

087483

34

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

*Estudio Fitoquímico de la Especie
Tithonia Rotundifolia Sobre la Base
de los Flavonoides*

T E S I S

PRESENTADA POR

FRANCISCA JUDITH FLORES

PARA OPTAR AL TITULO DE

Licenciada en Química y Farmacia

Noviembre 1976



SAN SALVADOR,

EL SALVADOR,

CENTRO AMERICA.



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

R E C T O R

DR. CARLOS ALFARO CASTILLO

S E C R E T A R I O

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 O

DRA. MARIA GLADYS DE MENA GUERRERO

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

DR . AMILCAR AVENDANO Y ORTIZ

DHA. ROSA MARIA PORILLO DE RIVAS

DR . ROMEO AMILCAR ROVELU BATRES



DEDICATORIA:

A DIOS TODOPODEROSO

A MIS PADRES

A MI HERMANA

A MIS FAMILIARES, COMPAÑEROS

AMIGOS Y PROFESORES.

AGRADECIMIENTO.

AL DR. ROMEO AMILCAR ROVELO BATRES

AL PROFESOR JORGE ADALBERTO LAGOS C.

I N D I C E

página

1.- Introducción	1
Antecedentes	3
2.- Especie Estudiada	5

P A R T E E X P E R I M E N T A L

I.- Material y Equipo Utilizado	6
II.- Recolección del Material	7
III.- Extracción del Material	7
IV.- Reacciones de Reconocimiento	8
V.- Técnicas Cromatográficas para Flavonoides	9
a) Cromatografía Bidimensional en papel	9
b) Cromatografía en Capa Fina	10
Técnica de Aplicación y Desarrollo	11
c) Cromatografía Preparativa en Capa Delgada	11
Técnica de Aislamiento y Purificación	12
VI.- Solventes Utilizados en Cromatografía en Capa Fina y en Capa Preparativa	12
VII. Reveladores Empleados en CCF	13
VIII. Identificación de Azúcares	13
IX.- Técnicas Cromatográficas para Azúcares	13
X.- Solventes empleados para Azúcares	13
XI.- Revelador Utilizado para Azúcares	14
Cromatografía con Sustancia Patrón.	14
XII. Identificación de Flavonoides	14

	<u>página</u>
<u>R E S U L T A D O S</u>	16
1.- Extracto Acetato de Etilo	16
2.- Extracto Clorofórmico	17
3.- Datos obtenidos de los Compuestos Aislados y Purificados en los extractos estudiados .	18
Cuadro	24
Espectros	25
Conclusiones	33
Bibliografía	34

R E S U M E N

Se presenta un estudio fitoquímico de la especie Tithonia rotundifolia sobre la base de los flavonoides.

La extracción de los flavonoides presentes en el material seleccionado se logró poniéndolo a reflujo con etanol.

La separación de estos principios del extracto alcohólico se efectuó por separación líquido-líquido, utilizando solventes de diferente polaridad.

Por medio de técnicas de Cromatografía en Papel y en Capa Fina fue posible la visualización, aislamiento y purificación de dichos compuestos.

De los flavonoides aislados y purificados se hicieron espectros visible-ultravioleta en metanol y 5 derivados para cada compuesto, obteniéndose los datos para el análisis de los espectros mencionados.

Por Cromatografía en Capa Fina y utilizando patrón de comparación se determinó los Rf de los azúcares correspondientes a los glicósidos flavonoides.

Posteriormente se continuó con la identificación de los compuestos flavonoides aislados siguiendo la técnica descrita por Mabry.

Se aisló el flavonoide RUTINA cuyo núcleo básico corresponde a un flavonol.

De los compuestos flavonoides aislados y purificados que no se lograron identificar, se presentan los espectros correspondientes a 3 de ellos.

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

El objetivo de este trabajo es realizar un estudio químico de los flavonoides presentes en las flores de la especie Tithonia rotundifolia (vara hueca), utilizando técnicas fitoquímicas, cromatográficas y espectrofotométricas para efectuar la extracción, aislamiento, purificación e identificación de dichos compuestos, con el propósito de dar una colaboración al estudio fitoquímico de la flora nacional.

Este trabajo se ha enfocado hacia el estudio de los flavonoides, por cuanto se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, exceptuando: bacterias, hongos y algas (1); además por la acción farmacológica y otras actividades de los mencionados compuestos. Así, el estudio de la vitamina P (2) ha sido en los últimos tiempos motivo de especial interés. Dicha vitamina se evidencia por su acción farmacológica en los vasos sanguíneos, donde aumenta la resistencia vascular e incrementa la fuerza tensil de los capilares sanguíneos para reducir su permeabilidad; además, tiene una acción sensibilizante en los esfínteres precapilares.

(1) Bate-Smith.- Usefulness of Chemistry in Plant Taxonomy as illustrated by the flavonoid constituents in Chemical Plant Taxonomy, ed. T. Swain, Academic Press London. N.Y. 1963, pag. 128.

(2) T. Swain.- Economic Importance of Flavonoid Compounds, ed. T.W. Goodwin. Academic Press London and. N.Y. 1965, pag. 546.

Algunos flavonoides tienen efecto constrictor; otros, como las iso-flavonas, tienen actividad estrogénica. Algunas cumarinas son conocidas por sus efectos tóxicos en los peces; también las hay inhibidoras de la germinación.

La actividad fitopatológica y bactericida de los flavonoides es objeto de constantes revisiones con el fin de emplearlos como protectores de sustancias alimenticias. El empleo de flavonoides en alimentos se debe a que son los responsables del sabor y de su coloración, por lo que los hacen apetecibles (2)

El campo que tiene el estudio de los flavonoides, es extenso y constituye un aporte a la profesión farmacéutica.

Este estudio se divide en 3 partes: en la primera se describe la extracción, el aislamiento y la purificación de los compuestos flavonoides presentes en la especie estudiada. La segunda comprende la sección de resultados, en la cual se presentan los espectros obtenidos de los flavonoides aislados con sus respectivos derivados. Finalmente, se presentan las conclusiones sobre el trabajo desarrollado.

(2) T. Swain.- Economic Importance of Flavonoid Compounds, ed. T.W. Goodwin. Academic Press London and N. Y. 1965 .pag. 549.

A N T E C E D E N T E S

En 1958 los profesores R. E. Alston y B. L. Turner, ambos del Departamento de Botánica de la Universidad de Texas en Austin, iniciaron una investigación sistemática general de las leguminosas del género *Baptisia*. Ellos encontraron que los patrones de flavonoides revelados por Cromatografía Bidimensional en Papel eran válidos para reconocer las especies de *Baptisia* y para la documentación de sus numerosos híbridos naturales. Posteriormente demostraron que la química de los flavonoides podría utilizarse para el análisis del flujo genético de sus poblaciones. En ese tiempo, no se intentó ni aún parcialmente la identificación de los flavonoides que eran detectados cromatográficamente.

Sin embargo, pronto se volvió aparente que valores completos de datos químicos para fines sistemáticos requería conocimiento de la estructura de los flavonoides (3)

En 1962 T.J. Mabry en colaboración con los Doctores Alston y Turner comenzaron el análisis químico de más de 60 flavonoides que habían sido detectados cromatográficamente en 16 especies de *Baptisia*. En los años siguientes, varios químicos y botánicos, entre ellos los Doctores Baetcke, Brehm, Cranmer, D.Horne, J.Kagan, B.Kroschewsky, J.McClure, H.Rosler, y J.Wallace participaron en el desarrollo de técnicas y procedimientos para la rápida identificación de los flavonoides conocidos y

(3) Mabry, T.J. Markman, K.R. and. Thomas, M.B. The Systematic Identification of Flavonoids. Springer-Verlag N.Y. Heidelberg-Berlin 1970 - pag. VII.

en la determinación de la estructura de nuevos flavonoides. Además - la química de los flavonoides de muchas plantas diferentes al género Baptisia fue investigada(3)

De la especie estudiada en particular, no se tiene conocimiento sobre trabajos anteriores.

(3)

Véase obra citada en ese numeral.

ESPECIE ESTUDIADA .-

Nombre Científico: Tithonia rotundifolia (Miller) Blake.

Nombres comunes: Vara hueca, acate, chilicacate

Familia : Compuestas

Género: Tithonia

Especie : rotundifolia

Planta anual de 1 a 2 mts. de alto, con tallo cilíndrico y ramificado, rayado longitudinalmente, piloso o glabro.

Las hojas son alternas, ovadas u ovado-triangulares (especialmente las inferiores), esparcidamente pilosas; pecíolos angostamente alados. La inflorescencia está formada por capítulos terminales o axilares, solitarios; los capítulos son grandes y están forma--dos por 8 a 13 flores liguladas en la periferia, amarillas o rojo anaranjadas y de muchas flores tubulares (tubifloras) amarillas o amarillo-anaranjadas sobre el receptáculo con brácteas. El fruto es un aquenio oblongo y con cuatro ángulos.

Esta planta es común en los potreros, orillas de los caminos y matorra--les de la zona templada y fría del país (4)

(4) García, José G. et al.- Malezas Prevalentes de América Central.-
International Plant Protection Center.- Oregon State University
U.S.A. 1975, pag. 39.

I.- MATERIAL Y EQUIPO UTILIZADO.-

- 1.- PAPEL.- Se utilizó papel Whatman No.1 de 20x20 cms, para la vi
sualización de los flavonoides presentes en cada extracto.
- 2.- CELULOSA MICROCRISTALINA PARA CCF (Merck)
- 3.- CROMATOPLACAS.- Se utilizaron placas de vidrio de 5x20 cms, y -
de 20x20 cms para cromatografía en capa fina y cromatografía --
preparativa en capa.
- 4.- CAMARAS CROMATOGRAFICAS.- Se utilizaron cámaras de vidrio fabri-
cadas en el laboratorio para las placas de 20x20 cms. y recipientes
cilíndricos para las placas de 5x20 cms.
- 5.- LAMPARA U.V. SL-25 de longitud de onda corta y larga. Para la
visualización de compuestos con absorción en el ultravioleta.
- 6.- DESTILADOR A PRESION REDUCIDA.- Flash Evaporator 50-60 C y 115 v.
- 7.- ESPECTROFOTOMETRO- Perkin Elmer de doble haz modelo 124 con registro
automático.
- 8.- AGITADOR MAGNETICO.
- 9.- ASPERJADOR.- Se utilizó atomizador de vidrio PYREX.
- 10.- Material de vidrio de uso rutinario.

II.- RECOLECCION DEL MATERIAL.-

La especie utilizada en este trabajo fue recolectada en terrenos de Ilopango en el mes de noviembre de 1974.

Se seleccionaron las flores de la planta para el estudio de sus compuestos flavonoides.

III.- EXTRACCION DEL MATERIAL .-

Se colocó una cantidad de 210 gramos de flores frescas en un balón de 2000cc. se le agregó 600 cc de etanol y se puso a reflujo durante 8 horas ; luego se filtró y se evaporó en destilador a presión reducida a sequedad; a este residuo se le agregó agua destilada caliente y se filtró con el propósito de eliminar la clorofila y otras sustancias.

Al filtrado acuoso se le hizo la prueba de Shinoda, que resultó positiva; luego se transfirió a un embudo de separación, para efectuar las siguientes extracciones:

a) EXTRACCION CON ETER DE PETROLEO.-

Se hicieron extracciones con varias porciones de 50cc. de éter de petróleo, con el objeto de aislar los principios activos -- existentes; después , todos los extractos fueron vertidos en un balón, donde fueron concentrados hasta pequeño volumen. De nuevo se efectuó la Reacción de Shinoda que resultó negativa.

b) EXTRACCION CON CLOROFORMO.-

Al filtrado acuoso se le hicieron varias extracciones con cloroformo, las cuáles se reunieron y se concentraron hasta pequeño volumen. En 5 cc. de este extracto se hizo la prueba de Shinoda y se obtuvo, como resultado, una coloración anaranjada, la cual nos indicaba la presencia de flavonoides (5)

c) EXTRACCION CON ACETATO DE ETILO.-

Al filtrado acuoso se le hicieron varias extracciones con acetato de etilo, las cuáles se reunieron y se concentraron; a continuación se efectuó en 5 cc. del extracto, la reacción de Shinoda, se obtuvo un cambio de color: de amarillo a rojo.

d) EXTRACCION CON BENCENO.-

En el filtrado acuoso también se hizo la extracción con benceno - en la misma forma, pero el resultado obtenido con la prueba de -- Shinoda fue negativo.

IV.- REACCIONES DE RECONOCIMIENTO.-

Prueba de Shinoda.(5) A una pequeña porción del extracto etanólico o del extracto en estudio disuelto en etanol, se le trata con un trocito de magnesio y unas pocas gotas de ácido clorhídrico concentrado, observándose de inmediato una coloración anaran-

(5) Domínguez, X.A. Métodos de Investigación fitoquímica. Ed.Limusa, México 1a. Edición 1973, Cap. 6 pag. 84.

jada, roja, rojo azulosa o violeta si están presentes flavonas, - flavononas, flavonoles, flavonoles o xantonas (5)

- b) Reacción sobre papel.- Se aplica, con micropipeta, una pequeña porción de la solución en estudio sobre papel filtro. Se observa bajo luz visible y ultravioleta, luego se expone el papel a vapores de amoníaco y se observa en la misma forma; finalmente, se hace bajo luz visible y ultravioleta después de rociarlo con AlCl_3 al 1% en metanol.

V.- TECNICAS CROMATOGRAFICAS PARA FLAVONOIDES.-

Cromatografía Bidimensional en papel

Con el objeto de visualizar los compuestos presentes en cada extracto, se hizo uso de la técnica bidimensional. Esta técnica se basa en la acción de 2 sistemas de solventes y es usada para fines analíticos y preparativos (3)

PROCEDIMIENTO.-

Sistema de Solventes:

1a.- Dirección : T A B 3:1:1

2a.- Dirección : Acido Acético 15%

Se utilizó papel Whatman No.1 de 20x20 cms, en el cual se marcó un punto de origen en el ángulo inferior izquierdo a una distancia de 2.5 cms. de la base horizontal y se aplicaron alícuotas de la mues-

(3) Véase obra citada en ese numeral, pag.4

tra, con micropipeta, hasta obtener el tamaño y la concentración adecuada. Luego de evaporado el disolvente de la muestra, se sometió la lámina a cromatografía ascendente con solvente TAB.

Desarrollado el primer cromatograma, se secó a temperatura ambiente y se introdujo en una cámara que contenía el segundo solvente desarrollador (Acido Acético 15%), pero colocando la lámina en dirección perpendicular al primer corrimiento.

Después de obtenido el segundo cromatograma se secó, en la misma forma, y se reveló pasándola previamente sobre vapores de amoníaco y luego se observó con lámpara U.V.

b) CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.-

Preparación de Placas.- Se suspenden 3 gr. de celulosa microcristalina para CCF (Merck), en 17 ml. de agua destilada y se agita utilizando agitador magnético hasta obtener una suspensión homogénea. Esta suspensión se vierte sobre la placa (que ha sido previamente lavada) y se distribuye sobre ella.

Esta suspensión de celulosa se utiliza para preparar una placa de 20x20 cms. ó 3 placas de 5x20 cms.

Las placas se dejan secar a temperatura ambiente durante 6 a 12 horas y luego se activan a 115°C por 5 minutos.

TECNICAS DE APLICACION Y DESARROLLO (6)

Apicación en punto.-

Esta técnica fue utilizada con el objeto de encontrar el solvente desarrollador que proporcionará mejor resolución en la separación de flavonoides presentes en cada extracto.

TECNICA.-

En placas de celulosa de 5x20 cms., se aplican sobre la línea de origen, alícuotas sucesivas de la muestra en estudio dejando un espacio de 1.5 cms. entre una aplicación y otra.

Luego, la placa se desarrolló en forma ascendente, colocándola en una cámara previamente saturada con vapores del solvente (compuesto de Acetato de etilo-ácido acético agua 3:1:3 en el caso del extracto acetato de etilo y el solvente Forestal para el extracto clorofórmico) y con el fondo cubierto hasta 1-1.5 cms. del solvente a utilizar.

c) CROMATOGRAFIA PREPARATIVA EN CAPA DELGADA.-

Una vez encontrado el solvente desarrollador que presentará mejor resolución en la separación de los compuestos, se procedió al aislamiento de éstos mediante la cromatografía preparativa en capa delgada.

Aplicación en Bandas.-

En placas de celulosa de 20x20 cms. se aplican sobre la línea base, con una micropipeta, pequeñas porciones del extracto por separar, formando una banda uniforme.

(6) Sthal, E.- Thin Layer Chromatography, Springer-Verlag-Berlin Heidelberg-N.Y. 1969, pag.63.

Después se desarrolla en forma ascendente empleando el solvente seleccionado.

Desarrollado el cromatograma, se seca a temperatura ambiente y se revela (Reveladores utilizados en CCF para flavonoides (pag. 13)). notándose que los compuestos migran en forma de bancas.

TECNICA DE AISLAMIENTO Y PURIFICACION.-

Las bandas observadas en las cromatoplasmas con lámpara U.V., son raspadas con una microespátula; luego, la cantidad de sustancia separada por este método se trata con metanol caliente, con objeto de solubilizar los flavonoides, separándolos de la celulosa por filtración.

VI) SOLVENTES UTILIZADOS EN CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA Y EN CROMATOGRAFIA PREPARATIVA EN CAPA.

Para Flavonoides.

T. A. B. = Terbutanol - Acido Acético- Agua 3:1:1 v/v/v

B. A. W. = n-Butanol - Acido Acético- Agua 6:1:2 v/v/v

B. A. W. = n-Butanol - Acido Acético- Agua 5:1:4 v/v/v

Se utiliza fase superior

B. A. W = n-Butanol- Acido Acético- Agua 4:1:5 v/v/v

Acetato de Etilo - Acido Acético- Agua 3:1:3 v/v/v

Se utiliza fase superior.

FORESTAL= Acido Acético- Acido Clorhídrico- Agua

30:3:10 v/v/v

Metanol- Agua 50%

Acido Acético- agua 50%

VII) REVELADORES EMPLEADOS EN CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.-

Para Flavonoides.- Se emplearon los mismos reveladores que en cromatografía bidimensional en papel y en cromatografía preparativa en capa delgada, es decir, que la presencia de los compuestos fue determinada observando las tiras de papel o las placas de celulosa en presencia de vapores de amoníaco y luego con lámpara U.V. En algunos casos las placas fueron rociadas con $AlCl_3$ al 1% en metanol y, luego, observadas con lámpara U.V. para mejor visualización de manchas o bandas.

VIII.- IDENTIFICACION DE AZUCARES.

Hidrólisis Acida.- Se utilizó 1 ml. del compuesto disuelto en 2 ml. de la solución 2 N de ácido clorhídrico en etanol y se sometió a reflujo durante 2 horas; después se enfrió a $0^{\circ}C$ y se mantuvo a esa temperatura durante 3 horas. Posteriormente se separó el precipitado del sobrenadante que contenía los azúcares.

IX.- TECNICAS CROMATOGRAFICAS PARA AZUCARES.-

Del sobrenadante obtenido, mediante la hidrólisis ácida, se tomaron pequeñas porciones, con una micropipeta, las cuales se aplicaron en puntos sobre placas de celulosa de 5x20 cms, según técnica descrita para flavonoides en CCF.

X.- SOLVENTES EMPLEADOS PARA AZUCARES.

Las placas se colocaron en una cámara que contenía:
Isopropanol-ácido acético-agua 3:1:1 v/v/v, como solvente desarrollador.

XI .- REVELADOR UTILIZADO PARA AZUCARES.-

Después de evaporado el solvente, las placas se rociaron con el reactivo de Patridge (5), el cual se preparó así: se disolvieron 1.48 grs. de ácido ftálico, 0.9 ml. de anilina destilada y 4 ml. de agua destilada en 48 ml. de butanol; a esta solución se le agregaron 48 ml. de éter etílico.

Las placas rociadas con esta solución se calentaron a 115°C. hasta la aparición de manchas oscuras observables a la luz natural

CROMATOGRAFIA CON SUSTANCIA PATRON.-

Las manchas oscuras de los azúcares patrones preparados con las manchas de los azúcares patrones preparados en placa de 20x20 cms. y se determinaron sus Rf.

XII .- IDENTIFICACION DE FLAVONOIDES.-

Para la identificación de los flavonoides se utilizaron las determinaciones siguientes:

- a) ESPECTRO ULTRAVIOLETA.- Los espectros de absorción al U.V. - fueron obtenidos en un espectrofotómetro visible ultravioleta y se usó como solvente: metanol para análisis (Merck) y como técnica la descrita por Mabry (3)

(b) Domínguez, X.A. Métodos de Investigación Fitoquímica, Ed. Limusa, México- 1a. edición 1973, Cap. 14 pag. 207

(3) Véase obra citada en (3) la pag. 35.

b) MEDICION DEL Rf.

Los Rf fueron determinados por Cromatografía Bidimensional en Papel y los resultados fueron comparados con los valores del Rf citados - por la bibliografía (7)

c) COLOR DE LA MANCHA.-

Se observó el color de la mancha de cada compuesto bajo luz visible U.V., luz visible y U.V. en presencia de vapores de amoníaco y se compararon los colores obtenidos con los colores proporcionados por la - bibliografía (7)

d) IDENTIFICACION DE AZUCARES

Según la técnica descrita

(7) Seikel, M.K. Chromatographic Separation, Isolation and Identification of Phenolic Compounds in Biochemistry of Phenolic Compounds, Ed. J.B. Harbourne, Academic Press London and, N.Y. 1964 pag. 51-56.

RESULTADOS

Siguiendo el procedimiento, expuesto al principio, se obtuvieron dos extractos que dieron positiva la prueba de Shinoda: el extracto acetato de etilo y el extracto clorofórmico.

Para la visualización de los flavonoides, presentes en cada extracto, fue utilizada la cromatografía bidimensional en Papel, según la técnica descrita.

Se visualizaron en total 6 flavonoides: 4 en el extracto acetato de etilo y 2 en el extracto clorofórmico.

Los compuestos flavonoides pueden separarse en dos formas: en solución o como cristales. En el presente estudio los flavonoides fueron separados en solución debido a que: "la separación en solución es más frecuentemente reportada como más fácil y aplicable a cantidades pequeñas"(7)

Para el aislamiento y purificación de los flavonoides detectados en los extractos mencionados, se utilizaron técnicas de Cromatografía en Capa Fina.

EXTRACTO ACETATO DE ETILO.-

a) Cromatografía en Capa Fina.- Se utilizaron placas de celulosa de 5x20 cms. en las cuales se aplicaron en puntos, pequeñas porciones de este extracto. Se utilizó como medio de desarrollo: la mezcla de solventes acetato de etilo-ácido acético-agua 3:1:3, que fue el que dio mejor resolución de todas las mezclas de solventes probadas para este extracto.

(7) Véase pag. 52 de la obra citada en (7)

b) Cromatografía Preparativa en Capa Delgada.

Se utilizaron placas de celulosa de 20x20 cms, en las cuáles fueron aplicadas, en forma de banda, porciones del extracto en estudio y se desarrollaron en cámaras saturadas con el solvente seleccionado (Acetato de Etilo- Acido Acético- Agua 3:1:3)

Se desarrollaron 18 cromatogramas de este extracto de los que, por elución en metanol y purificación de las bandas, se obtuvieron 4 - compuestos.

EXTRACTO CLOROFORMICO.-

a) Cromatografía en Capa Fina .-

Se utilizaron placas de celulosa de 5x20 cms, en las cuáles se aplicaron pequeñas porciones del extracto, y fueron colocadas en cámaras saturadas con FORESTAL que es un eluyente compuesto por una mezcla - de solventes: Acido acético- ácido clorhídrico agua 30:3:10 v/v/v

b) Cromatografía Preparativa en Capa Delgada.-

Se utilizaron placas de celulosa de 20x20 cms, en las cuáles fueron aplicadas, en forma de bandas, porciones sucesivas del extracto por separar y se desarrollaron en cámaras que contenían el solvente: F0 RESTAL.

Se desarrollaron 14 cromatogramas, en que, se obtuvieron 2 compuestos por elución de las bandas en metanol y purificación de éstas.

DATOS OBTENIDOS DE LOS COMPUESTOS AISLADOS Y PURIFICADOS EN EL EXTRAC-
TO ACETATO DE ETILO.

COMPUESTO No.1

No se detectó a la luz natural, ni al pasarlo sobre vapores de amoníaco.

Rf :

T A B : 0.92

HOAc : 0.88

COLOR DE LA MANCHA:

U. V. celeste

U. V./NH₃ celeste

DATOS ESPECTRALES:

MeOH 212-282-334

MeONa 227-254-260

AlCl₃ 205

AlCl₃/ HCl 205-280

NaOAc 206-224-270

NaOAc/H₃BO₃ 230-304

No se pudo determinar su estructura, pero por el color de la mancha podría tratarse de una flavonona.

COMPUESTO No. 2 .-

Color amarillo a la luz natural ; más intenso al exponerlo a vapores -
de NH_3 .

Rf:

T A B : 0.37

HOAc : 0.54

COLOR DE LA MANCHA:

U.V. Violeta-marrón

U.V./ NH_3 Amarillo

DATOS ESPECTRALES:

MeOH 259-266-299-359

MeONa 272-327-410

AlCl_3 275-303-433

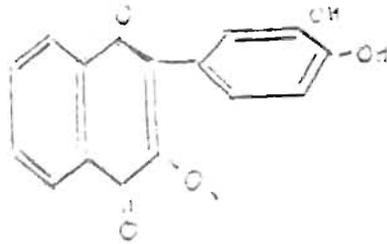
AlCl_3/HCl 271-300-364-402

NaOAc 271-325-393

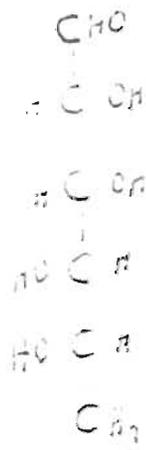
Los datos obtenidos se este compuesto, mediante cromatografía de capa fina y espectroscopía visible-ultravioleta, después de ser analizados por el asesor y comparados, posteriormente, con los datos reportados por Mabry (3) se llegó a la conclusión de que la estructura correspondiente a este compuesto es el de la Rutina, que presenta como núcleo

(3) Véase obra citada en (3) pag. 130 espectro No.69

básico el de un flavonol, cuya estructura es la siguiente:



La hidrólisis ácida de este glicósido dio la Ramnosa, como azúcar que tiene como estructura :



COMPUESTO No.3

Glicósido color amarillo pálido, el cual se intensifica al pasarlo sobre vapores de NH_3

Rf:

T A B : 0.39

HOAc : 0.24

COLOR DE LA MANCHA.-

U. V. Amarillo Pálido
U. V./NH₃ Amarillo

DATOS ESPECTRALES.-

MeOH 208-288
NaOMe 205-288
AlCl₃ 215-288
AlCl₃/HCl 209-286
NaOAc 205-288
NaOAc/ H₃BO₃ 202-250-290

No se pudo identificar, pero por el color de la mancha podría tratarse de un flavonol.

COMPUESTO No.4.-

Color amarillo a la luz natural; más intenso al exponerlo a vapores de NH₃

Rf:
T A B : 0.80
HOAc : 0.82

COLOR DE LA MANCHA:

U.V. Amarillo
U.V./NH₃ Amarillo intenso

DATOS ESPECTRALES:

MeOH 208-218-252-283
MeONa 242-248-254-260-292
AlCl₃ 208-270-310



AlCl_3/HCl	205-250-280
NaOAc	205-280
$\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$	202-280

No se logró determinar su estructura

DATOS DE LOS COMPUESTOS AISLADOS Y PURIFICADOS EN EL EXTRACTO CLOROFOR

MICO.-

Solamente se lograron separar 2 compuestos, los cuáles se designaron por compuesto A y compuesto B.

COMPUESTO "A"

No se detectó a la luz natural.

Rf:
T A B : 0.62
HOAc : 0.40

COLOR DE LA MANCHA:

U. V. Celeste
U. V. NH_3 Celeste

DATOS ESPECTRALES:

MeOH	204
MeONa	241-247-253-259-300
AlCl_3	207-300
AlCl_3HCl	207-300
$\text{NaOAc}/$	215-290-300
$\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$	204-241-247-253-259

La hidrólisis ácida de este compuesto dio ramnosa como azúcar.

COMPUESTO "B".-

Amarillo pálido a la luz natural; amarillo más intenso en presencia -
de vapores de NH_3

Rf:

T A B :0.47

HOAc :0.32

COLOR DE LA MANCHA:

U. V Amarillo intenso

U. V/ NH_3 Amarillo intenso

DATOS ESPECTRALES:

MeOH 205-255-280

MeONa 205-243-248-255-260-285-300

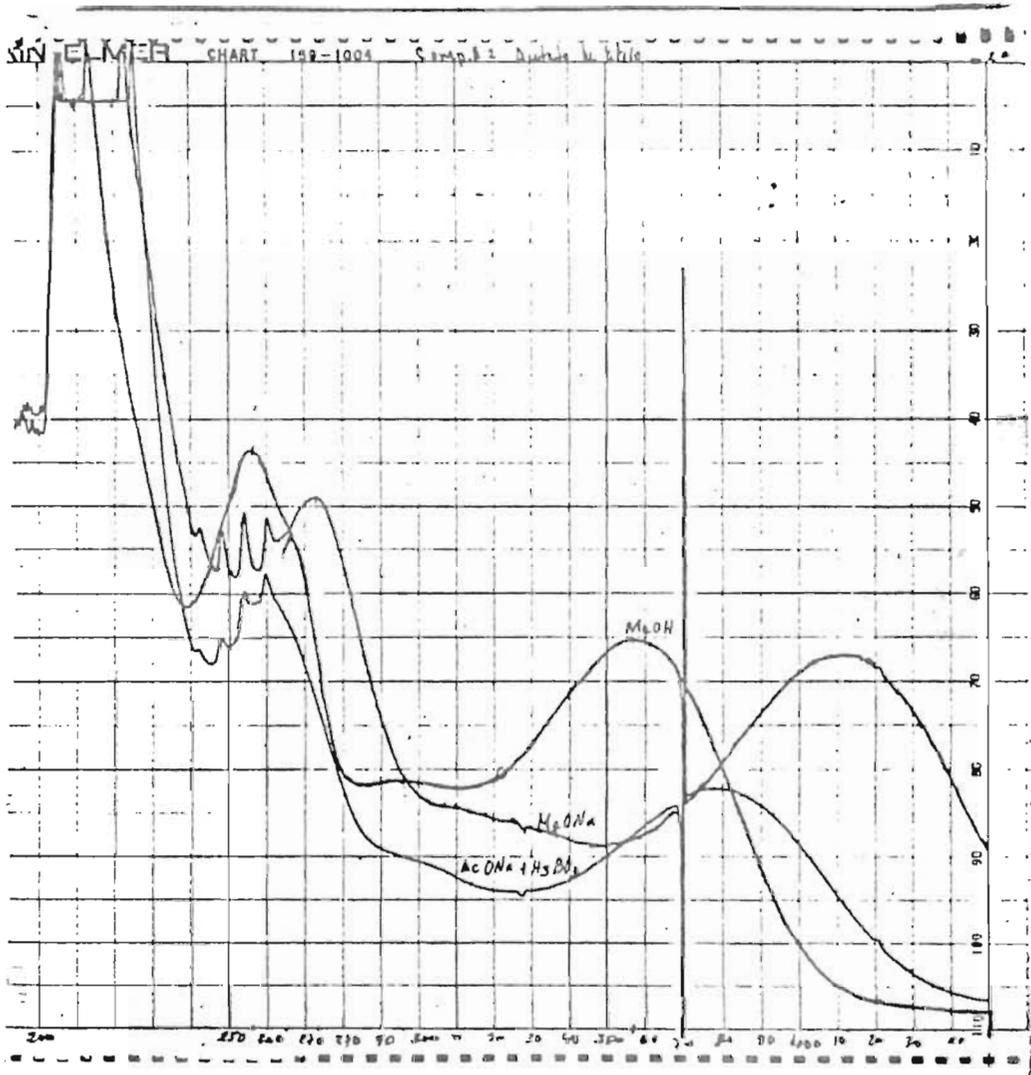
AlCl_3 207-280

AlCl_3/HCl 210-280

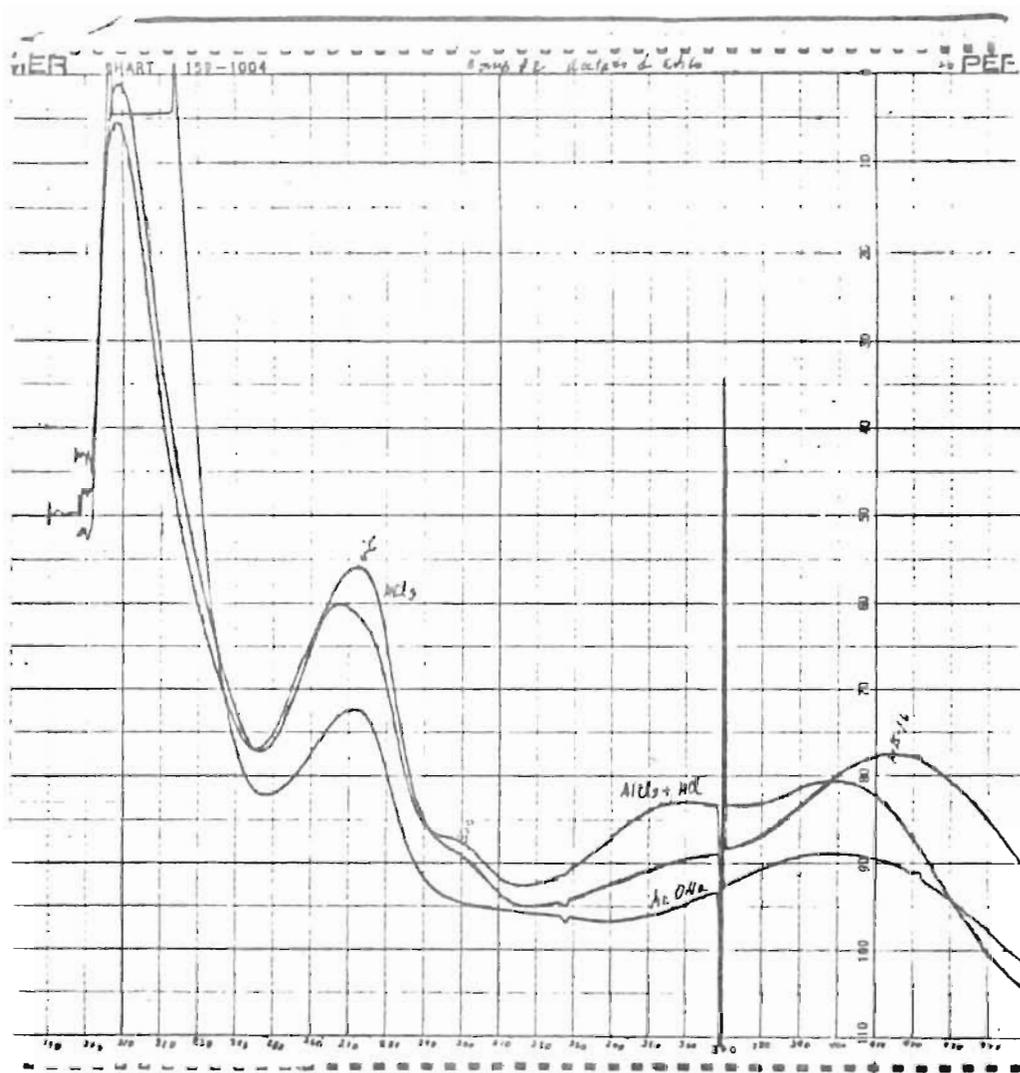
NaOAc 206-228-280

NaOAc/ H_3BO_3 206-280-300-328

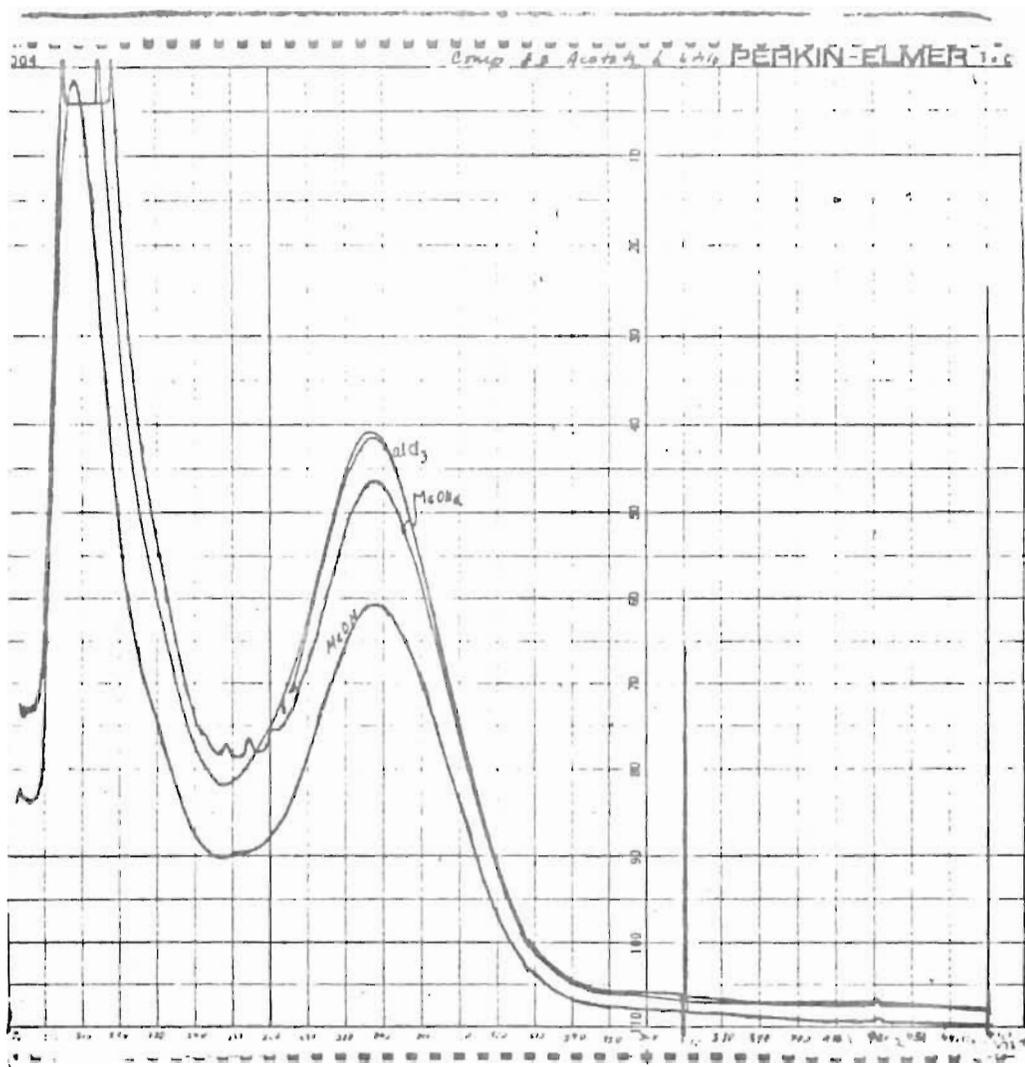
COMUESTO	EXTRACTO		Luz Visible	Luz Visible + NH ₃	Luz U.V.	Luz U.V. + NH ₃
	Acetato de Etilo	Florofórmico				
1	+	-	Incoloro	incoloro	celeste	celeste
2	+	-	Amarillo	Amarillo Intenso	Morado	Amarillo
3	+	-	Amarillo Pálido	Amarillo	Amarillo Pálido	Amarillo
4	+	-	Amarillo	Amarillo Intenso	Amarillo	Amarillo Intenso
ā	-	+	Incoloro	Incoloro	Celeste	Celeste
b	-	+	Amarillo Pálido	Amarillo	Amarillo Intenso	Amarillo Intenso.



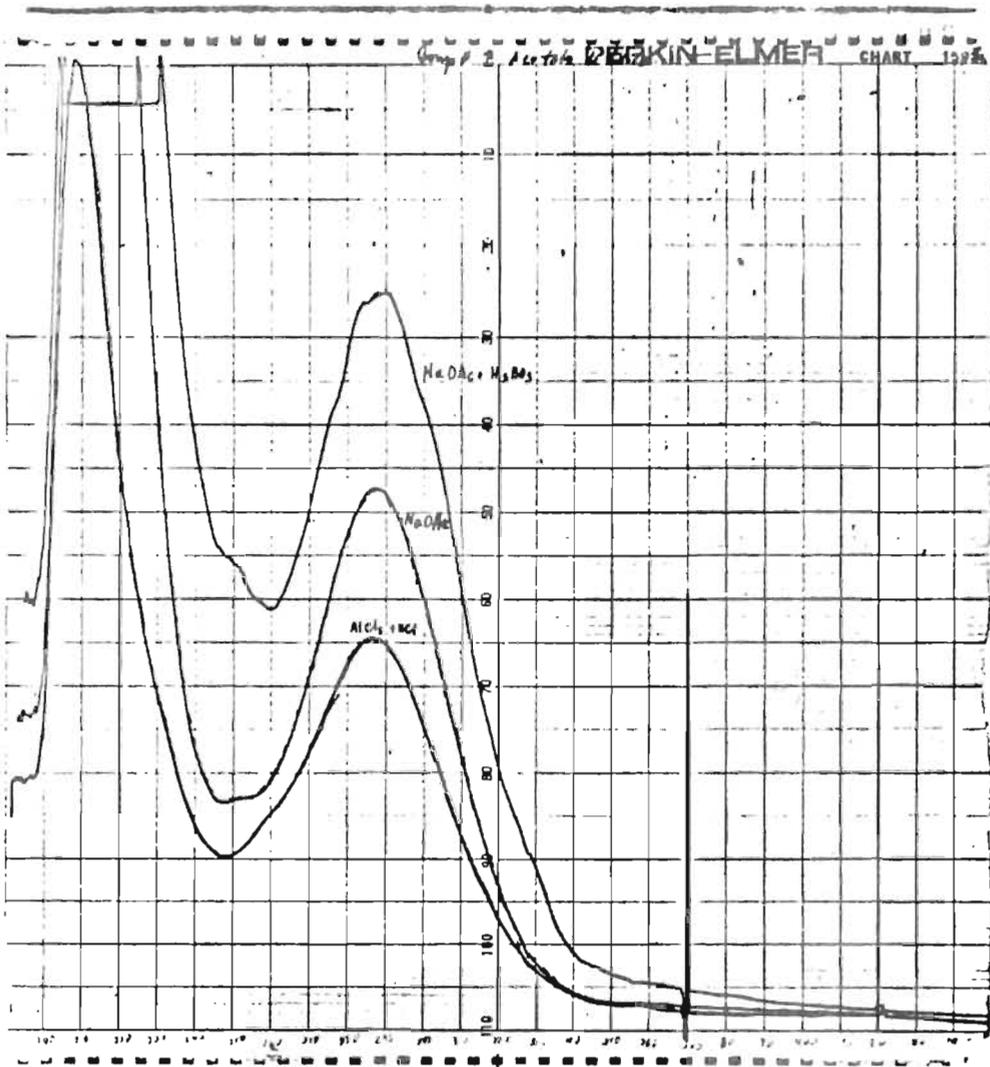
COMPUESTO No. 2 ACETATO DE ETILO



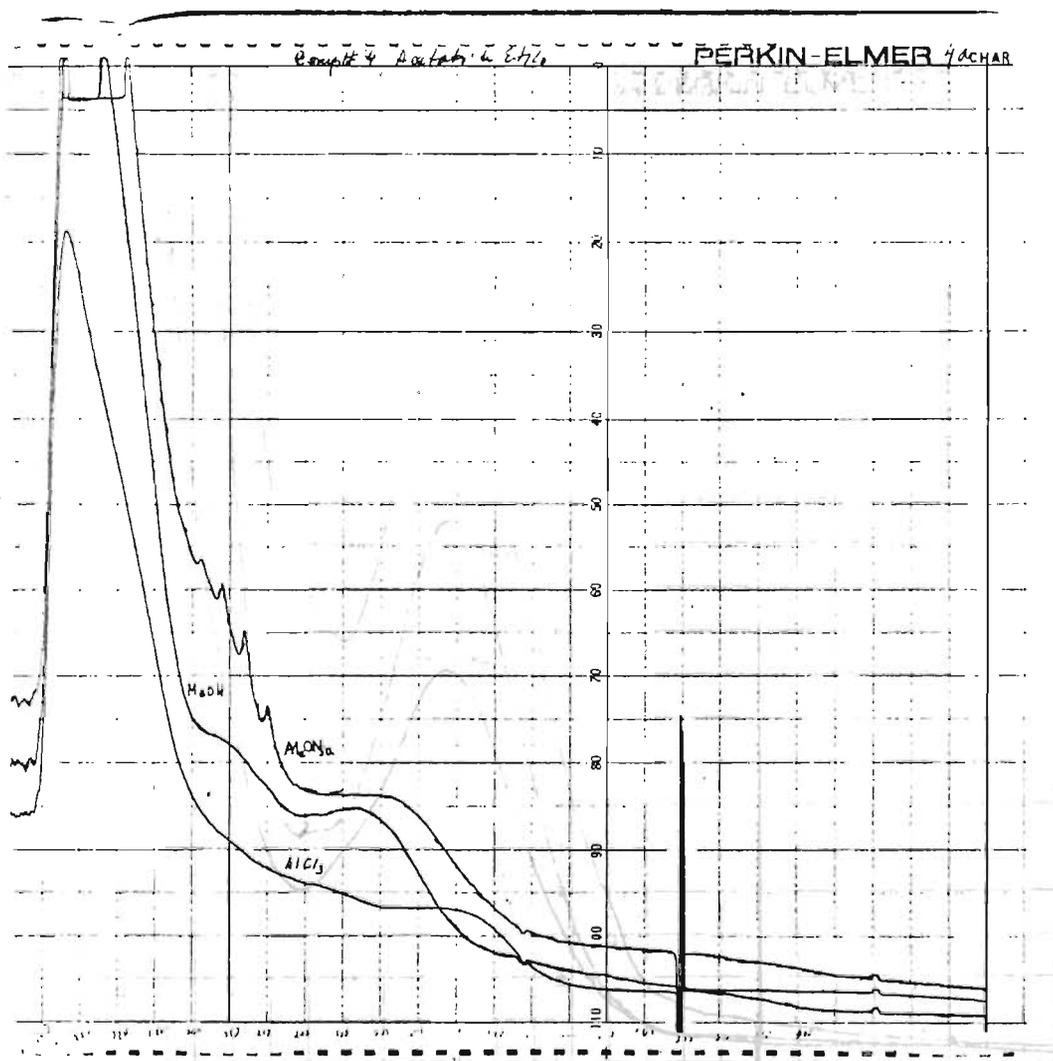
Compuesto No.2.- ACETATO DE ETILO



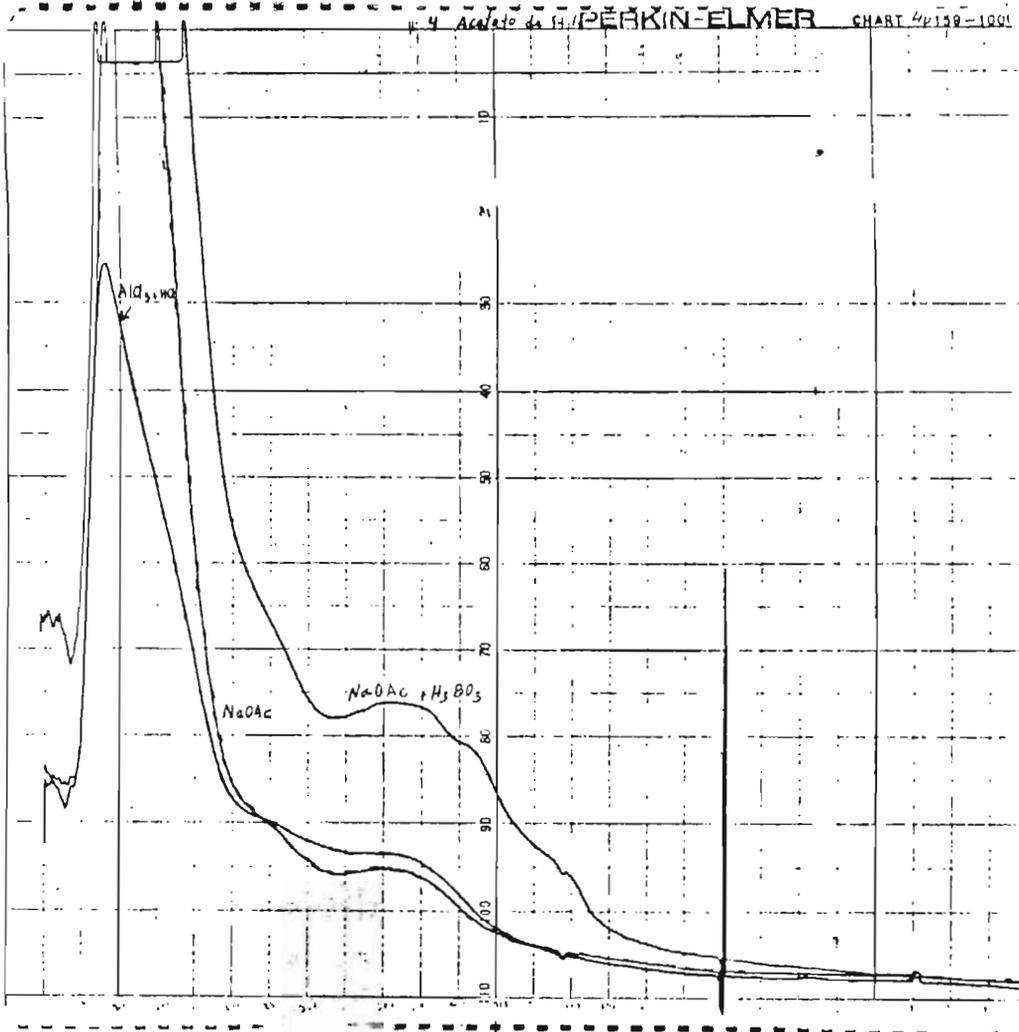
COMPUESTO No. 3.- ACETATO DE ETILO



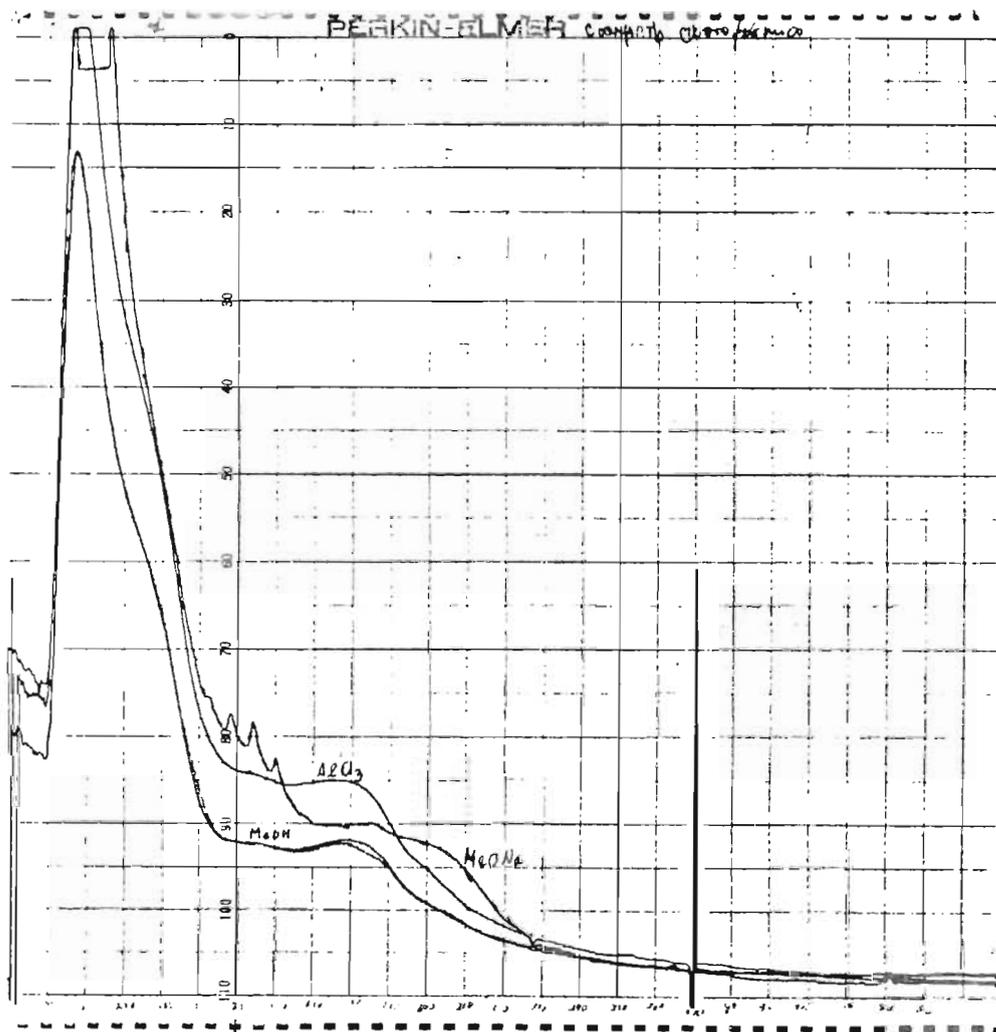
COMPUESTO No. 3.- ACETATO DE ETILO



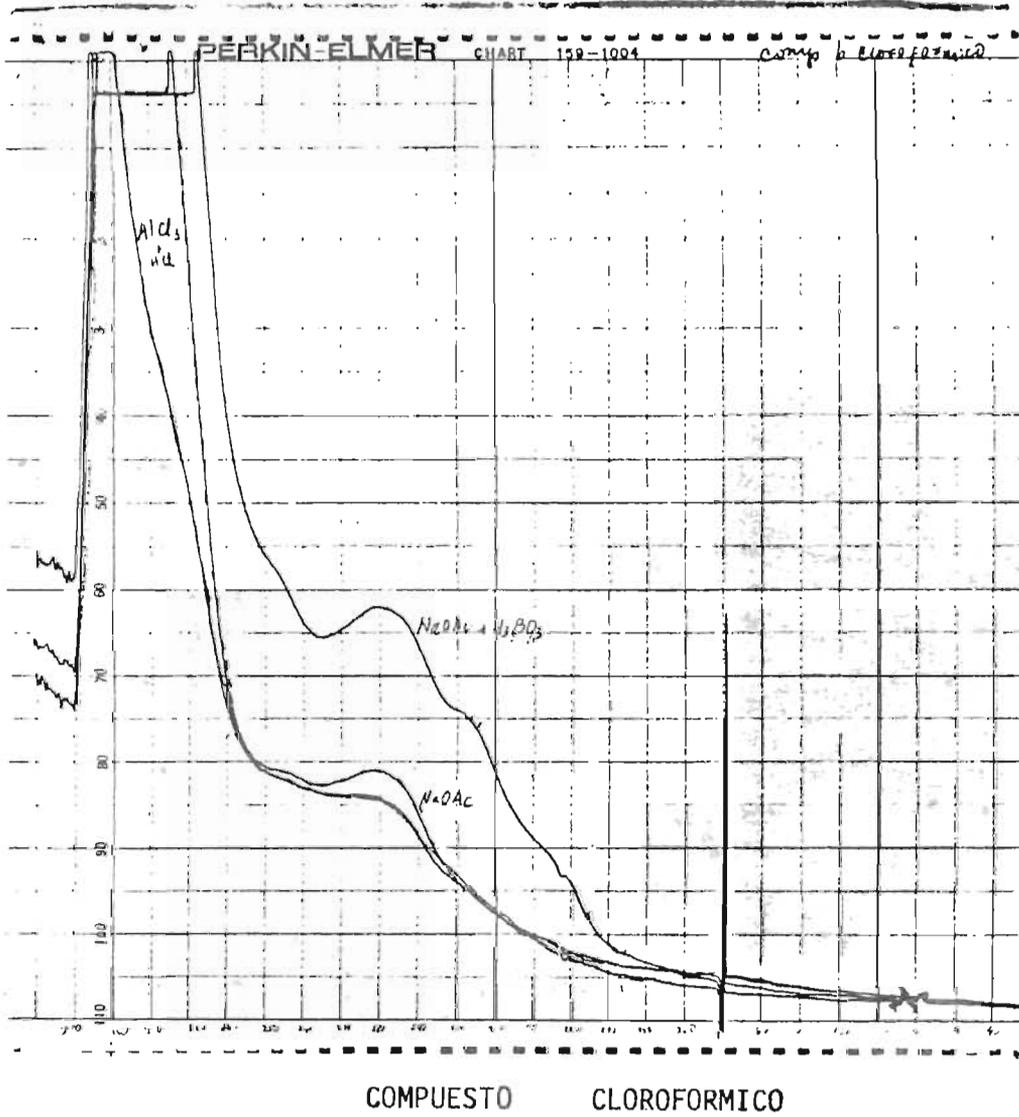
COMPUESTO No.4.- ACETATO DE ETILO



COMPUESTO No. 4 ACETATO DE ETILO



COMPUESTO CLOROFORMICO



C O N C L U S I O N E S

Se encontró que las flores de la especie salvadoreña Thithonia rotundifolia contiene el flavonoide Rutina, que presenta el núcleo básico de un flavonol.

Se determinó que el mejor método para el aislamiento de los compuestos flavonoides, presentes en esta especie, fue la Cromatografía en Capa Fina.

En el extracto acetato de etilo se comprobó que el eluyente que presentó mejor resolución fue la mezcla de solventes:

Acetato de Etilo- Acido Acético- Agua en proporción: 3:1:3.

En el extracto clorofórmico se encontró que el solvente más resolutivo fue el denominado Forestal, compuesto por: Acido Acético- Acido -- Clorhídrico- Agua 30:3:10 .

B I B L I O G R A F I A

- 1.- ABBOT, D. y ANDREWS, R.S. Introducción a la Cromatografía, 2a. ed. Alhambra, S.A. 1970. Cap. 3 pag. 28-29, Cap. 4 pag. 38.
- 2.- BATE SMITH, E.C. Usefulness of Chemistry in plant Taxonomie as illustrated by the Flavonoid Constituents, in Chemical plant Taxonomy, ed. T.Swain, Academic Press London and N.Y. 1963 pag. 127.
- 3.- CALDERON, S. y STANDLEY.P Lista Preliminar de plantas en El Salvador, 2a. Ed. 1941. pag.288
- 4.- CLAUS, E.P. y TYLER,V.E. (h) Farmacognosia, 5a.Ed.El Ateneo, Argentina, 1968, Cap. 4 pag. 124.
- 5.- DOMINGUEZ, X.A. Métodos de Investigación Fitoquímica, Ed. Limusa S.A. 1a. Ed. 1973, Cap. 6 Cap.24 Pag. 207.
- 7.- GARCIA, JOSE G. etal Malezas Prevalentes de América Central-International Plant Protection Center-Oregon State University. U.S.A. 1975 pag. 39
- 8.- GUZMAN, D.J Especies Utiles de la Flora Salvadoreña, - 2a. ed. Imprenta Nacional. S.S. El Salvador, 1926. pag. 436.

- 9.- LAGOS, J.A Compendio de Botánica Sistemática
Casa Impresora Martínez 1973, pag.
244.
- 10.- MABRY, T.J. MARKHAM, K.R.
y THOMAS, M.B. The Systematic Identification of
Flavonoids, Springer-Verlag N.Y. -
Heidelberg-Berlin-1970- cap. I. pag.
VII, 4, cap. V pag. 35.
- 11.- RANDEKAT, KURT, Cromatografía de Capa Fina, Edicio-
nes Urmo, Reimp. Feb. 1970 España
pag. 4, 25
- 12.- ROVELO BATRES, R.A. Comunicación Personal
- 13.- SEIKEL, M.K. Isolation and Identification of Phe-
nolic Compounds, ed. J.B. Harbourne-
Academic Press- London and. N.Y pag.
51 a 59
- 14.- STAHL, EGON Thin Layer Chromatography, Springer-
Verlag-Berlin-Heidelberg -N.Y. 1969.
Pag. 52, 53, 60, 63.
- 15.- SWAIN, T Economic Importance of Flavonoid Com-
pounds- Foodstuffs, in Chemistry and
Biochemistry of plant Pigments, Ed.
T.W. Goodwin. Academic Press London
and. N.Y. 1965, pag. 546 a 549.