

Universidad de La Habana
Instituto de Farmacia y Alimentos

ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA ESPECIE *HIBISCUS ELATUS* S.W.

Ingrid Márquez Hernández,¹ Armando Cuellar Cuellar,² Jorge Martínez Pérez,³ Alejandro Alemán Sánchez,⁴ Janette Lora García⁵ y Hermán Vélez Castro⁶

RESUMEN

Se realizó un estudio fitoquímico preliminar de la especie *Hibiscus elatus* S.W. Se practicó un tamizaje fitoquímico sobre material seco y fresco, en el que se obtuvieron resultados positivos para mucílagos, sustancias reductoras, antocianinas, aminoácidos, taninos y flavonoides. Se determinó que las antocianinas se afectan durante el proceso de secado. Para la realización del estudio químico se maceró el material vegetal con 4 menstros (fracciones A, B, C y D). A partir de las fracciones A y B se aisló el producto HE₁, el cual se analizó por espectroscopia ultravioleta, infrarroja, de resonancia magnética nuclear protónica, de carbono 13, mediante uso de técnicas especiales y por espectrometría de masas, lo que permitió identificarlo como el flavonoide gossypitrina. La fracción C se sometió a un fraccionamiento según el método de absorción-desorción sobre silicagel, lo que permitió la detección de rutina y quercetina. Los flavonoides identificados se reportan por primera vez para la especie.

Descriptor DeCS: EXTRACTOS VEGETALES/clasificación.

La especie *Hibiscus elatus* S.W., conocida como majagua, tiene reportado distintos usos en medicina tradicional. Sus flores en Cuba se utilizan por sus propiedades expectorantes, las que se comercializan como jarabe. Teniendo en cuenta la necesidad de conocer la composición química de los extractos que

se emplean como medicamentos, unido a la carencia de estudios fitoquímicos sobre la especie y a la posibilidad de establecer nuevos usos farmacológicos a partir del conocimiento de los compuestos químicos presentes, iniciamos el estudio fitoquímico de esta especie.

¹ Profesora Instructora.

² Profesor Titular.

³ Investigador Titular. Centro de Biactivos Marinos (CEBIMAR).

⁴ Licenciado. Laboratorios Med Sol.

⁵ Licenciada. Centro de Química Farmacéutica.

⁶ Investigador Titular. Centro Nacional de Investigaciones Científicas.

MÉTODOS

Las flores de *Hibiscus elatus* S.W. se colectaron en los alrededores del Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL) en julio de 1995. Una vez colectadas se secaron en la estufa VDEMLW 177 a 35 °C, durante 5 d; posteriormente se sometieron a un molinado, donde se empleó un molino de cuchillas con tamiz de 2,5 mm.

El tamizaje fitoquímico se hizo según las técnicas reportadas en la literatura,¹ y se practicó sobre flores secas y frescas.

La extracción del material vegetal se llevó a cabo con 1,2 dimetoxietano, 1,2 dicloroetano, etanol y n-butanol (fracciones A, B, C, D respectivamente). La fracción C se sometió a un método de absorción-desorción sobre silicagel G60 (Cuesta RO, Cuellar CA. Estudios sobre propóleos. Tesis para optar por el título de Master en Ciencias en Química Farmacéutica. Cuba. 1996), a partir del cual se obtuvieron las subfracciones 1 (clorofórmica), 2 (etílica), y 3 (n-butanólica). La silicagel G60 que se utilizó fue de columna de 60-120 mesh.

La determinación del punto de fusión se efectuó en un equipo electrotérmico VA 9000 con el empleo de capilares.

Los espectros ultravioletas (UV) se realizaron en un espectrofotómetro Pharmacia LKB Biocrom 4060 con el uso de metanol como disolvente y los reactivos de desplazamientos reportados en la literatura;^{2,3} el espectro infrarrojo (IR), en un equipo Bruker ISF 48 con tabletas de bromuro de potasio; los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN), en un equipo Bruker AC-250 con dimetilsulfóxido como disolvente; el espectro de masas, en un espectrómetro de masas cuadrupolar trio 1000 con introductor directo; se empleó la técnica de impacto electrónico (EI) y una energía de ionización de 70 ev.

El análisis cromatográfico se llevó a cabo mediante cromatografía en capa delgada y sobre papel, según la literatura.^{2,3}

RESULTADOS

El tamizaje fitoquímico que se realizó sobre material fresco, señala la presencia de mucílagos, sustancias reductoras, antocianidinas, aminoácidos, taninos, flavonoides y probablemente quinonas y saponinas. Para el material seco, la única variación que se observó fue un resultado negativo para la prueba de antocianidinas.

El producto HE₁, cuyo punto de fusión se encuentra entre 184 y 185 °C, se aísla a partir de las fracciones A y B y se identifica como gossypitrina (7-O-D-glucosil-3', 4', 5,8-tetrahidroxiflavonol).

Los flavonoles quercetina (3', 4', 5,7-tetrahidroxi-flavonol) y rutina (3', 4', 5,7-tetrahidroxi-3-rhamnosilglucosil-flavona) se detectan en las subfracciones 2 y 3 por comparación con sustancias de referencias.

DISCUSIÓN

La presencia de mucílagos, sustancias reductoras, aminoácidos, taninos y flavonoides en el material seco y fresco, indica que durante el proceso de secado no se alteran dichos metabolitos, algo que sí sucede con las antocianidinas y que se corresponde con lo reportado en la literatura.^{2,3} Se debe señalar que las pruebas que muestran un resultado positivo más significativo son las de taninos y flavonoides.

La elucidación estructural del compuesto HE₁ se realiza sobre la base de sus espectros UV, IR, RMN y masas.

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

- El producto es un flavonol que presenta el grupo hidroxilo en 3 libre; esto lo apoya la existencia de una banda por encima de 350 nm en el espectro de la solución metanólica, el aumento de la absorción por debajo de los 240 nm que se presenta en el espectro realizado en presencia de metóxido de sodio, el cambio de apariencia que se observa en el espectro cuando se añade acetato de sodio y el corrimiento batocrómico (59 nm) que se aprecia en la banda a 385 nm cuando se añade tricloruro de aluminio y ácido clorhídrico a la solución.³
- Presenta grupos catecólicos en el anillo B (preferentemente sustitución 3',4'), por la existencia de la banda a 277 nm y de una inflexión a 257 nm en el espectro de la solución metanólica, el aumento de la absorción por debajo de los 240 nm que se presenta en el espectro realizado en presencia de metóxido de sodio, el cambio de apariencia que se observa en el espectro cuando se añade acetato de sodio, el corrimiento batocrómico que se aprecia para las bandas a 383,5 y 332 nm cuando se añade acetato de sodio y ácido bórico (62 y 44 nm respectivamente) y por el corrimiento batocrómico (2 nm) que se observa sobre la banda a 440 nm cuando se añade ácido clorhídrico a la solución metanólica del producto que contiene tricloruro de aluminio.³
- Tres posiciones oxigenadas sobre el anillo A, por la existencia de la banda a 277 nm en el espectro de solución metanólica y el cambio de apariencia que se observa en el espectro cuando se añade acetato de sodio.³

El análisis del espectro IR muestra la existencia de hidroxilos, grupos alquílicos,

grupo carbonilo y anillos aromáticos por la presencia de bandas a 3 375, 3 000 - 2 980, 1 656, 1 610, 1 600, 1 569 y 1 519 cm^{-1} . Este espectro presenta bandas características de flavonoides^{2,3} y permite detectar la presencia de azúcar en la estructura al existir bandas correspondientes a grupos alquílicos.

Los espectros de RMN permiten corroborar las características estructurales del compuesto y lograr su identificación completa; los datos del espectro de RMN-¹H permiten determinar que el producto es un flavonol glicosilado con 3 sustituciones oxigenadas sobre el anillo A y 2 sobre el anillo B, lo que sugiere que la posición 7 es la glicosilada. Los datos que permiten afirmar esto son los siguientes:^{4,5}

- Singlete ancho, alrededor de 9,42 p.p.m. integra un protón correspondiente al OH de la posición 3.
- Singlete, integra un protón, alrededor de 6,25 p.p.m., pertenece al protón de la posición 6, donde la posición 7 se encuentra O-glicosilada.
- Doblete ($J = 8,62 \text{ Hz}$), integra un protón, alrededor de 7 p.p.m.; doblete de doblete ($J = 8,65 \text{ Hz}; 2,26 \text{ Hz}$), integra un protón, alrededor de 7,92 p.p.m.; doblete ($J = 2,07 \text{ Hz}$), integra un protón, alrededor de 8,1 p.p.m. Estas señales corresponden a los protones del anillo B con las posiciones 3' y 4' disustituidas.
- Grupo de señales muy complejas en la zona entre 3,1 y 3,9 p.p.m. correspondientes a CH y OH del azúcar.

El espectro ¹³C, experimento DEPT y experimentos COSY homonuclear y heteronuclear, por comparación con los datos reportados en la literatura,^{5,6} permiten identificar al producto HE¹ como gossypitrina.

Los datos obtenidos a partir del espectro de masas permiten corroborar la

estructura propuesta por presentar un pico base de relación masa/carga igual a 318, correspondiente a la masa molecular del aglicón (gossypetina) y los picos correspondientes a la Retro Diels Alder (168 y 110 de relación masa/carga), con valores de intensidad inferiores al 10 %, por la existencia de más de 4 sustituciones oxigenadas en la estructura.^{2,3}

A partir de la fracción C y siguiendo el método de absorción-desorción sobre sílica se obtienen 3 subfracciones (1, 2 y 3). Se debe aclarar que el rendimiento obtenido para cada una de éstas es muy bajo, por lo que se sugiere que parte de los productos que estaban presentes en la fracción C, se mantienen absorbidos sobre la sílica.

Para esta fracción sólo se logra identificar rutina (subfracción 3) y quercetina (subfracción 2), mediante comparación cromatográfica con sustancias de referencias.

Los flavonoles gossypitrina, rutina y quercetina se aislan e identifican por primera vez de las flores de la especie.

En conclusión:

- El tamizaje fitoquímico sugiere que en la composición general de las flores de *Hibiscus elatus* existen mucílagos, sustancias reductoras, antocianidinas, taninos y flavonoides.
- Durante el proceso de secado se afectan las antocianidinas presentes en las flores de la especie.
- El método de absorción-desorción sobre silicagel resulta ineficiente para la obtención de cantidades apreciables de productos.
- Las flores de *Hibiscus elatus* presentan en su composición gossypitrina, quercetina y rutina.

SUMMARY

A preliminary phytochemical study of *Hibiscus elatus* species was undertaken. A phytochemical sieving of fresh dry material made it possible to obtain positive results for mucilages, reducing substances, anthocyanins, aminoacids, tanines and flavonoids. Anthocyanines were determined to be affected during drying process. For carrying out the chemical study, the plant was macerated into 4 solvents (A, B, C and D fractions). Taking A and B fractions as a basis, product HE₁ was isolated and analyzed by ultra - violet, infrared, nuclear magnetic resonance, proton and carbon 13 spectroscopies as well as special techniques and mass spectrometry. This resulted in the identification of this product as gossypitrin flavonoid. Fraction C was fractionated by silicagel absorption - desorption methods which allowed us to detect rutin and quercetin. The identified flavonoids are reported for the first time in this species.

Subject headings: PLAT EXTRACT/ classification.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Miranda M, Cuellas A. Manual de prácticas de laboratorio de análisis farmacognóstico. La Habana: Editorial Ciencia y Educación; 1992:23-33.
2. Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos para el estudio de los productos naturales. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú;1988:91-111.
3. Mabry TJ. The systematic identification of flavonoids: Berlín: Springer-Verlag; 1970. 233.

4. Markhan KR. Techniques of flavonoids identification. London: Academic Press; 1975.325.
5. _____ . Techniques of flavonoids identification. London: Academic Press; 1982. 370.
6. Eberhard B, Wolfgang V. Carbon-13 NMR, spectroscopy: high resolution methods and applications in organic chemistry and biochemistry. New York: Academic Press; 1990:381,450-3.

Recibido: 14 de diciembre de 1998. Aprobado: 22 de enero de 1999.

Prof. *Ingrid Márquez Hernández*. Universidad de La Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ave 23 No.21422, entre 214 y 222 , La Coronela, municipio La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba.