CONTRIBUCION AL ESTUDIO QUIMICO DE Caesalpinia gilliesii Hook (Uña de gato): FLAVONOIDES EN FLORES

Silvia Klinar y Artemio Chang. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Farmacia y Bioquímica. U. N. San Luis Gonzaga

INTRODUCCIÓN

La búsqueda del conocimiento popular con la finalidad de integrarlo al conocimiento científico, nos ha permitido delinear el proyecto que denominamos FITOFARMACOPEA DE ICA, de tal manera que los profesionales de las ciencias de la salud puedan utilizar con mayor eficacia y seguridad; gracias al aporte de la investigación científica y tecnológica.

En la flora medicinal de Ica, se encuentra la Caesalpinia gilliesii Hook; que es una más de las muchas especies conocidas con el nombre común de “uña de gato”, por la forma de las espinas que presentan en sus ramas. Es un arbusto, de hojas compuestas, trimeras, con foliolos de disposición alterna sobre la nervadura central que es bastante engrosada; sus flores son axilares en racimo, de color amarillo. El fruto es una legumbre de color marrón.

En la medicina tradicional iqueña, se utiliza infusión de las flores de C. Gilliesii para combatir tos y resfríos.

Con el presente trabajo se inicia un estudio químico sistemático, con la finalidad de aislar e identificar los flavonoides mediante la marcha de Clark modificada, las fracciones fueron evaluadas por espectroscopia UV-vis; el extracto fue separado por cromatografía de capa fina preparativa y cromatografía de columna. Se han aislado dos flavonoides, analizados por espectroscopia UV-vis utilizando reactivos de desplazamiento.

AGRADECIMIENTOS: Agradecemos el aporte económico del INSTITUTO DE PRODUCTOS NATURALES (IPRONA), que hizo posible la realización del presente trabajo.

EXPERIMENTAL

En el presente trabajo se realizó una extracción para obtener flavonoides, los cuales fueron analizados por espectroscopia UV-vis, utilizando reactivos de desplazamiento.

OBTENCION DE FLAVONOIDES

Se trituran 75 g. de flores frescas de Caesalpinia gilliesii, y se somete a reflujo con EtOH por 2 horas. Se filtra en caliente, se concentra a presión y temperatura reducida y se disuelve con HCl 1%; la solución ácida se concentra a sequedad. El extracto seco se disuelve en EtOH, se añade solución de acetato de plomo y se filtra. El precipitado se disuelve con HCl 1%. El extracto ácido se concentra a sequedad y se disuelve con EtOH – CH2CL2 (3:2), se filtra y se ensaya flavonoides (Shinoda +); se concentra. El extracto seco se extrae, por gradiente, con CH2CL2 (sol. amarilla), EtOH (sol. Pardo rojizo) y H2O (sol. Roja). Se repite el ensayo de Shinoda en cada una de las tres fracciones, se descarta la que da negativo (diclorometano); las fracciones positivas se separan por cromatografía de capa fina preparativa (CCFP) y cromatografía de columna (CC). Todas las fracciones y los compuestos aislados se analizan por reacciones de coloración y espectroscopía UV-vis.

ANALISIS QUIMICO Y ESPECTROSCOPICO (UV-vis)

Se ensayaron las reacciones de Shinoda para detectar flavonoides y Molisch para glicósidos. En el análisis espectroscópico se utilizó un Espectrofotómetro UV-vis Beckman DU – 65. Todas las fracciones obtenidas en el proceso de extracción, se evalúan por espectroscopia UV-vis, en soluciones etanólicas, acuosas o de diclorometano (según el caso), en el rango de 800 a 200 nm.

Los compuestos aislados son analizados en, en el rango de 500 a 200 nm., en soluciones etanólicas y con los siguientes reactivos de desplazamiento :

- Etóxido de Sodio (EtONa).
- Acetato de Sodio (AcONa).
- Tricloruro de aluminio (AlCl3) y
- Acido bórico (H3BO3).

RESULTADOS

En la obtención de flavonoides se logró aislar dos compuestos, denominados: S1 y X1. En el análisis por espectroscopia UV-vis, de S1 se obtuvieron espectros en solución etanólica y con reactivos de desplazamiento; en el caso de X 1, por la pequeña cantidad de muestra obtenida, el análisis fue parcial.

Los espectros de los compuestos de S1 y X1, fueron obtenidos en el rango de 500 a 200 nm; y se muestran en:

Espectro 1 .- Extracto acuoso (EtOH)

Espectro 2 .- Extracto acuoso (EtOh + AcONa)

Espectro 3 .- Extracto acuoso (EtOH + AcONa + HCl)

Espectro 4 .- Compuesto X 1 (EtOH)

Espectro 5 .- Compuesto X 1 (EtOH + EtONa)

Espectro 6 .- Compuesto X 1 (EtOH + EtONa + HCl)

Espectro 7 .- Compuesto S 1 (EtOH)

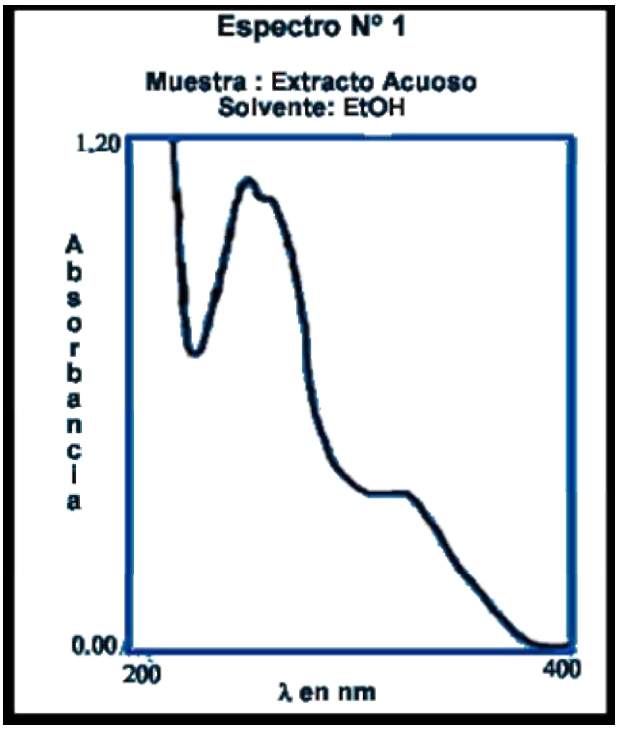
Espectro 8 .- Compuesto S 1 (EtOH + EtONa)

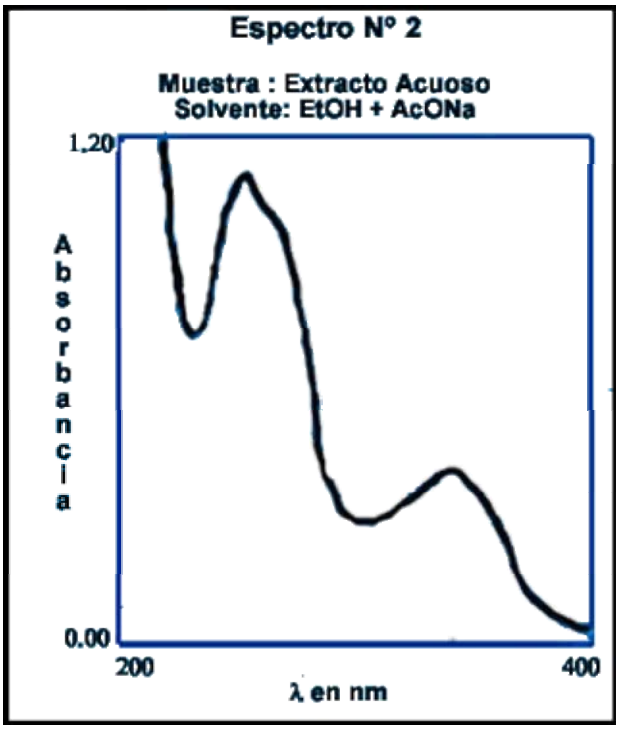
Espectro 9 .- Compuesto S 1 (EtOH + AcONa)

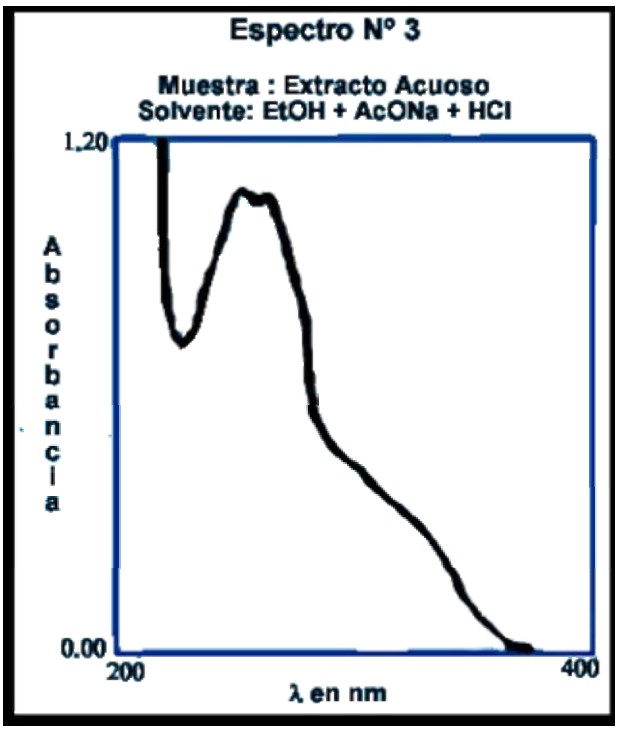
Espectro 10.- Compuesto S 1 (EtOH + AcONa + H3BO3)

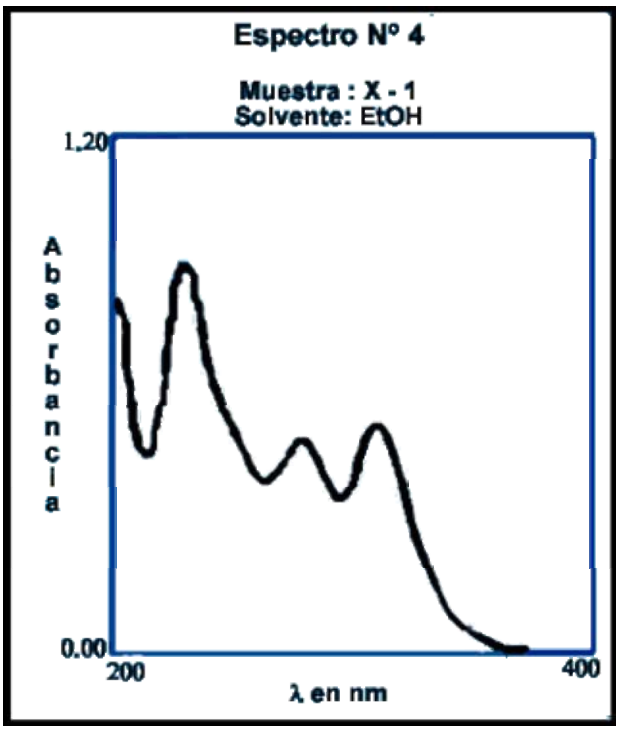
Espectro 11.- Compuesto S 1 (EtOH + AlCl3)

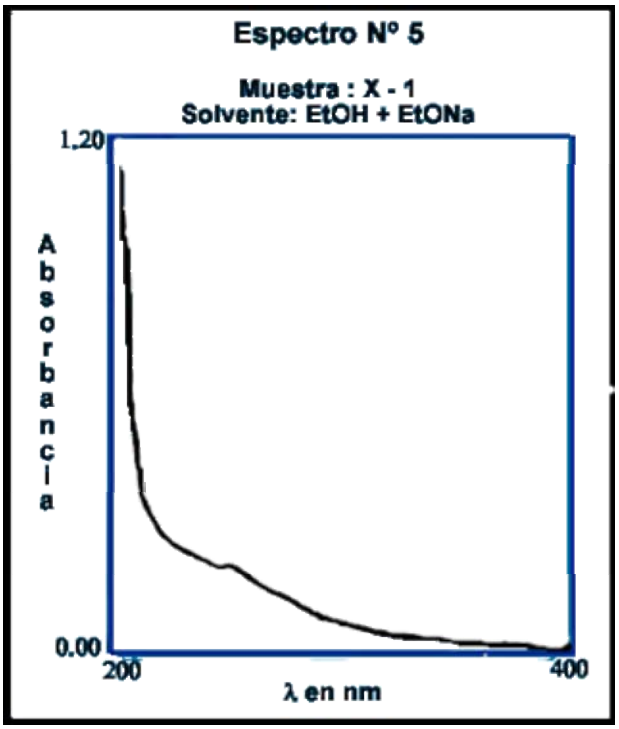
Espectro 12.- Compuesto S 1 (EtOH + AlCl3 + HCl)

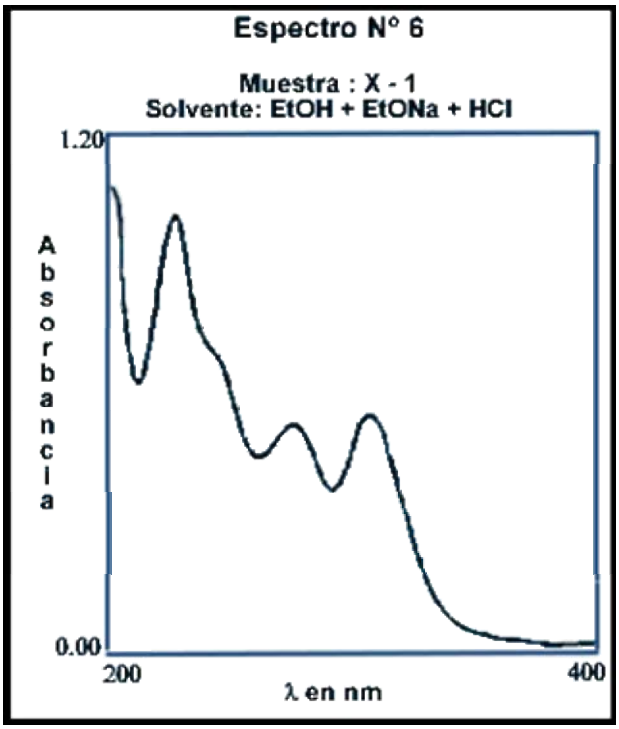

Espectro Nº 1
Muestra : Extracto Acuoso
Solvente: EtOH
1.20
0.00
Absorbancia
200
400
λ en nm

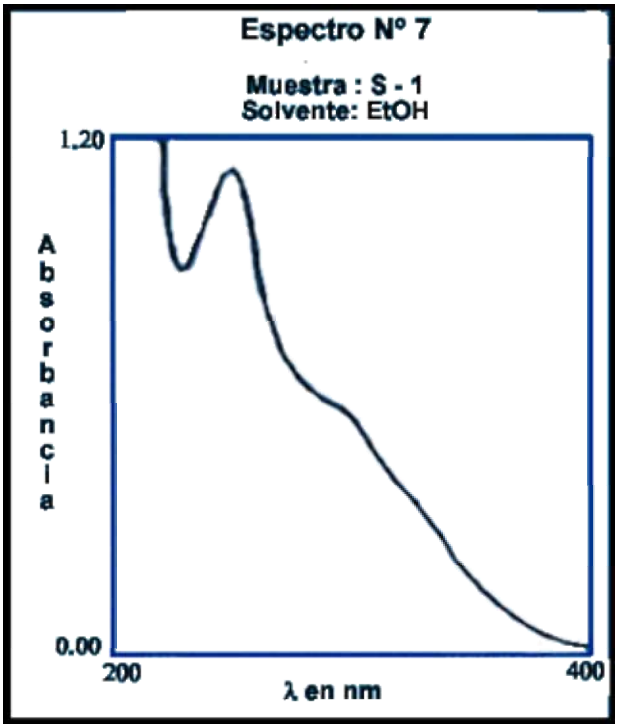

Espectro Nº 2
Muestra : Extracto Acuoso
Solvente: EtOH + AcONa
1.20
0.00
Absorbancia
200
400
λ en nm

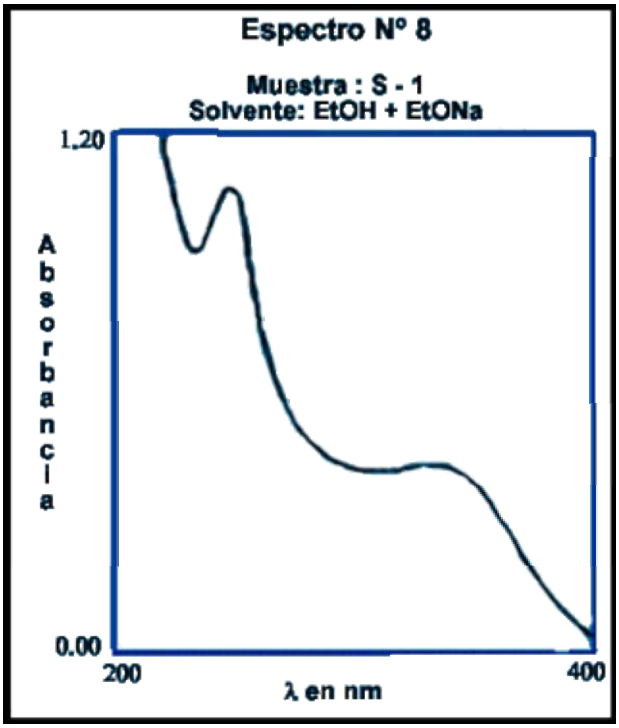

Espectro Nº 3
Muestra : Extracto Acuoso
Solvente: EtOH + AcONa + HCl
1.20
0.00
Absorbancia
200
400
λ en nm

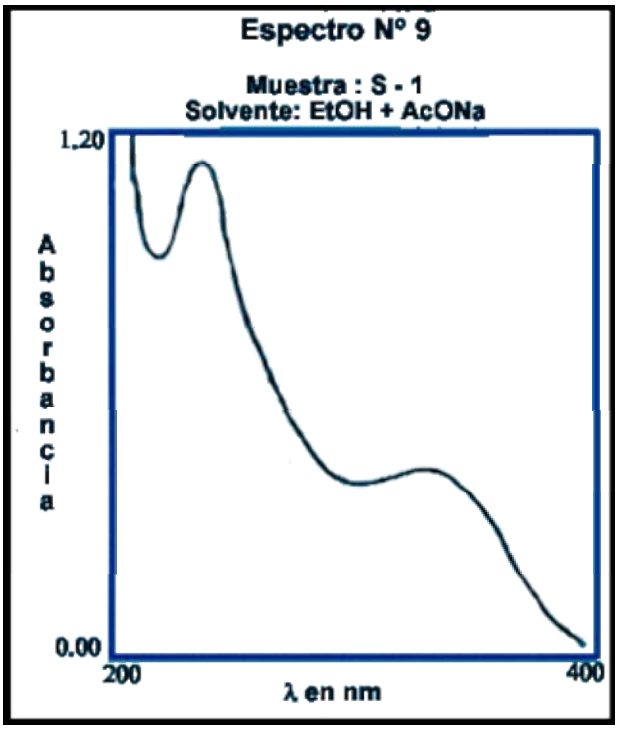

Espectro Nº 4
Muestra : X - 1
Solvente: EtOH
1.20
0.00
Absorbancia
200
400
λ en nm

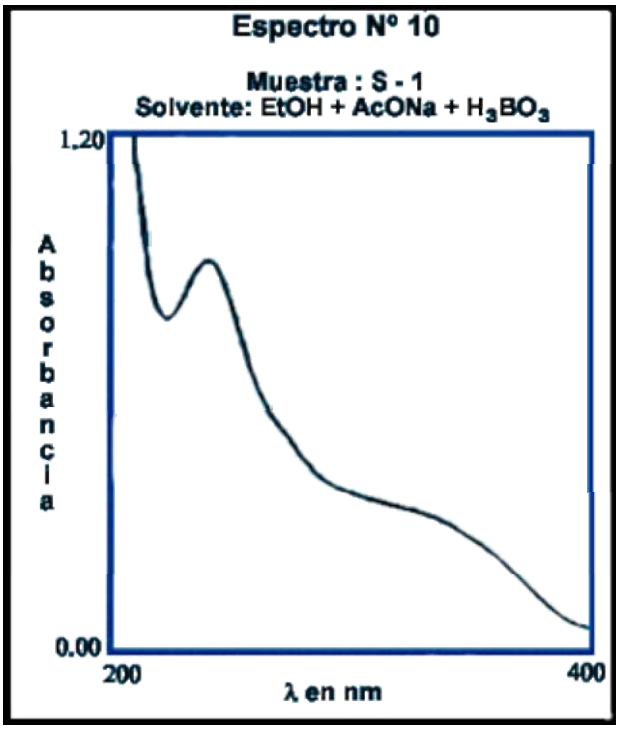

Espectro Nº 5
Muestra : X - 1
Solvente: EtOH + EtONa
1.20
0.00
Absorbancia
200
400
λ en nm

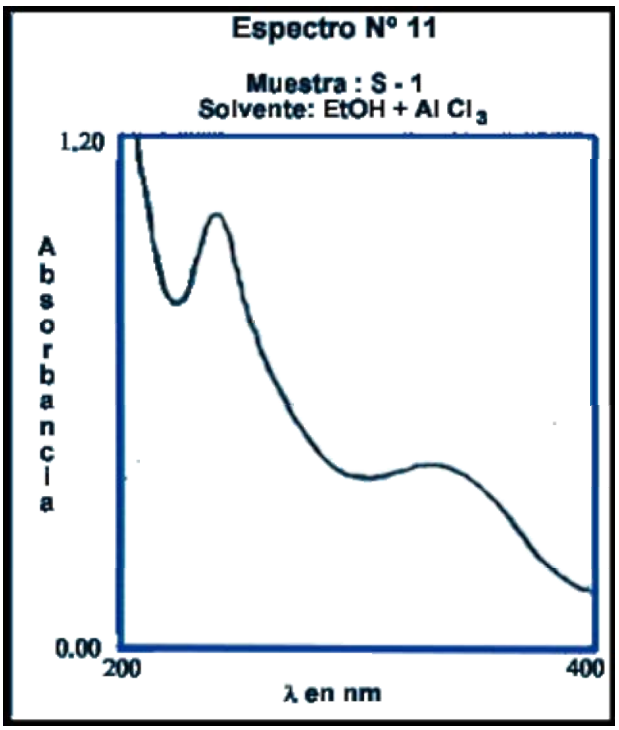

Espectro Nº 6
Muestra : X - 1
Solvente: EtOH + EtONa + HCl
1.20
0.00
Absorbancia
200
400
λ en nm

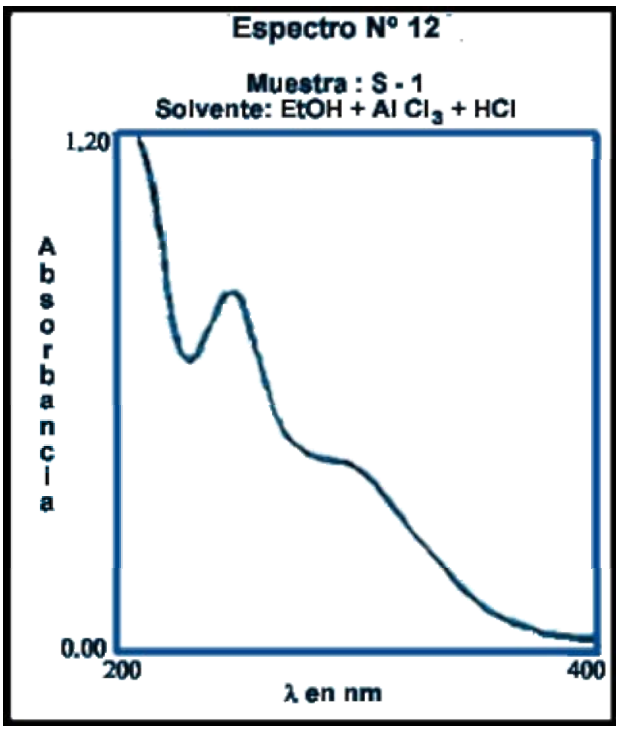

Espectro Nº 7
Muestra : S - 1
Solvente: EtOH
1.20
0.00
Absorbancia
200
400
λ en nm


Espectro Nº 8
Muestra : S - 1
Solvente: EtOH + EtONa
1.20
0.00
Absorbancia
200
400
λ en nm


Espectro Nº 9
Muestra : S - 1
Solvente: EtOH + AcONa
1.20
0.00
Absorbancia
200
400
λ en nm


Espectro Nº 10
Muestra : S - 1
Solvente: EtOH + AcONa + H3BO3
1.20
0.00
Absorbancia
200
400
λ en nm


Espectro Nº 11
Muestra : S - 1
Solvente: EtOH + Al Cl3
1.20
0.00
Absorbancia
200
400
λ en nm


Espectro Nº 12
Muestra : S - 1
Solvente: EtOH + Al Cl3 + HCl
1.20
0.00
Absorbancia
200
400
λ en nm

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En los espectros 1, 2 y 3 de las soluciones acuosa y etanólica, se observa un desplazamiento batocrómico de 24 nm. En la banda a 386 nm de la solución en EtOH, cuando se adiciona AcONa (la banda se desplaza a 410 nm). Al añadir HCl sobre la solución anterior, el efecto batocrómico desaparece. Si bien es cierto que las soluciones analizadas son mezclas, podemos deducir que existe un componente mayoritario, con absorción característica de isoflavona, favanona o dihidroflavonol (Banda II más intensa que la banda I), y que existe un grupo hidroxilo libre en posición 4'.

El compuesto X1 fue separado en una minima cantidad que no permitió el análisis total. En los espectros 4, 5 y 6 se observan las absorciones de la solución etanólica, con EtONa y con EtONa + HCl, respectivamente. Es necesario obtener mayor cantidad de X1 para realizar los análisis complementarios.

El compuesto S1 se ha caracterizado como una isoflavona glicosada. La reacción positiva en el ensayo de Molish nos indica que se trata de un glicósido; el espectro UV de la solución etanólica (espectro 7) presenta la banda I a 335 nm mucho menos intensan que la banda II a 275 nm. En los espectros 8 a 12 observamos: la adición de EtONa origina un desplazamiento de 75 nm en la banda I y de 6 nm en la II ; el efecto del AcONa es similar, por lo que se propone grupos hidróxilos libres en las posiciones 7 y 4'.

La adición de H3BO3 en la solución que contiene AcONa, origina un notorio efecto batocrómico en la banda I, con respecto al espectro con AlCl3 y HCl. Esto nos permite establecer que existe un grupo ortohidróxilo en el anillo B, probablemente en 3' – 4'; también queda descartada la posibilidad de un OH libre en posición 5.

Al parecer, la glicosidación ocurre en la posición 5.

CONCLUSIONES

- De las flores de Caesalpinia gilliesii Hook (Uña de gato), se han aislado dos flavonoides.

- El flavonoide denominado X1, fue obtenido en mínima cantidad, por lo que el análisis fue parcial. El espectro en solución etanólica presenta las siguientes absorciones a longitud de onda máxima: 239, 260 (h), 311 y 359 nm. el espectro con EtONa se degenera rápidamente; al adicionar HCl se regenera.

- El flavonoide denominado S1, presenta las siguientes absorciones en el UV :

  EtOH .- 275 y 335 (h) nm.
  EtOH + EtONa .- 281 y 410 nm.
  EtOH + AcONa .- 278 y 407 nm.
  EtOH + AcONa + H3BO3 .- 276 y 406 nm.
  EtOH + AlCl3 .- 276 y 408 nm.
  EtOH + AlCl3 + HCl .- 276 y 338 nm.

- El flavonoide S1 es una isoflavona con OH libres en 7, 4' y 3'; y glicosado en posición 5.

REFERENCIAS

1. Geissman T. A. (1962) "The chemistry of flavonoids compounds" . Pergamon press. New York.
2. Scott A. I. (1969) " Interpretation of the ultraviolet spectra of natural products". Pergamon Press. New York.
3. Geissman (1969) " Organic chemistry of secondary plant metabolism". Freeman, Cooper & Company. USA.
4. Mabry T.J.; Markham K.R. and Thomas M.B. (1970) "The systematic identification of flavonoids". Springer – Verlag. New York.
5. Harborne J. B.; Mabry T. J. and Mabry H. (1975) "The flavonoids". Chapman and Hall. Londres.
6. Harborne J. B. (1976) "Phytochemical methods". Chapman and Hall. Londres.
7. Trease y Evans (1986) Tratado de Farmacognosia. Editorial Interamericana. Madrid.
8. Calderón P. Y Flores R. (1987). "Catálogo de Plantas Medicinales de Ica. Tesis para optar el título de Q. F.
9. Chang A: y Klinar S. (1993) "Fitofarmacopea tradicional de Ica". VI Congreso Peruano de Farmacia. Lima Perú.
10. Chang A. y Klinar S. (1993) "Fitofarmacopea Tradicional de Ica: plantas de uso en afecciones de vías respiratorias". VI Congreso Peruano de Farmacia. Lima Perú.
11. Klinar S., Castillo P. Chang A., Schmeda G., Razmelic I. Y Reyes S. (1993) "Actividad Biológica de Plantas Medicinales de Ica". XVIII Congreso Peruano de Química. Lima Perú.
12. Lock de Ugaz, Olga (1994) "Investigación Fitoquímica". Fondo Editorial – PCUP. Lima Perú.