

Hospital Psiquiátrico Provincia Habana

COMPUESTOS FENÓLICOS PRESENTES EN LAS HOJAS DE HIBISCUS SORORIUS L.F. FRACCIÓN B.

Lic. Linner González Valentín¹, MSC Ingrid Márquez Martínez²

1. Licenciada en Ciencias Farmacéuticas.
2. Máster en Ciencias Farmacéuticas.

RESUMEN

Se realizó un estudio fitoquímico preliminar de las hojas de la especie Hibiscus Sororius L.F. El material vegetal se maceró con etanol al 70 % y se fraccionó obteniéndose cuatro fracciones (A, B, C y D). La fracción D mostró mayor porcentaje de extractivos. El análisis químico se dirigió hacia la fracción B, la cual se analizó cualitativamente mediante cromatografía en placa delgada en su modalidad bidimensional en gradiente y por corridas múltiples comprobándose que la fracción posee alrededor de 20 componentes fenólicos. Bajo las mismas condiciones del estudio analítico se pasó a la fase preparativa; ésta resultó óptima para el aislamiento y purificación de los compuestos: 12 y 18^a. Su análisis estructural se realizó mediante espectroscopia ultravioleta, infrarroja, de resonancia magnética nuclear protónica y de carbono 13, permitiendo identificarlos como un ácido fenólico simple y quercetina, respectivamente.

Descriptores DeCS: ESTUDIO FITOQUÍMICO; HIBISCUS SORORIUS.

Durante miles de años, la vida del hombre se ha relacionado con el medio ambiente, en particular con las plantas. Esto ha permitido que ellas constituyan una fuente inagotable de sustancias biológicamente activas, las cuales, han permitido darle solución a disímiles afecciones del organismo humano¹⁻².

No hay dudas acerca de que esta rama de la medicina está haciendo una valiosa contribución para que la salud esté al alcance de todos. En nuestro país crecen numerosas plantas que han sido utilizadas por la medicina tradicional, la comprobación científica de ellas para su inclusión en el sistema de atención primaria es hoy una tarea muy valiosa³.

Dentro de la flora cubana se encuentra la familia malvaceae y su género Hibiscus, que está ampliamente distribuido en todo el país⁴. Existen 20 especies pertenecientes a dicho género, solamente siete presentan estudios fitoquímicos reportados en la literatura.

Teniendo en cuenta que la especie Hibiscus Sororius L.F. es una de las que no poseen estudios anteriores, unido a que el género es productor de una amplia variedad de compuestos fenólicos, los cuales, presentan gran diversidad de efectos terapéuticos que podrían aportar nuevos usos clínicos a los extractos de estas especies no estudiadas, es por ello que se decide realizar el

estudio de esta especie.

MÉTODO

El material vegetal se colecta en la provincia de Pinar del Río, en la zona de La Coloma, Km 13, en el mes de junio de 1997.

Para este estudio el órgano que se selecciona es la hoja, se analiza solamente el limbo. El material colectado se seca en una estufa VDEMLW-177 a 350 C, posteriormente se procede a su trituración en un molino de cuchillas con tamiz de 2,5 mm.

Se utiliza la maceración como técnica de extracción la cual se lleva a cabo con etanol al 70%. El extracto etanólico concentrado se particiona empleando n-hexano, diclorometano, acetato de etilo y n-butanol, obteniéndose finalmente cuatro fracciones (A, B,C y D), respectivamente.

El análisis cromatográfico (analítico y preparativo) se lleva a cabo mediante cromatografía en placa delgada en su modalidad bidimensional en gradiente y por corridas múltiples, empleando para ello placas de vidrio, como soporte celulosa MN-300, las fases móviles y reveladores que se utilizan son los reportados en la literatura.

En el ensayo de hidrólisis que se realiza a la fracción B, se utiliza 1ml de ácido clorhídrico 2N para 1ml de la fracción utilizando reflujo y agitación durante una hora a una temperatura de 1000 C. Los espectros ultravioletas (UV) se realizaron en un espectrofotómetro Pharmacia LKB Biocrom 4060, empleando metanol como disolvente y reactivos de desplazamiento; el espectro infrarrojo (IR) se realiza en un equipo Bruker ISF 48 con tabletas de bromuro de potasio; los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se realizan en un equipo Bruker AC-250F, empleando dimetil sulfóxido como solvente y tetrametil silano como sustancia de referencia.

RESULTADOS

El extracto etanólico de las hojas particionado da lugar a las fracciones A, B, C y D, la que posee mayor porcentaje de extractivos es la D seguida de las fracciones C, B y A.

El análisis cromatográfico en placa delgada, variante bidimensional resulta el adecuado para el estudio de la fracción B, se demuestra la presencia en la misma de alrededor de 20 componentes fenólicos. Se presume que en la fracción existen flavonoles, flavonas, coumarinas y compuestos fenólicos simples, siendo los más abundantes, los enumerados como 15, 18A, 1, 12 y 17. Cuando se analiza el hidrolizado de la fracción se demuestra que sólo el compuesto 19A debe ser o-glicósido, los restantes productos deben ser aglicones.

Los productos 12 y 18A se aíslan a partir de la fracción D y se identifican como un ácido fenólico simple y quercetina (3', 4', 5, 7 -tetrahidroxiflavonol) respectivamente.

DISCUSION

A medida que aumenta la polaridad de la batería de menstros empleados en la técnica de extracción líquido-líquido, aumenta la intensidad del color de las fracciones lo que señala el poder extractivo de los mismos y el peso mayoritario de compuestos en la fracción D.

En el análisis cromatográfico, la variante bidimensional es la que resulta más adecuada para el estudio de esta fracción debido a la gran cantidad de compuestos fenólicos que presenta, tomando en consideración los colores observados bajo la luz UV(366 y 254 nm) y su comportamiento frente a los reveladores empleados⁵⁻⁸. El uso de varias fases móviles para las

corridas en la primera y la segunda dirección de la placa facilitó el desplazamiento y desdoblamiento de las manchas.

La elucidación estructural de los compuestos 12 y 18A se realiza sobre la base de sus espectros UV, IR, RMN siendo parcial para el 12 y total para el 18A.

El análisis de los espectros UV permite definir las características estructurales siguientes:

- El producto 12 presenta máximos de absorción a 294, 257 y 213 nm lo que es característico de los ácidos fenólicos⁹, lo cual, se corrobora por el corrimiento hipsocrómico que sufre la banda R a pH aproximadamente 8 y el corrimiento batocrómico que sufren las bandas cuando el pH sube a 13.9.
- El producto 18A:
 - presenta hidroxilaciones en ambos anillos por la similitud de las densidades de las bandas I y II en solución metanólica⁵.
- es un flavonol que presenta un grupo hidroxilo en posición 3, libre, puesto que: existe una banda por encima de 350 nm en el espectro de la solución metanólica, hay un aumento de la intensidad de la absorción por debajo de los 240 nm en el espectro realizado en presencia de hidróxido de sodio y desaparecen las bandas típicas de flavonoides al añadir acetato de sodio.^{5,6,8}
- presenta grupos catecólicos en el anillo B (preferentemente sustitución 3',4'), por el aumento de la absorción por debajo de los 240 nm en presencia de hidróxido de sodio, el cambio de apariencia que se observa en el espectro cuando se añade acetato de sodio, el corrimiento batocrómico de 19 nm y 4 nm para las bandas I y II respectivamente cuando se añade acetato de sodio y ácido bórico y por el corrimiento hipsocrómico de la banda I a (24 nm) cuando a la solución que contiene tricloruro de aluminio se le añade ácido clorhídrico.^{5,6,8}
- posee un grupo hidroxilo libre en posición 5 del anillo A debido al cambio de apariencia del espectro cuando se añade acetato de sodio y por el corrimiento batocrómico (61 nm) de la banda I en el espectro de la solución que se le añade tricloruro de aluminio y ácido clorhídrico.^{5,6,8}

El análisis del espectro IR muestra la existencia de agrupamientos fenólicos, grupos alquílicos (Csp³), grupos carbonílicos y anillos aromáticos por la presencia de bandas a 3327, 2930, 2852, 1654, 1616, 1593, 1558, y 1513 cm⁻¹. Este espectro presenta bandas características de flavonoides.^{5,6}

La presencia de agrupamientos alquílicos sugieren la existencia de agrupamientos metoxilos o de azúcares ya que el núcleo central carece de carbonos sp³ pero los resultados obtenidos en el ensayo de hidrólisis proponen la existencia en la estructura de metoxilos y no de azúcares.

Los espectros de RMN permiten complementar la información estructural que se maneja para el compuesto; los datos del espectro RMN-H¹, permiten determinar que el producto es un flavonol con hidroxilo en 3 libres, con 2 sustituciones oxigenadas en el anillo A y 2 sobre el anillo B. Los datos que permiten afirmar esto son los siguientes:^{5,8}

Singlete, integra un protón, alrededor de 9,65 ppm, singlete integra un protón, alrededor de 10,85 ppm, singlete, integra un protón alrededor de 12,5 ppm, pertenece a los hidroxilos fenólicos de la posiciones 3,7,5 respectivamente.

- Doblete, integra un protón, alrededor de 6,2 ppm, doblete integra un protón, alrededor de 6,45 ppm, pertenece a los protones H-6 y H-8 respectivamente del anillo A en flavonoles.
- Doblete (J= 8,51 Hz), integra un protón, alrededor de 6,95, doblete de doblete (J=8,22 Hz, 2,11 Hz), integra un protón alrededor de 7,55 ppm, doblete (J= 2,06 Hz), integra un protón, alrededor de 7,7 ppm, estas constantes de acoplamiento y corrimientos químicos son típicos de los protones H - 5¹ ,H-6² y H-2¹, respectivamente.
- Singlete integra un protón, alrededor de 9,3 ppm, singlete integra un protón, alrededor de 9,35 ppm que corresponden con los hidroxilos fenólicos de las posiciones 3' y 4' del anillo B.

El espectro RMN-C13, por comparación con los datos reportados en la literatura⁸, permiten identificar al producto 18 A como quercetina, el cual se aísla e identifica por primera vez de las hojas de la especie.

En conclusión:

- La maceración con etanol al 70 % de las hojas de Hibiscus Sororius L.F y la posterior extracción con n-hexano, diclorometano, acetato de etilo y n-butanol dan lugar a las fracciones A,B,C y D, obteniéndose con la D un mayor porcentaje de extractivos
- La cromatografía en placa delgada, variante bidimensional resulta adecuada para el estudio de los compuestos fenólicos de la fracción B
- La fracción B debe presentar alrededor de 20 compuestos fenólicos tomando como criterio los resultados del estudio cromatográfico
- El uso de cromatografía preparativa, resulta un método de purificación adecuado para la obtención de los compuestos 12 y 13 A cromatográficamente puros a partir de la fracción B
- Los productos 12 y 18 A son compuestos fenólicos, el primero de ellos debe corresponder a un ácido fenólico simple y el segundo a un flavonoide, específicamente la quercetina.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Los productos farmacocinéticos a partir de las plantas: un gran potencial, pero pocos fondos (editorial). Lancet 1994; 343 (8912):1513-5.
2. Soledad JR. Herbario medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. México DF: IMSS; 1994.
3. Farnsworth NK, Akerete O, Bingel AS. Las plantas medicinales en la terapéutica. Bol of Sanit Panam 1989; 107:4314-29.
4. Mabry TJ. The systematic identification of flavonoids. Berlín: Springer - Verlag; 1970.
5. Lock O. Investigación fitoquímica: métodos para el estudio de los productos naturales. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1988.
6. Liu YL. Techniques for flavonoid analysis. Revista Latinoamericana Química. 1989. Sup 1: 90-130.

7. Markhan KR. Flavones, flavonols and their glycosides: methods in plant biochemistry. London: Academic Press; 1989.
8. Scott AT. Interpretation of the ultraviolet spectra of natural products. Nueva York: Pergamon Press; 1964.

SUMMARY

A preliminary phytochemical study of the Hibiscus Sororius L.F. species leaves was done, the vegetal material was macerated with 70% ethanol it was divided into four fractions (A,B,C and D) . Fraction D showed the biggest percentage of extractives. The chemical analysis was directed to fraction B which was qualitatively analyzed by means chromatography in thin plate in its bidimensional model in gradient and for multiple Run. Showed that the fraction has around twenty phenolic compounds. Under the same analytical study conditions the preparatory phase was reached, this one was the fine for isolation and purification of the compounds: 12 and 18. A structural analysis was made by means of ultraviolet spectrum copy, infrared of magnetic nuclear protonic resonance and coal 13, this analysis allowed them as a simple phenolic acid and kercitine respectively.

Subject headings: PHITOCHEMICAL STUDY; HIBISCUS SORORIUS

[Indice Anterior Siguiete](#)