

OBTENCION DE AYANINA DE LAS HOJAS DE *Croton glabellus*

* Lucía de García
** Diana L. Guarín
** Martha C. Tobar

Resumen:

La ayanina (3', 5-dihidroxi-3,4; 7-trimetoxiflavona) se aisló de las hojas del *Croton glabellus* por cromatografía en columna y se identificó por medio de los espectros al U.V., IR, y RMN.

Summary:

Ayanin (3; 5-dihydri-3, 4', 7-trimethoxy flavone) was isolated from the leaves of *Croton glabellus* by means of column chromatography. The compound was identified by U.V., IR and NMR spectroscopy.

Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica, Departamento de Farmacia Universidad Nacional de Colombia.

El presente trabajo se realizó con los aportes de Colciencias y el CINDEC.

INTRODUCCION

El *Croton glabellus* es una planta usada en la medicina popular colombiana por su acción hipotensora (1). En una investigación llevada a cabo en el Departamento de Farmacia sobre esta planta se aisló la quercitrina, un flavonoide glucosídico, y se comprobó que posee acción hipotensora en perros (2).

Los estudios químicos realizados a diferentes especies de este género han demostrado que son fuentes importantes de aceites esenciales, tal es el caso de la investigación llevada a cabo por Craveiro y colab. (3), en la cual se analizaron 500 especies del noreste del Brasil y se encontró que 11 de ellas tenían posibilidades de ser explotadas

comercialmente por su contenido y calidad de aceites volátiles. De las 11 especies seleccionadas, 4 pertenecían al género *Croton*. Otra característica del género es la presencia de diterpenos, de los cuales quizás el más conocido y estudiado es el Forbol, compuesto cancerígeno, aislado inicialmente del aceite de las semillas del *C. tiglum* (4).

De la mayoría de especies estudiadas se han aislado e identificado alcaloides del tipo morfina-dienona y proaporfina, algunos de ellos con actividad biológica. Marini Bettolo y Scarpatti (5) aislaron taliporfina y glaucina del *C. draconoides*. En el *C. linearis* se encontró jacularina, 8-14 dihidrosalutaridina y 8,14 dihidronarsalutaridina (6). La esparsiflorina obtenida del *C. sparsiflorus* presentó acción bactericida contra *Vibrio cholera*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhosa* (7).

La presencia de flavonoides es relativamente escasa en este género; del *C. niveus* se obtuvo la quercetina después de someter los extractos de la planta a hidrólisis ácida (8). Del *C. zambesicus* se aislaron varios C-glicósidos como: vitexina, saponaretina, isoorientina, orientina y vicenina (9).

En el presente trabajo se aisló, de las hojas del *C. glabellus*, un flavonoide, la ayanina, el cual no había sido aislado antes de plantas de este género.

PARTE EXPERIMENTAL

Material Vegetal

El material vegetal se recolectó en Enero de 1981 en la carretera de Fusagasugá al Boquerón, a 1.4 Km. del Alto de las Canecas, a una altura sobre el nivel del mar de 500 mts. Las hojas de la planta se secaron a 40°C en una estufa de aire circulante, se molieron y el polvo se guardó en recipientes bien cerrados y protegidos de la luz.

* Profesora Asistente del Departamento de Farmacia

** Alumnas de tesis.

La planta fué clasificada, en el Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional, por el Doctor Roberto Jaramillo como *Croton glabellus*. El ejemplar botánico figura en el Herbario Nacional bajo el número 236667.

Aislamiento del Flavonoide

Se extrajeron 1.2 kg. del polvo de las hojas, previamente desengrasadas con éter de petróleo, con 12 litros de etanol del 96% en un extractor Soxhlet. El solvente se evaporó casi a sequedad, se le adicionaron 2 litros de agua y se filtró. El filtrado se extrajo sucesivamente con éter de petróleo, éter etílico e isobutanol. Luego se evaporó completamente el solvente de cada fracción y se pesó el material seco.

El rendimiento más alto (6.7 g) se obtuvo con la fracción en éter etílico; en los otros extractos el rendimiento fué bajo.

Al extracto en éter etílico (Et) se le hizo una prueba de Shinoda para flavonoides, la cual fué positiva e igualmente una cromatografía en capa delgada (ccd) usando Sílica Gel como fase estacionaria y de desarrolló el cromatograma con las siguientes fases móviles.

Cloroformo: metanol (9:1).
Cloroformo: acetato de etilo (9:1).

Los cromatogramas se revelaron con el siguiente reactivo: Cloruro Férrico 0.1 M: Ferricianuro de potasio 0.1 M en partes iguales (10).

Los cromatogramas mostraron varias manchas azules bien separadas. Basados en estos resultados se procedió a la separación de uno de los flavonoides.

Se hizo una purificación preliminar de la fracción Et. en una columna empacada con 50 g de Sílica Gel 60 a la cual se le colocó en la parte superior una solución que contenía 5.7 de la fracción disueltos en acetato de etilo. La columna se eluyó con 250 ml. de acetato de etilo. A la solución obtenida se le evaporó el solvente. Se obtuvieron 3.54 g de un sólido amarillo, al cual se le hizo una c.c.d. en las condiciones descritas anteriormente y se observó que estaba libre de los flavonoides de mayor polaridad y de impurezas.

El sólido purificado se pasó por una columna empacada con 300 g. de Sílica Gel 60. Se recogieron fracciones de 25 ml. de la siguiente manera : Fracción 1 al 14 eluyendo con cloroformo: acetato de etilo (97:3).

Fracción 15 a 70 eluyendo con cloroformo: acetato de etilo (92:8).

El seguimiento de las fracciones se hizo por c.c.d., las fracciones iguales se reunieron. De las fracciones 17 a 70 se obtuvo un sólido amarillo (200 mg) que mostraba una sola mancha en c.c.d. Este sólido se recristalizó en una mezcla de cloroformo: acetato de etilo (98:2).

Caracterización del Flavonoide:

- Hidrólisis ácida:

Se realizó una hidrólisis ácida a una pequeña cantidad del compuesto y no se observó por c.c.d. cambio, lo que indicó que no se trataba de un O-glucósido.

- Punto de fusión: 166°.

- Espectro al infrarrojo: Se determinó en un espectrofotómetro Perkin Elmer 700 en Nujol y se obtuvieron las siguientes bandas:

3.400 cm^{-1} (OH)
1.660 cm^{-1} (C=O)
1.620 y 1.580 cm^{-1} (aromaticidad)

- Espectros al ultravioleta: Se determinaron el espectro normal en metanol y los espectros obtenidos por adición de reactivos de desplazamiento siguiendo la técnica usada por Mabry y col. (11).

Se usó un espectrofotómetro Perkin Elmer 252. Los datos obtenidos aparecen en la Tabla I.

TABLA I. LONGITUDES DE ONDA DE MAXIMA ABSORCION EN METANOL Y CON REACTIVOS DE DESPLAZAMIENTO

λ máxima en metanol (nm)		Reactivos de desplazamiento	λ máxima en metanol + reactivo nm.		Desplazamiento nm.	
II	I		II	I	II	I
254	353	Metanol + cloruro de aluminio	268	397	14	44
254	353	Metanol + cloruro de aluminio + ácido clorhídrico.	268	397	14	44
254	353	Metanol + metóxido de sodio.	267	386	13	33
254	353	Metanol + acetato de sodio.	254	353	0	0
254	353	Metanol + acetato de sodio + ácido bórico.	254	353	0	0

* Desplazamiento con respecto al espectro en metanol + cloruro de aluminio.

- Espectro de Resonancia Magnética Nuclear: Se registró en un espectrómetro Varian T. 60. Se usó TMS como standard interno. La muestra se disolvió en acetona deuterada.

Se obtuvieron los datos anotados en la Tabla II.

TABLA II. DATOS OBTENIDOS EN EL ESPECTRO DE RMN.

Desplazamiento químico (ppm)	Multipl. cidad	Integración	Const. de Acopl. (Hz)
3.83	S	3 H	
3.87	s	3 H	
3.90	s	3 H	
6.30	d	1 H	2 Hz
6.60	d	1 H	2 Hz
7.10	d	1 H	10 Hz
7.60	m	2 H	
12.6	s	1 H	

DISCUSION DE RESULTADOS.

De los datos obtenidos en los espectros al IR, UV y RMN se pueden sacar las siguientes conclusiones respecto de la estructura del compuesto. La interpretación de los datos espectroscópicos se hizo de acuerdo a lo establecido por Mabry y col. (11) y Harborne y col. (12).

La banda a 354 nm. en el espectro normal es debida de un flavonol (OH) en posición libre o substituída).

El desplazamiento batocrómico de 44 nm en la banda I por adición de cloruro de aluminio, sin desplazamiento hipsocrómico por adición de HCl al 50% indica la ausencia de grupos orto dihidroxilo, y la presencia de un OH en posición 5 la cual se confirma por la banda a 12,6 ppm en el espectro de RMN.

El desplazamiento batocrómico de 33 nm. por adición de metóxido de sodio indica la presencia de un grupo OH en la posición 3' del anillo B.

La ausencia de hidroxilo en posición 7 se puso de manifiesto porque no hubo desplazamiento por adición de acetato de sodio.

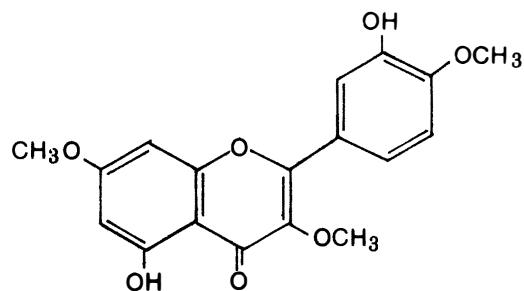
A las señales en el espectro de RMN se les hicieron las siguientes asignaciones:

Sistema AB con señales a 6.3 y 6.6 ppm, $J=2$ Hz (2 protones) corresponden a los hidrógenos en posiciones 6 y en 8.

Doblete a 7.1 ppm $J=10$ Hz (1 protón) se le asignó a la posición 5'. Multiplete a 7.6 ppm (2 protones) correspondiente a los hidrógenos en 2' y 6'.

Las 3 señales sencillas entre 3.8 y 4.0 ppm (9 hidrógenos) corresponden a los hidrógenos de 3 grupos metoxilo asignados a las posiciones 3', 4', y 7.

De acuerdo con estos resultados se propone la siguiente estructura para el compuesto aislado 3', 5-dihidroxi-3, 4',7-trimetoxi flavona (ayanina).



Este flavonoide fué aislado por Vidari y col. (13) de la planta *Afromamum giganteum*.

BIBLIOGRAFIA

1. GARCIA, BARRIGA H. Flora Medicinal Colombiana. Botánica médica. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia. Vol 2. 1974. pág. 87.
2. GARCIA L., NOVOA B., CESPEDES A., OLARTE J. Quercitrina: Un flavonoide con actividad hipotensora aislado de las hojas de *Croton glabellus*. Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas. (En prensa).
3. CRAVEIRO A.A., FERNANDEZ G.A., ANDRADE C.H.S., ABREU MATOS F.J., de ALENCAR J.W., LACERDA MACHADO M.I. Oleos esencias de plantas do Nordeste. Edições UFC. Fortaleza. 1981. Pg. 119.
4. VAN DUUREN. B.L. ORRIS, L. Tumor enhancing principles of *Croton tiglium*. Cancer Res. 25, 1871 (1965).
5. MARINI BETTOLO R., SCARPATI M.L. Alkaloids of *Croton draconoides* Phytochemistry, 18, 520 (1979).
6. STUART K.L., HAYNES L.J., BARRET M. y HUSBANDS G.M. Jacularine, a new reduced proaporphine from *Croton linearis* Jacq. Tetrahedron Lett. 42, 4473 (1968).
7. ACHARYA, B., MODI M, y SENHA S.N. The antibacterial activity (in vitro) of the alkaloids of *Croton sparsiflorus*. J. Indian Med. Assoc. 43, 592 (1964). Chem Abst. 62, 10868 g (1965).

8. PARIS M.R.y BASTIEN M. A propos de l' action hypoglycémante de deux drogues denommées "Copalchi": *Coutarea latiflora* (Rubiacees) et *Croton niveus* (Euphorbiacees). *Annales pharm. franc.* 18,205, (1969).
9. WAGNER H., HORHAMMER L y KIRALY I.C. -Flavon-C-glykoside in *Croton Zambezicus*. *Phytochemistry*, 9, 897, (1970).
10. TOWCHSTONE J.C., DOBBINS M.F. Practice of Thin layer chromatography. John Wiley and Sons. New York. 1978, Pg. 176.
11. MABRY T.L. MARKHAM K.R., y THOMAS M.B. The Sistematic identification of flavonoids. Springer Verlag. Berlin-Heidelberg. New York 1970. Pg. 35.
12. HARBORNE J.B., MABRY T.J. y MABRY H. The Flavonoids. Chapman and Hall. London, Pg. 105 (1975).
13. VIDARI G, FINZI V.P., y BERNARDI M., Flavonols and quinones in stems of *Aframomum giganteum*. *Phytochemistry* 10, 3335 (1971).