

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE UNA FRACCIÓN APOLAR DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LA MADERA DE *CAESALPINIA BAHAMENSIS* LAM (BRASILETE)

Alejandro Felipe^{1*}, David Marrero², Ramón Scull¹, Armando Cuéllar¹, Yamilet Gutiérrez¹

¹ Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana, Cuba.

² Centro de Biopreparados Marinos (CEBIMAR), Cuba

*email: afelipe@ifal.uh.cu

Resumen

Caesalpinia bahamensis (brasilete) es una especie oriunda de Cuba y las Bahamas, donde los extractos de su madera han sido empleados para el tratamiento de la diabetes, úlcera péptica y algunos padecimientos del hígado y los riñones. En Cuba se ha evaluado el efecto diurético de esta planta y se han alcanzado resultados similares a los obtenidos para la Furosemida, utilizada como droga de referencia. Desde el punto de vista químico, solamente se ha informado sobre la presencia de saponinas y ausencia de alcaloides a partir de técnicas de tamizaje fitoquímico. Teniendo en cuenta la escasez de información sobre la composición química de esta especie, se pretende identificar los principales componentes de una fracción apolar del extracto metanólico de la madera, mediante la Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM). Para ello, se extrajeron 500 g de la droga con metanol y posteriormente se fraccionó el extracto con éter de petróleo. La fracción etérea obtenida se concentró bajo presión reducida y se extrajo una alícuota que se derivatizó con N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA) y posteriormente se analizó mediante CG-EM. Los espectros obtenidos para cada compuesto se compararon con los de las bibliotecas de espectros Wiley 275 y NIST 11 del equipo, así como con espectros de la literatura. En este estudio se lograron identificar 74 estructuras químicas. Los compuestos predominantes fueron α -bisabolol (8,02 %); 2,3-butanediol (5,82 %) y su isómero (7,95%); β -sitosterol (7,20 %) y α -cadinol (5,62 %). En base a los resultados obtenidos se concluye que la fracción etérea del extracto metanólico de la madera de *Caesalpinia bahamensis* está constituida, principalmente, por ácidos grasos, esteroides, terpenoides y alcoholes.

Palabras clave: *Caesalpinia bahamensis*, Cromatografía Gaseosa, Espectrometría de Masas, ácidos grasos, fitosteroles, terpenoides, derivatización

CHEMICAL COMPOSITION OF A NON-POLAR FRACTION OF THE METHANOLIC EXTRACT OF THE *CAESALPINIA BAHAMENSIS* LAM (BRASILETE) WOOD

Abstract

Caesalpinia bahamensis (brasilete) is a plant from Cuba and Bahamas. The wood extracts have been used for the treatment of diabetes, peptic ulcer and any liver and renal health problem. In our country, it has been evaluated the diuretic effect of this plant and it has been obtained results similar to Furosemide. About the specie is knowledge the saponins presence and alkaloids absence by phytochemical screening. In this study the chemical composition of the non-polar fraction of the methanolic extract was identified by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). 500 g were extracted of the drug with methanol and after was fractioned with petroleum ether. The petroleum ether fraction was concentrated under reduced pressure. Previous at analysis by GC, the sample was derivatized with MSTFA. The mass spectrum was compared with the Wiley 275 and NIST 11 libraries. 74 chemical structures were identified in this study. The main compounds were α -bisabolol (8,02 %); 2,3-butanediol (5,82 %); β -sitosterol (7,20 %) and α -cadinol (5,62 %). In conclusion, the ether petroleum fraction of the methanolic extract of the *Caesalpinia bahamensis* wood is constituted by fatty acids, phytosterols, sesqui-terpenoids and alcohols.

Key words: *Caesalpinia bahamensis*, Gas Chromatography, Mass Spectrometry, fatty acids, phytosterols, terpenoids, derivatization

Introducción

Cuba con una flora muy variada, un alto porcentaje de endemismo y un amplio conocimiento popular, se convierte en un país con un elevado potencial para la investigación y producción de fitofármacos. Sin embargo, las investigaciones desarrolladas hasta el momento aún no son suficientes en este campo¹.

El género *Caesalpinia* está compuesto por más de 500 especies que en su mayoría, son plantas leñosas que crecen en zonas tropicales y subtropicales. A pesar de que ha sido poco estudiado, se considera que constituye una fuente rica en metabolitos bioactivos con propiedades farmacológicas muy diversas². *Caesalpinia bahamensis* Lam (brasilete), es un arbusto espinoso oriundo de Cuba y las Bahamas que puede alcanzar hasta cuatro metros de altura, cuya madera ha sido empleada por la población para el tratamiento de las enfermedades del hígado, los riñones, diabetes y úlceras crónicas^{3,4}. Sin embargo, en la literatura científica solo se han reportado sus propiedades diuréticas en roedores^{5,6}, así como, la ausencia de alcaloides y la presencia de saponinas por técnicas de tamizaje fitoquímico⁷.

El trabajo que se presenta realiza un aporte al conocimiento de la especie y constituye el primer estudio de la composición química de la planta en el país, al caracterizar algunos de los componentes presentes en la fracción etérea del extracto metanólico de la madera de *C. bahamensis* mediante la técnica de Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM).

Materiales y métodos

Colecta, identificación y procesamiento del material vegetal

Para el estudio se empleó la madera de *Caesalpinia bahamensis* Lam colectada en la Cañada Arroyón, Sierra de los Órganos, municipio San Cristóbal, provincia Artemisa; encontrándose la especie en estado vegetativo. Se identificó en el Jardín Botánico Nacional con número de herbario 85369. La droga obtenida fue sometida a un proceso de secado en estufa (MLW modelo WSU-100 de fabricación alemana) durante 7 días y posteriormente fue molinada (Restech de fabricación alemana) hasta un tamaño de partícula menor de 2 mm.

Obtención de extractos y fracciones

500 gramos de la madera seca y molida de *C. bahamensis* se extrajeron por maceración a temperatura ambiente durante 10 días con 1,5 L de metanol. Posteriormente, se filtró el extracto por lana de vidrio y se repitió dos veces más el proceso con el residuo vegetal. Los tres extractos metanólicos de color rojo se reunieron y concentraron en roto-evaporador hasta un volumen aproximado de 500 mL.

El extracto concentrado se sometió a un proceso de partición con 500 mililitros de éter de petróleo. El proceso se repitió tres veces y las fracciones correspondientes al éter de petróleo se reunieron y concentraron al menor volumen hasta obtener una solución aceitosa amarillo-verdosa.

Análisis por Cromatografía Gaseosa/Espectrometría de Masas

Para la preparación de la muestra se pesaron 50 mg del extracto apolar, se disolvieron en 0,5 mL de cloroformo y se derivatizaron con 100 µL de N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA) a 70°C durante 30 min. en un termostato seco. El análisis se realizó en un cromatógrafo de gases 6890N acoplado a un detector de masas 5975 (Agilent, EUA), con columna capilar HP-5Ms (30 m x 0,25 mm d.i. y 0,25 µm de espesor de película).

El horno se programó desde 60-200 °C (2 min. isotérmico) a 20 °C/min, y desde 200-320 °C (30 min isotérmico) a 80C/min. Se utilizó Helio como gas portador (1 mL/min.). Las temperaturas de interfase, fuente y cuadrupolo fueron: 250, 230 y 150 °C, respectivamente. La energía de ionización fue 70 eV. La adquisición de los espectros de masas se realizó desde 40 a 800 m/z en modo *scan* y la temperatura del inyector fue 320 °C.

La identificación de los componentes dentro del perfil cromatográfico se llevó a cabo por comparación de los espectros de masas obtenidos con los de las bibliotecas de espectros Wiley 275 y la NIST 11 del equipo, así como contra patrones comerciales de ácidos grasos (C10:0-C31:0), de esteroides (colesterol, campesterol, estigmasterol y β -sitosterol) y de alcoholes grasos (C₂₀OH-C₃₀OH), todos con pureza superior al 98% (SIGMA). La cuantificación se realizó por el método de normalización interna.

Resultados y discusión

En el estudio se lograron identificar 74 compuestos que se corresponden con los picos que se observan en el cromatograma. Se puede observar que los compuestos más representados fueron los ácidos grasos, sesquiterpenoides, esteroides y butandiol. En menor cantidad se encuentran los compuestos hidrocarbonados, alcoholes de alto peso molecular, triterpenoides y otros. En la figura 1 se muestra el cromatograma gaseoso del estudio y en la tabla 1 se relacionan los compuestos identificados.

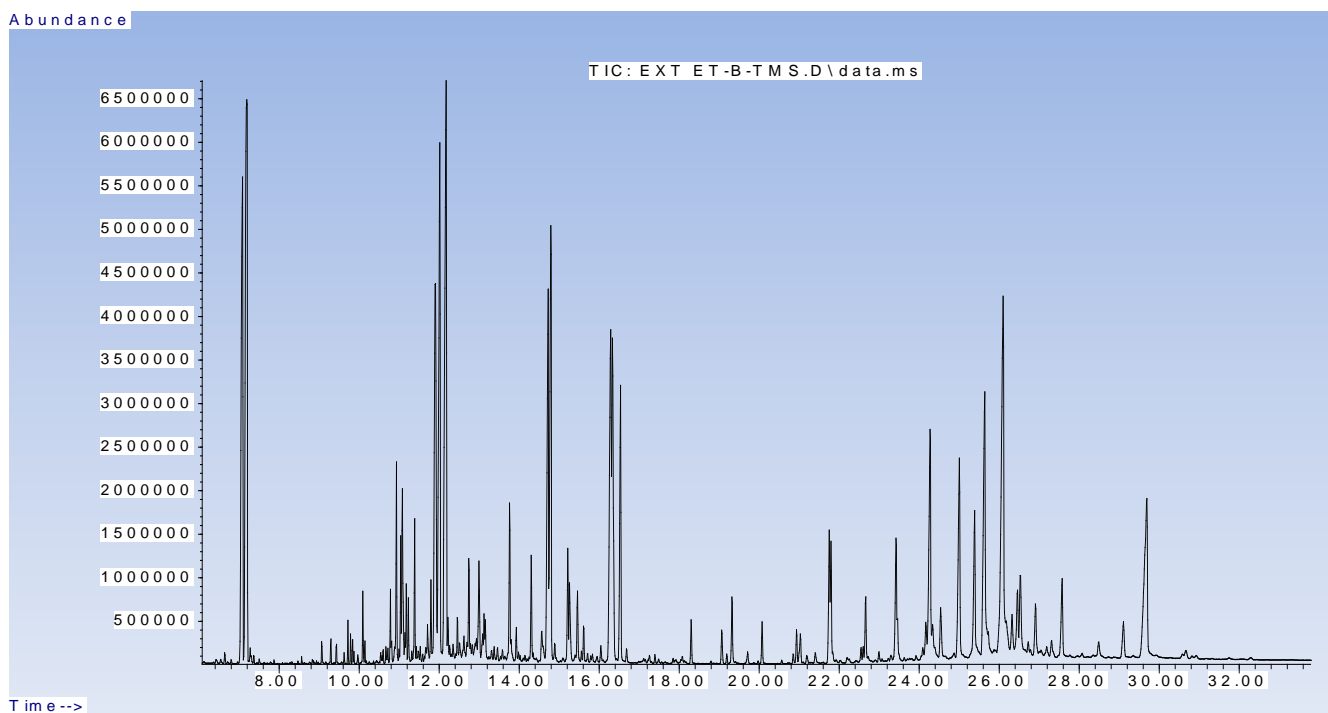


Fig. 1. Cromatograma gaseoso de la fracción éter de petróleo del extracto metanólico de la madera de *C. bahamensis* Lam

Tabla 1. Compuestos identificados en la fracción éter de petróleo del extracto metanólico de la madera de *C. bahamensis* Lam

Pico	tr (min)	Nombre	Cont. (%)
1	7,082	2,3-butanediol	5,82
2	7,195	2,3-butanediol (isómero)	7,95
3	9,069	ácido benzoico	0,13
4	9,295	glicerol	0,14
5	9,432	tridecano (C13)	0,13
6	10,095	2-tetradeceno	0,34
7	10,146	tetradecano (C14)	0,10
8	10,785	γ - muurolene	0,47
9	10,934	α - muurolene	1,21
10	11,041	γ -cadineno	0,56
11	11,082	δ -cadineno	1,32
12	11,233	α -calacoreno	0,33
13	11,387	hexadeceno	0,64
14	11,427	hexadecano (C16)	0,06
15	11,795	cubenol	0,50
16	11,907	δ -cadinol (α -muurolol)	4,94
17	12,016	α -cadinol	5,62
18	12,173	α -bisabolol	8,02
19	12,746	1-octadeceno	0,87
20	13,153	ácido tetradecanoico	0,22
21	13,584	éster metílico del ácido hexadecenoico (C16:1ME)	0,13
22	13,765	éster metílico del ácido palmítico (C16:0ME)	1,39
23	13,932	ácido pentadecanoico	0,25
24	14,567	ácido hexadecenoico (C16:1)	0,44
25	14,723	7,11,15-trimetil-3-metilene-hexadeca-1,6,11,14-tetraeno	3,62
26	14,795	ácido palmítico (C16:0)	4,49
27	15,219	éster metílico del ácido linoleico (C18:2ME)	0,84
28	15,263	éster metílico del ácido oleico (C18:1ME)	0,70
29	15,402	ácido heptadecenoico (C17:1)	0,09
30	15,461	éster metílico del ácido esteárico (C18:0ME)	0,57
31	15,616	ácido heptadecanoico (C17:0)	0,27
32	15,713	1-octadecanol (C18OH)	0,09
33	15,793	éster etílico del ácido linoleico (C18:2Et)	0,05
34	15,834	éster etílico del ácido oleico (C18:1Et)	0,08
35	16,046	1-docoseno	0,15
36	16,288	ácido linoleico (C18:2)	4,14
37	16,336	ácido oleico (C18:1)	3,35
38	16,535	ácido esteárico (C18:0)	2,34

Tabla 1. Compuestos identificados en la fracción éter de petróleo del extracto metanólico de la madera de *C. bahamensis* Lam (Continuación)

Pico	tr (min)	Nombre	Cont. (%)
39	17,261	éster metílico del ácido eicosanoico (C20:0ME)	0,08
40	17,398	ácido nonadecanoico (C19:0)	0,06
41	17,491	1-eicosanol (C20OH)	0,04
42	18,079	ácido eicosenoico (C20:1)	0,05
43	18,303	ácido eicosanoico (C20:0)	0,31
44	19,194	ácido heneicosanoico (C21:0)	0,07
45	19,325	bis(2-etilhexil) ftalato	0,55
46	19,716	monopalmitin	0,11
47	19,975	éster metílico del ácido tricosanoico (C23:0ME)	0,02
48	20,076	ácido docosanoico (C22:0)	0,30
49	20,567	heptacosano (C27)	0,03
50	20,856	éster metílico del ácido tetracosanoico (C24:0ME)	0,08
51	20,939	ácido triosanoico (C23:0)	0,26
52	20,996	1-tetracosanol (C24OH)	0,05
53	21,407	monoestearin	0,13
54	21,755	escualeno	1,11
55	21,798	ácido tetracosanoico (C24:0)	1,00
56	22,549	éster metílico del ácido hexacosanoico (C26:0ME)	0,12
57	22,603	ácido pentacosanoico (C25:0)	0,12
58	22,665	1-hexacosanol (C26OH)	0,56
59	23,422	ácido hexacosanoico (C26:0)	1,23
60	23,457	1-heptacosanol (C27OH)	0,33
61	24,095	estigmastan-3,5-dieno	0,19
62	24,170	éster metílico del ácido octacosanoico (C28:0ME)	0,44
63	24,277	1-octacosanol (C28OH)	2,89
64	24,541	colesterol	0,68
65	25,007	ácido octacosanoico (C28:0)	2,72
66	25,386	campesterol	2,02
67	25,640	estigmasterol	3,81
68	25,729	1-triacontanol (C30OH)	0,41
69	26,101	b-sitosterol	7,20
70	26,459	9,19-ciclolanost-24-en-3-ol,(3-b)	0,90
71	26,532	isómero del anterior	1,34
72	26,912	estigmast-4-en-3-ona	0,71
73	27,311	lup-20[29]-en-3-ol-acetato,(3-b)	0,32
74	27,576	1-tetratriacontanol (C34OH)	1,07

Leyenda: tr (tiempo de retención), Cont. (Contenido)

Discusión

Es importante destacar que a pesar de que el grupo de los fitosteroles y sesquiterpenoides se encuentran representados por pocas estructuras, éstas alcanzan un alto porcentaje en el contenido total de la muestra estudiada, tal es así, que los compuestos predominantes fueron α -bisabolol (8,02 %) y α -cadinol (5,62 %), ambos con estructuras que responden al grupo de los sesquiterpenoides y el fitosterol, β -sitosterol (7,20 %). También se destaca la presencia de ácidos grasos como el palmítico (4,14 %), oleico (3,35 %) y linoleico (4,14 %) que han despertado gran interés debido a sus propiedades anti-inflamatorias y antioxidantes, además de su capacidad de disminuir la Hiperplasia Prostática Benigna.⁸⁻¹⁴

Todas las estructuras citadas no habían sido mencionadas anteriormente para la especie, aunque se han identificado en otras del mismo género. Por ejemplo, los ácidos grasos mencionados anteriormente fueron encontrados en cantidades significativas en las semillas de *C. velutina*, *C. platyloba*, *C. hintonii* y *C. cacalac*.¹⁵

Mediante la técnica de Cromatografía Gaseosa/Espectrometría de Masas se lograron identificar 74 compuestos que no habían sido reportados anteriormente para la especie.

Agradecimientos

A la familia Bastarrica de la Cañada Arroyón (San Cristóbal, Artemisa), en especial a Miguel y Catalina, por la buena atención brindada durante la colecta de la planta.

Literatura citada

1. Soler BA, Porto M. *Experiencia cubana en el estudio y aplicación de medicamentos herbarios*. Revista Cubana de Plantas Medicinales 1997;2(1):30-34.
2. Baldim JL, Carvalho BA, Salles P, Henrique M, Lago JHG, Sartorelli P *et al*. *The Genus Caesalpinia L. (Caesalpinaceae): Phytochemical and Pharmacological Characteristics*. Molecules 2012;17:7887-7902.
3. Roig JT. *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba*. La Habana. Tomo I, 2da Edición. Editorial Ciencia y Técnica, 2012:228-229.
4. Riverón FB, Hernández Y, García A, Escalona RY. *La colección de plantas medicinales del Jardín Botánico de Holguín, Cuba: su importancia social y científica*. Revista del Jardín Botánico Nacional 2015;36:219-222.
5. Pérez M, Morón F, Sueiro ML, Boffill M, Lorenzo G, Méndez OR *et al*. Validación etnofarmacológica de *Nectandracoriaceae (SW) Griseb* y *Caesalpinia bahamensis* Lam reportadas

- como diuréticas en el municipio de Santa Clara. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 2011;16(2):115-134.
6. Felipe A, Gastón G, Scull R, Herrera Y, Fernández Y. *Efecto diurético de los extractos acuosos y secos de Caesalpinia bahamensis Lam (brasilete) en ratas Wistar*. *Revista Colombiana de Ciencia Animal* 2011;3(2). Disponible en: <http://www.recia.edu.cu>.
 7. Dominicis ME, Oquendo M, Batista M, Herrera P. Tamizaje de alcaloides y saponinas de plantas que crecen en Cuba II. Península de Guahanacabibes. *Revista Cubana de Farmacia* 1995;29(1):52-57.
 8. Santos CA, Passos AMPR, Andrade FC, Camargo EA, Estevam CS, Santos MRV *et al*. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Caesalpinia pyramidalis* in rodents. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 2011;21(6):1077-1083.
 9. Kannur DM, Paranjpe MP, Sonavane LV, Prerana P. Dongre, Khandelwal KR. *Evaluation of Caesalpinia bonduc seed coat extract for anti-inflammatory and analgesic activity*. *J Adv Pharm Technol Res*. 2012;3(3):171-175.
 10. Freitas ACC, Ximenes NCA, Aguiar JS, Nascimento SC, Lins TUL, Magalhães LR, Coelho LC *et al*. Biological Activities of *Libidibia (Caesalpinia) ferrea* var. *parvifolia* (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz Pod Preparations. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/514134>.
 11. Pérez Y, Molina V, Oyarzábal A, Mas R. Tratamiento farmacológico en la Hiperplasia Prostática Benigna. *Revista Cubana de Farmacia* 2011;45(1):109-126.
 12. Molina V, Ravelo Y, Mas R, Carbajal D, Arruzazabala ML. Anti-inflammatory and gastric effects of D-002, aspirin and naproxene and their combined therapy in rats with cotton pellet-induced granuloma. *Lat J Pharm*. 2011;30(9):1709-13.
 13. Urquiaga I, Echeverría G, Dussailant C, Rigotti A. Origen, componentes y posibles mecanismos de acción de la dieta mediterránea. *Rev. Med. Chile* 2017;145:85-95.
 14. Gutiérrez A, Nodal C, Bucarano I, Placeres R, Tolón Z, Goicochea E. Toxicología aguda en conejos del D-005, extracto lípidico del fruto de *Acrocomia crispa* (palma corajo). *Revista CENIC Ciencias Biológicas* 2016;47(1):51-57.
 15. Contreras JL, Amor D, Garcia A, Perez, MC, Bratoeff EA, Labastida C. A chromatographic study of flavonoids and fatty acids of four *Caesalpinia* species. *PHYTON* 1995;57(1):31-35.