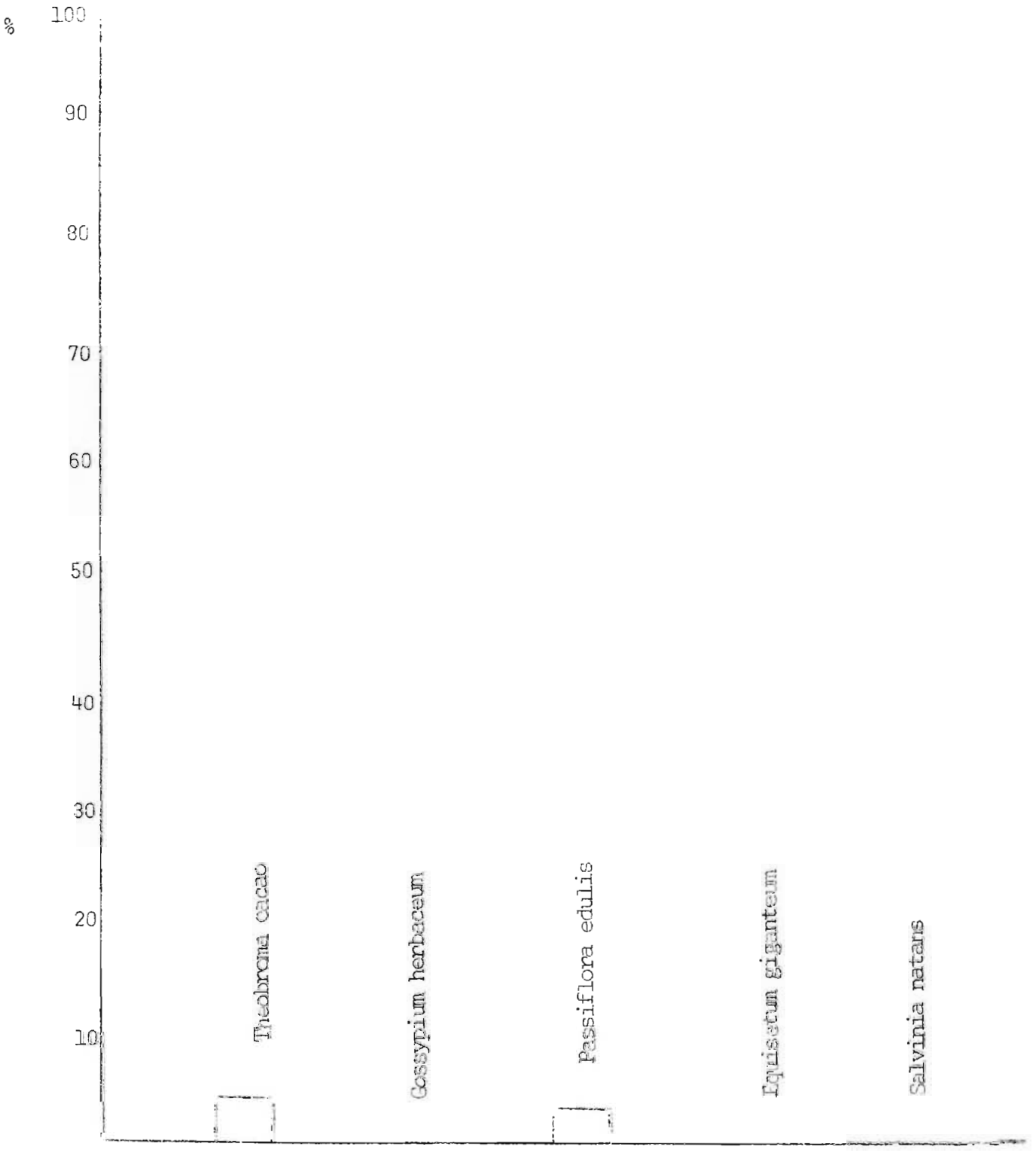

FIG. 18.- Distribución del ácido C18:3 en varias especies de plantas

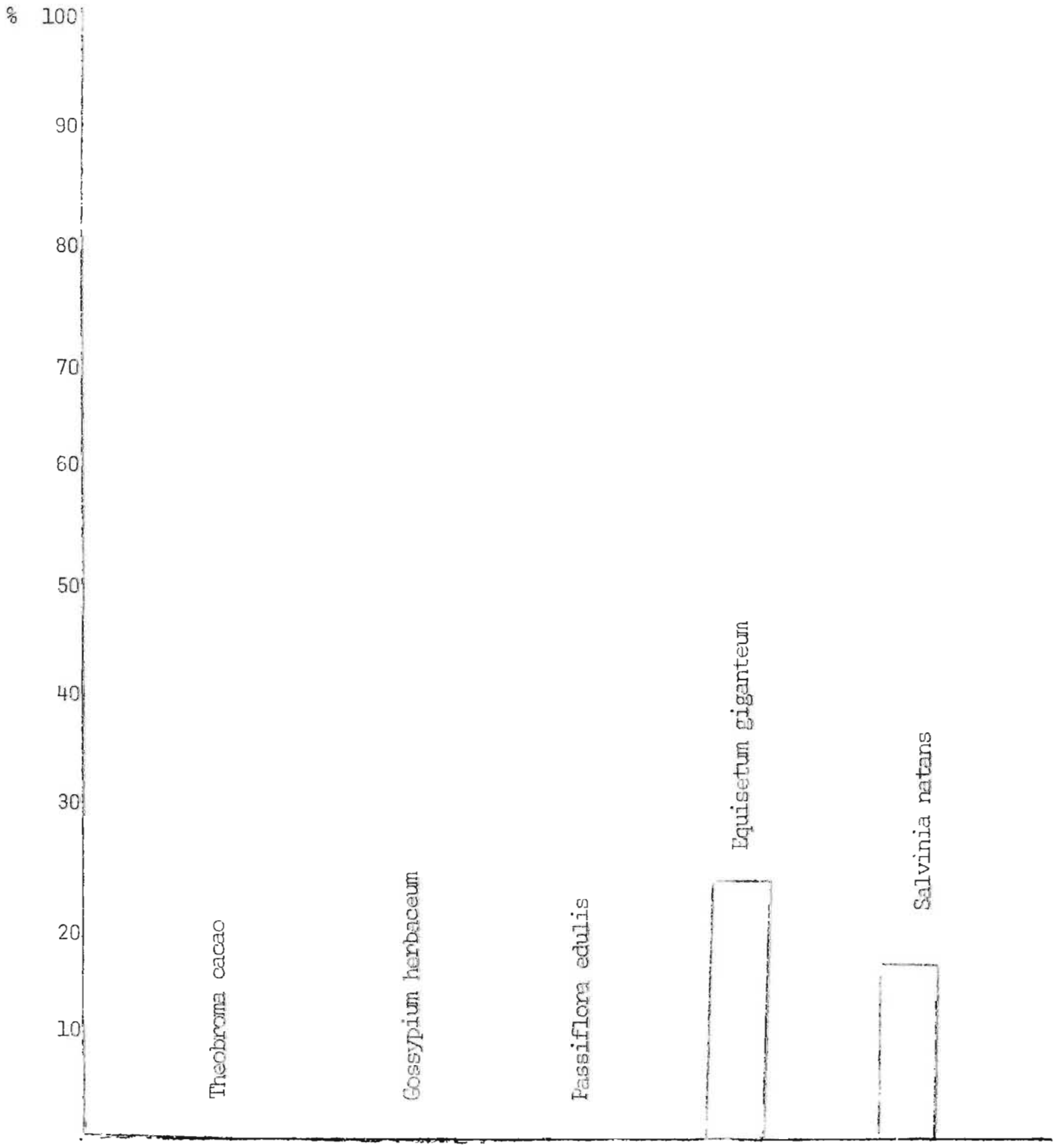

FIG.20.- Distribución del ácido C19:2 en varias especies de plantas

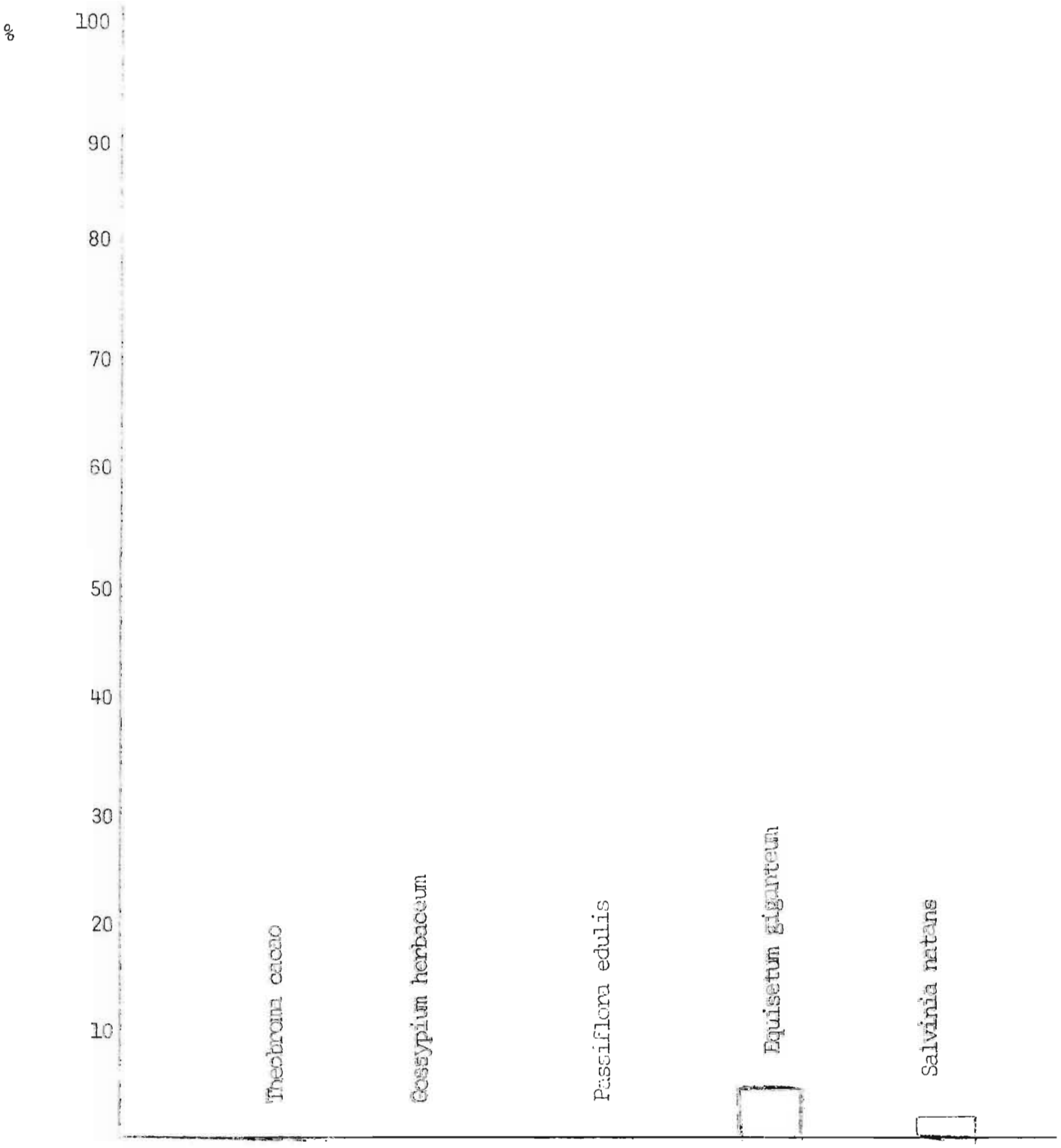

FIG.22.- Distribución de ácido C20:1 en varias especies de plantas

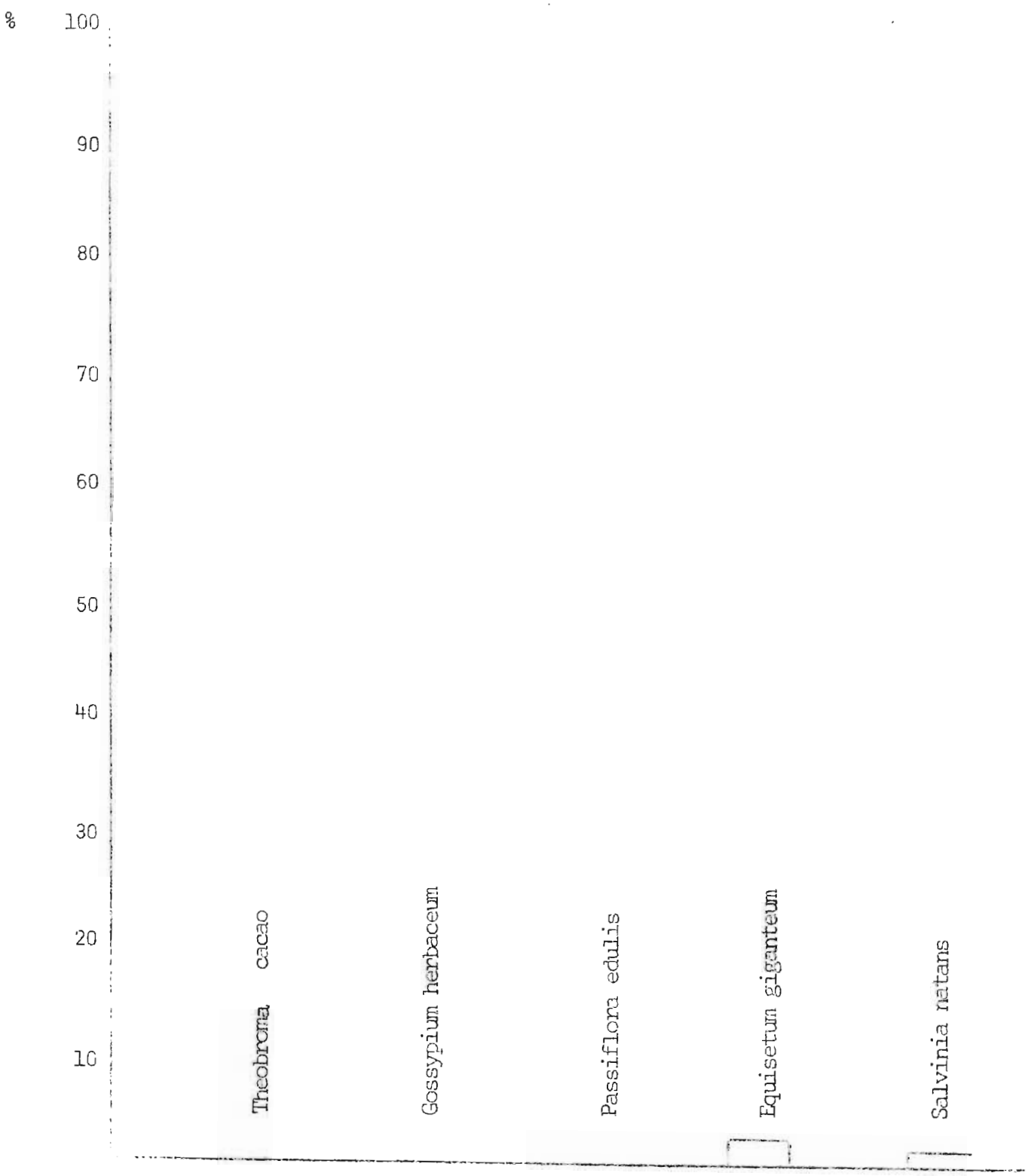

FIG.23.- Distrubución del ácido C22 en varias especies de plantas.-

T A B L A No.1

Valores de Rf para prostaglandinas patrones y prostaglandinas como -- compuesto en varias especies de plantas.

M U E S T R A	Rf
PGA	0.767
PGB	0.764
PGE_1	0.547
PGE_2	0.540
PGF_1	0.363
PGF_2	0.360
Theobroma cacao(semillas)	0.360
Gossipium herbaceum (semillas)	0.360
Passiflora edulis (semillas)	- - - -
Equisetum giganteum (planta completa)	- - - -
Salvinia natans (planta completa)	- - - -

Eluyente: cloroformo-metanol-ácido acético (18: 2: 1)

Revelador: ácido fosfomolíbdico 10%, HCl 5% en alcohol

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

T A B L A 2

M U E S T R A	Espectro U.V. (absorbancia μ m)
Theobroma cacao	208
Gossypium herbaceum	216
Passiflora edulis	221
Equisetum giganteum	265
Salvinia natans	261

Prostaglandinas Patrones

PGF	210
PGE	211
PGA	278

T A B L A 3

COMPOSICION DE LIPIDOS Y VARIAS ESPECIES DE PLANTAS.-

NOMBRE	PARTE DE LA PLANTA	LIPIDOS TOTALES % EN EL PESO DEL MATERIAL FRESCO	% DE ACIDOS GRASOS LIBRES
Cacao (Theobroma cacao)	Semillas	38	0.58
Algodón (Gossypium herbaceum)	Semillas	36	0.85
Granadilla Maracuyá (Passiflora edulis)	Semillas	25	0.49
Cola de caballo (Equisetum giganteum)	Completa	4.1	0.84
Salvinia natans	Completa	3.36	1.68

T A B L A 4

Composición
Acidos grasos

PARTE DE LA PLANTA	NOMBRE	ACIDOS GRASOS TOTALES (mg/g)	% RELATIVO DE LA COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS		
			saturados	insaturados	ciclopentênicos.
(1) semillas . .	cacao(Theobroma cacao)	380	55.5	44.3	0.04
(2) semillas . .	algodón (Gossypium herbaceum)	360	37.3	62.4	- -
(3) semillas . .	granadilla maracuyá(Passiflora edulis)	25	11.8	87.3	0.01
(4) Planta completa	cola de caballo (Equisetum giganteum	41	34.1	55.4	0.05
(5) Planta completa	Salvinia natans	12	31.6	28.8	0.05

T A B L A 5

Distribucion de ácidos grasos en varias especies de plantas

N O M B R E	P A R T E	% Relativo de la composición de ácidos grsos				
		C12	C14	$C14^{=}$	C 16	$C16^{==}$
Theobroma cacao	semillas		0.47	- -	25.5	- -
Gossipium herbaceum	semillas	- -	1.58	- -	25.0	- -
Passiflora edulis	semillas	- -	0.4	---	9.8	- -
Equisetum giganteum	planta completa	2.0	2.0	1.3	21.0	3.5
Salvinia natans	planta completa	4.1	2.5	2.62	23.75	- -

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

T A B L A 6

Distribución de ácidos grasos en varias especies de plantas

N O M B R E	P A R T E	% relativo de la composición de ácidos grasos			
		C18	$C18^{=}$	$C18^{==}$	$C18^{===}$
Theobroma-cacao	semillas	30.12	39.40	1.20	3.70
Gossipium herbaceum	semillas	2.71	18.90	51.70	- - -
Passiflora edulis	semillas	1.60	3.30	70.80	3.20
Equisetum giganteum	planta completa	9.50	5.00	23.00	- - -
Salvinia natans	planta completa	---	7.50	8.75	- - -

T A B L A 7

Distribución de ácidos grasos en varias especies de plantas

N O M B R E	P A R T E	% relativo de la composición de ácidos grasos		
		$C19^{=}$	$C20^{=}$	C22
Theobroma cacao	semillas	- - -	- - -	- - -
Gossypium herbaceum	semillas	- - -	- - -	- - -
Passiflora edulis	semillas	- - -	- - -	- - -
Equisetum giganteum	planta completa	23.60	5.00	2.10
Salvinia natans	planta completa	16.25	1.26	1.25

RESULTADOS

Extracción, aislamiento e identificación de prostaglandinas:

Para el estudio de las prostaglandinas y de compuestos relacionados se utilizaron los materiales vegetales como semillas de Theobroma cacao, pasiflora edulis (flavocarpa) y Gossypium Herbaceum .La planta completa de Equisetum arvense y Salvinia natans.

De los dos métodos seguidos para la extracción se descartó el de la extracción inicial con agua por extraer en menor porcentaje, a pesar de que no presenta el inconveniente de la extracción de pigmentos que en el método en el cual la extracción inicial se hace con etanol logrando una precipitación de las proteínas, quedando de esta manera en el sobrenadante extractor los compuestos polares y ácidos grasos.

Del proceso de extracción se lograron separar las impurezas con solución tampón 0.02 M de fosfatos a ph 8 y la separación de los ácidos grasos no substituidos de estructura mas polar que las prostaglandinas que permanecieran en el sobrenadante acetónico después de centrifugar.

Todos los extractos crudos de los materiales empleados presentaron pigmentos, en especial los de Salvinia y Equisetum.

Para el fraccionamiento y purificación de los extractos crudos se usaron columnas de sílica gel G lavada con ácido; ácido sílico y columnas empacadas en la parte superior con carbón activo que ayudaron a una purificación parcial de las prostaglandinas al eluir más rápido algunos pigmentos en las primeras fracciones de ciclo hexano y quedarse retenidos otros pigmentos en la columna.

La cromatografía en capa fina fue muy útil desde los puntos de vista de

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

que permitió mayor purificación en las fracciones al emigrar los pigmentos más rapidamente y el de permitir el aislamiento de PG parcialmente puras al levantarse la franja de sílica gel conteniendo las prostaglandinas como compuestos y extrayéndolas por maceración con metanol y filtración consecutiva.

Para la separación de los P.G. dependiendo del grupo a que pertenecen - se probaron diferentes sistemas de solventes, dando mejor resultado el de cloroformo:metanol:ácido acético (18:2:1). Los resultados óptimos de separación entre los diferentes grupos se logró con placas impregnadas con Nitrato de plata al 1%

Los corrimientos de los diferentes grupos de prostaglandinas presentaron la siguiente características: las PG deshidratadas en el anillo -- tienen el mayor RF, mientras que los otros grupos de P.G. variaron su corrimiento dependiendo de los grupos hidróxilos presentes (a mayor - número de grupos DH presentes es menor el RF). Es decir que el corri--- miento de las PGA fue mayor que para las PGE y PGF siendo las de este último grupo las que presentaron una menor migración.
Por comparación entre los RF. de los extractos parcialmente purificados con prostaglandinas patrones, se detectó la PGF_2 en las semillas de -- Theobroma cacao(fig. 2)No se detec tó ningún grupo de prostaglandinas compuestos en las semillas de passiflora edulis(flavocarpa), Gossypium-- herbaceum, ni en la planta completa de equisetum giganteum y salvinia - natans.

Para la identificación fue necesaria la purificación de los extractos --

parcialmente purificados por los métodos de cromatografía en capa fina, en columna y capa fina preparativa.

En Equisetum y Salvinia no se logró la eliminación total de pigmento por lo cual la lectura obtenida en el espectrofotómetro U.V es aproximado al valor real. Pero en el caso contrario presentaba la ventaja de poder detectar las PG en cantidades muy pequeñas.

Se observó un pico máximo de absorción a 208 mμ para las prostaglandinas $F_{2\alpha}$ como compuesto después del tratamiento alcalino.

El espectro infrarrojo se usó con el fin de determinar los grupos funcionales presentes en las prostaglandinas, además de comparar los espectros del extracto parcialmente purificado con el de las PG patrones.

En general se observaron picos máximos de absorción correspondiente a - los siguientes grupos: c=c 1590 cm^{-1} ; para el grupo c=o a 1730 cm^{-1} ; para los grupos OH a 3600 cm^{-1} ; CH_3 y CH_2 a 2900 y 2840 cm^{-1}.

El estudio espectroscópico al infrarrojo nos da las características de los grupos funcionales, para estos análisis no son completamente selectivos ya que otros compuestos pueden dar éstos máximos de absorción, - lo que dificulta la obtención de un buen espectro, sin embargo se confirmó la presencia de una posible prostaglandina como compuesto, pero para la determinación de la estructura se precisa de espectros de NMR y espectrometría de masas.

Las mismas especies fueron utilizadas para la investigación de lípidos y ácidos grasos, esto fue hecho siguiendo la línea de buscar precurso--

res de prostaglandinas como lo son el ácido γ linolénico y araquidónico Detectándose solo el ácido linolénico en las semillas de Theobroma ca-- cao . Esto nos sugiere que probablemente éste ácido haya sido biosinte tizado a partir de los ácidos oleico y linoleico que estuvieron presen tes en cantidades considerables los cuales son precursores de los áci-- dos araquidónico y linolénico. Y en los casos de que no se encontra-- ron es posible que se estén degradando ya que son fácilmente oxidables.

Es posible que en las plantas en donde no se encuentran prostaglandinas como compuestos no se encuentre el sistema enzimático prostaglandina - sintetaza. que transforma a PG el ácido linolénico, siendo precursor de este último el ácido linoleico.

Es interesante notar la gran cantidad de ácidos grasos insaturados en - las especies estudiadas, como la presencia de compuestos con un alto - número de átomos de carbono en las plants inferiores lo que puede ser - atribuido a las variadas funciones en las diferentes partes de la plan ta.

> "Los tejidos fotosintéticos de las membranas de las Bryophita y -- pteridophita tienen lípidos de composición similar a los que se - encuentran en las plantas superiores. Pero difieren considerablemen te en el contenido de ácidos grasos.
>
> Algunas variedades de helechos y musgos contienen cantidades substan ciales de ácidos grasos poli insaturados de 20 ó más carbonos, in-- cluyendo el ácido araquidónico.

Los ácidos grasos detectados no están en cantidades tales que nos indi-

que la presencia del sistema enzimático que participa en la biosínte - sis .

(31) Hitchock, C. y Nichols, B.W plant Lipid Biochemistry,p.74

Para la identificación de las prostaglandinas en cromatografía de ga-- ses en los extractos purificados se siguió el criterio de comparar el tiempo de retención de los ésteres metílicos de las prostaglandinas patrones con las de cada extracto.

Se nota que hay correlación entre la cromatografía en capa fina y la - cromatografía de gases ya que las prostaglandinas patrones eluyen en - el mismo orden, es decir que tienen menor tiempo de retención las PGA y PGB, tiempo intermedio las PGE y el mayor tiempo lo presentan las - PGF, dependiendo esto de la mayor o menor presencia de grupos hidróxi-- los.

La cromatografía de gases para los ésteres metílicos de Theobroma cacao (figura) presenta una separación del extracto crudo. Se nota que no está completamente puro por la presencia inicial de varios picos que - nos indican la presencia de otros compuestos, no interfiriendo estos en la identificación en base al tiempo de retención como PGF_1

En la extracción de lípidos que se llevó a cabo por el método descrito por Bligth y Dyer como en las otras diferentes extracciones realizadas se observó que el mejor rendimiento y condiciones óptimas de extracción se obtenían cuando se trata de formar una solución monofásica entre el sistema extractor(cloroformo-metanol) y el agua contenido en los teji-- dos y de la gran ventaja después de filtrar mayor cantidad de clorofor- mo y finalmente de agua destilada al filtrado para formar un sistema di fásico y permitir una separación lenta pero satisfactoria.

Para dicha extracción se usaron los materiales vegetales siguientes: Theobroma cacao semillas; Gossypium herbaceum semillas, Salvinia natans

planta entera; Granadilla maracuyá "Pasiflora edulis" semillas y Equisetum giganteum ,planta entera.

Para la estimación de lípidos totales se expresaron los resultados como porcentaje en base al peso del material vegetal fresco (tabla 3) en la que se puede ver que fluctuaron entre un 38% correspondiente al cacao y 3.36%en Salvinia.

El fraccionamiento de los lípidos por medio de cromatografía de gases nos indica la presencia de ácidos grasos libres, triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos y esteroles.

El porcentaje de ácidos grasos en forma libre reportado como porcentaje de ácido oleico fue:

En cacao 0.58%, en algodón 0.85%, en salvinia 1.68%, en maracuyá 0.49% y en equisetum 0.84%. El porcentaje más alto en plantas inferiores está de acuerdo con la opinión de algunos investigadores al decir que los tejidos vegetales de estas especies almacenan ácidos grasos libres sin -- transformarlos a alguna forma neutra, bajo ciertas condiciones que aún no se conocen claramente.

Análisis de los diferentes tipos ácidos grasos:

Estos se identificaron y agruparon según la clase a que pertenecieran - dividiéndolos en saturados, insaturados y ciclopentánicos (tabla 3)

El método ultravioleta es muy útil para la determinación de pequeñas -- cantidades de prostaglandinas, pero debido a que no se lograron fracciones completamente puras, principalmente en el caso de salvinia y equisetum se tuvo que eluir varias veces para obtener un extracto lo más incoloro posible, pero esto hizo difícil exponer precisamente el máximo de absorción.

D I S C U S I O N

Se tenía en mente al inicio de este estudio de varias muestras de origen vegetal al tratar de encontrar la presencia de prostaglandinas en plantas desarrolladas y con esa probabilidad en plantas menos desarrolladas , la búsqueda de los compuestos precursores en la síntesis de PG como son los araquidónico y linolénico, así como un estudio del -- contenido de lípidos y ácidos grasos en función de una posible aplicación industrial.

Se han encontrado prostaglandinas en pequeñas cantidades en casi todos los tejidos de mamíferos, pero no solo se comienzan estudios sistemáticos para tratar de encontrar estos compuestos en las plantas. Si se ha reportado un alto contenido del compuesto 15 sp PGA_2 en los corales - de plexaure homomalla, haciendo actualmente esfuerzos para tratar de determinar si el compuesto está presente en el coral ó en las algas - que se encuentran en simbiosis, si esto es posible ya que ha demostrado que muchas plantas inferiores como las algas tienen ácidos grasos con varias insaturaciones de 20 átomos de carbono ó más.

Un aspecto muy importante por considerar es que las prostaglandinas - y el sistema enzimático adenil ciclasa participan en la transforma-- ción del ATP a AMP cíclico en las terminaciones nerviosas de las ra-- tas habiendo una sociación entre las PG y la edenil ciclasa. Se ha informado que la adonil ciclasa actúa induciendo efectos hormonales en los tejidos de las plantas superiores y me han reportado en las plantas inferiores.

Esto nos hace suponer que si la adenil ciclasa esta asociada a las PG.y laprime

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

ra se encuentra en las plantas superiores e inferiores s posible encontrar las prostaglandinas es éstas.

En la extracción atanílica, el solvente fue concentrado a presión reducida y se trató con acetato de etilo agua para lograr una separación de los ácidos grasos insustituídos de los compuestos polares. El lavado con agua para pasar la fase de acetato de etilo de ácida a neutra tiene que hacerse con la menor cantidad de agua ya que no pierde parte de las PG en esta fase.

Los extractos crudos siempre quedaron pigmentados para lo cual se emplean diferentes tipos de columna y capa fina.
El extracto crudo de cacao presentó muchos pigmentos los cuales fueron eliminados en gran parte habiendo pasar las fracciones obtenidas de la columna de sílica gel G Acido o sea esas fracciones de ciclohexano-acetato de etilo ( ) por columna con silícico empacado con benceno- - acetato de etilo (55:45 aumentando después el gradiente de polaridad. Empleando acetato de metilo -benceno (90: 5).
Se logró la mayor pureza por cromatografía en capa fina preparativa, -- siendo un buen sistema para diferenciar las PG de un grupo respecto a - otro la cromatografía en capa fina impregnada con $AgHC_3$ y como ayudante

LISTA DE ABREVIATURAS

PG . . . . . Prostaglandinas

PGE_1 . . . . . 11,15-dihidroxi-9-oxo-13-trans ácido prostenoico.

PGE_2 . . . . . 11,15-dihidroxi-9-oxo-5-cis,13-trans ácido prostenoico

PGF_1 . . . . . 9,11,15-trihidroxi-13trans-=acido protenoico.

PGF_2 . . . . . 9, 11, 15-trihidroxi-5-cis,13 trans-ácido -- prostadienoico.

PGA_1 . . . . . 15-hidroxi-9-oxo-10,13 trans-ácido prostadienoico.

PGA_2 . . . . . 15-hidroxi-9-oxo- 6, 10 cis, 13 trans-ácido -- prostatrienoico.

PGB_1 . . . . . 15-hidroxi- 9-oxo -8(12), 13trans-ácido prostadienoico.

PGB_2 . . . . . 15-hidroxi- 9- 0x0-5, 8(12)-cis,13-trans ácido prostatrienoico.

PGF_3 . . . . . 9,11, 15- trihidroxi- 5,17- cis, 13-trans-ácido prostatrienoico.

PGE_3 . . . . . 11, 15, dihidroxi-9-oxo- 5-17-cis-13-tran-ácido prostatrienoico.

= . . . . . doble enlace

BIBLIOGRAFIA GENERAL

(1) Euler, U,S, Von- A Depressor substance in the vesicular gland J . Physiology, Lond. 34,21 p.(1935).

(2) Goldblalt, M.W. Properties of Human Seminal plasma. J.physiology Lond. 84, 208-218(1935).

(3) Euler, U.S. Von- On the Specific Vasodilating and plain Muscle -- Stimulating Substance From Accesory Genital Glands in Man and Cer-- tain Animals. -J.Physiology, Lond. 88, 213-234 (1936).

(4) Bergström, S. Science, 4 157-382 (1967).

(5) Bergström, S. Ryhage, R. Samuelson, B. and Sjöval, J. Chemical, Scand, 16, 504 (1962).

(6) Steling, T.O.; Morozowhich, W. and Roseman, T.J., Prostaglandins, Journal of Pharmaceutical Science, Vol 61 No.12, 1861-94 (1972).

(7) Bergström, S., L.A. Carlson and J,R.Weeks, pharmac.Rev., 20, 1 (1968).

(8) Bergström, S., Prostaglandins- A Group of Hormonal Compounds of Wide Spread Ocurrance. Biochem. Pharmac., 12, 413-414 (1963)

(9) Bergström, J., Prostaglandins and Their Influence on Lipid Metabolism. -J.Am. Oil Chem. Soc., 42, 608-609(1965).

(10) Daniels. E.G., Winman, J.W., Leach, B.E., Muirhead E.Identification of prostaglandins E2 As the principal Vasopressor Lipid of Rabbit Renal Medulla. Nature 215. 1298(1957).

(11)Kurzrok, R. and Lieb, C.C., Biochemical Studies of Human Semen. Proc Soc. Exp.Biol.Med.26:268 (1930).

(12) Pike, J.E. Total Synthesis of Prostaglandins-Reprint Progress in the Chemistry of Organic Natural Products XXVIII.314-339, N.Y.

(13) Weinheimer, D.J.- and Spraggins, R.L.- The Ocurrence of Two new prostaglandins Derivates(15-EPI-PGA_2) and its Acetate Mathyl Ester in the Gorgonian Plexaura Homomalla. Chemistry of Coelenterates. XI. Tetrahedron Letters, 59, 51, 5185,(1969).

(14) Samuelson, B. E. Granstrom and Hombergm.- prostaglandins, Nobel Simposium 2, 5. Bergström and Samuelsson.- Ed.Intercience,New -- York P 45 (1967).

(15) Schneider, W.P., Hamilton, R.D. and Rhuland, R.E.- Journal of - American Chemical Socyete. 94, 2122 (1972).

(16) Brundy, G.L., Lincoln, I., Nelson, N., Pike, J. and Schneider.- Novel prostaglandins Synthesis. Ann. N.Y. Acad. Sc.180,76-90 (1971).

(17) Brundy, G.L. and Nugteren, D.H Isolation of Two New Natural - prostaglandins From Corals.J.Am.Soc.Chem.94,2124(1972).

(18) Bergström , S. Danielsson, H.Kenberg, D., and Samuelsson, B.- The Enzimatic Convertion of Esencial fatty acide into prostaglandins J. Biol. Chem. 239-4006-4008-(1964)

(19) Van Dorp, D.A. Beerthuis, R.K., Nugleren, D. H.and Vorkerthan, Nature 203, 389 (1964)..

(20) Bergstrom, S., Danielsson, H. and Samuelsson, B.- The Enzimatic Formation of prostaglandins E, fron Arachidonic Acid. Biochem. Biophys. Acta 90. 204-206(1964).

(21) Nugtere, D.H. and Vorkerman, H. -Biochsm, Biophis Acta 90 207-210 (1964).

(22) Asciak, P.C. y Wolfe, L.S. A novel prostaglandins derivate formad from arachidonic acid by rat stomach homogenetes.Biochemistry 10, No. 20, 3657-3663-(1964).

(23) Anngarde, E.Y. Samuelsson, B.J. Biol.Chem. 240, 3518(1965)

(24) Vogt. W.; Borlets. J.; Kunz, H; y Meyer U. Proc.Int.Congr. Pharmacol. 378 (1969)(Abstr).

(25) Bergström. S. prostaglandins member of a new hormonal system. -- Science 1 157: 382-391(1967)

(26) Flexk. J.D.; Ramwell, P.W. y Shaw, J.E. Endocrinolohical implications of prostaglandins. Reprited from current topice in experimental endocrinology. Vol. 1 199-219(1971)

(27) Andersen, N.H. Dehydration of prostaglandins: stody by spectroscopy method. J.Lipid. Res. 10:320.

(28) Corey. E.J.; Ulattas, I.; Anderson, N.H y Mording, K.A,new total synthesis of the E_1 series inclusing 11-epi prostaglandins. J.Am. Chem. Soc. 90, 5947 (1968)

(29) Axen, V.; pike, J.E. Y Schneider, W.P.the total synthesis of prostaglandins, Off prints from synthesis, Vol. 1 edited by J.W Apsimon 81-129(1972)

(30) Shaw, J.E. y Ramwell, P.W. Separation. identification y estimation of prostaglandins in: Mathods of Biochemical Análisis, 17: D. Glick, ed. 1 Interscience, New York, p.235(1969).

(31) Hitchock =, C. y Nichols, B.W., plant Lipid Biochemistry, p.74.

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR