

**AISLAMIENTO DE 5,4'-DIHIDROXI-7-METOXIFLAVONA  
y 5-HIDROXI-7,4'-DIMETOXIFLAVONA DE  
EUPATORIUM ANGUSTIFOLIUM (H.B.K.) SPRENG  
(COMPOSITAE)**

**CECILIA ESPITIA DE PEREZ\* Y ALBA MERY CESPEDES**

**SUMARIO**

Del extracto etanólico de las hojas de *Eupatorium angustifolium* (H.B.K.) Spreng (Compositae), se aislaron dos compuestos, los cuales se caracterizaron como 5,4'-Dihidroxi-7-Metoxiflavona (7-Metil apigenina o Genkwanina) y 5-Hidroxi-7,4'-Dimetoxiflavona (7,4'-Dimetil apigenina o 7-Metil acetina).

Por metilación exhaustiva de las dos flavonas aisladas, se obtuvo la 5,7,4'-Trimetoxiflavona.

**ABSTRACT**

From the ethanolic extract of the leaves of *Eupatorium angustifolium* (H.B.K.) Spreng, two flavones were isolated and characterized by spectroscopic and chemical data as 5,4'-Dihydroxy-7-Methoxyflavone (7-Methyl apigenin or Genkwanin) and 5-Hydroxy-7,4'-Dimethoxyflavone (7,4'-Dimethyl apigenin or 7-Methyl acetin).

Methylation of the isolated compounds yielded 5,7,4'-Trimethoxyflavone.

**INTRODUCCION**

Como parte del estudio químico que estamos adelantando con plantas del género *Eupatorium* (Compositae), se realizó este trabajo con la especie *E. angustifolium* (H.B.K.). Son muchas las especies del género *Eupatorium* que han sido estudiadas y de ellas se han aislado

---

\* Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.

compuestos con estructuras de tipo flavonoide, lactonas sesquiterpénicas, cromenos y otros terpenos (1–17); algunos de los cuales tienen interés biológico, ya que poseen actividad antitumoral o antibiótica (18–24).

La especie *E. angustifolium* se encuentra en algunas regiones de nuestro país, especialmente en Boyacá, Cundinamarca y Valle del Cauca, en alturas superiores a 2.000 m (25). Es conocida vulgarmente con el nombre de "chilca" y a nivel popular se le atribuyen ciertas propiedades medicinales: se indica su uso en el tratamiento de erisipela, enfermedades oftálmicas y fiebre. En esta especie sólo se ha mencionado la existencia de tres compuestos que son ácido salicílico, inulina y euparina (25).

El presente estudio comprendió el aislamiento de los flavonoides mayoritarios presentes en las hojas y su caracterización por medios espectrocópicos y por la preparación e identificación de sus derivados metilados.

## RESULTADOS Y DISCUSION

De la parte soluble en cloroformo, proveniente del fraccionamiento de un extracto etanólico de las hojas de *E. angustifolium* se aislaron dos compuestos de color amarillo, los cuales presentaron las características típicas de las flavonas.

### 5,4'–Dihidroxi–7–Metoxiflavona (I)

El compuesto I presentó las siguientes características. Su I.R. mostró bandas a 3.260, 3040  $\text{cm}^{-1}$  que sugieren la presencia de hidroxilos y de aromaticidad; en 2918, 2.850 y 1.367  $\text{cm}^{-1}$  de grupos metilo y en 1.660  $\text{cm}^{-1}$  de grupo carbonilo.

El análisis por U.V. en metanol y con reactivos de desplazamiento (26) muestra la presencia de hidroxilos libres en C–5 y C–4'. En metanol se observaron máximos a 338 (hombro a 299) y 268 nm, asignables a las bandas I y II de una flavona. Al adicionar MeONa se observaron máximos a 270, 296 (hombro) y 380 nm, lo que corresponde a un desplazamiento batocrómico de 42 nm de la banda I, indicando la presencia de un hidroxilo en C–4'. La adición de AcONa produjo un corrimiento de la banda I (40 nm), lo cual corrobora la presencia de hidroxilo libre en C–4'. La posición de la banda II permaneció inalterada, lo que supone ausencia de hidroxilo libre en C–7, el cual posiblemente está sustituido (por comparación de los espectros obtenidos con MeONa y con AcONa). La adición de  $\text{AlCl}_3$  ocasionó un desdoblamiento de las dos bandas en 4 máximos a 378, 344, 303 y 278 nm; los cuales permanecieron inalterados por la adición de HCl. Este hecho,

originado en la formación de un complejo estable, indica que la posición C-5 posee hidroxilo libre y se descarta la presencia de dichos hidroxilos en posiciones orto, lo cual se corrobora al permanecer inalterado el espectro en acetato, por adición de  $H_3BO_3$ .

El anterior análisis permite concluir que el compuesto debe ser una flavona 5,4'-dihidroxilada y posiblemente 7-O-sustituída. Este análisis se sustenta con el E.M., el cual presenta señales m/z a: 284 (100%) correspondiente al ión molecular; 166 y 118, asignables a fragmentos A y B obtenidos por un mecanismo retro-Diels Alder, lo que implica la presencia de un hidroxilo y un metoxilo en el anillo A y de un grupo hidroxilo en anillo B, como se había propuesto con base en análisis por U.V. El punto de fusión de este compuesto está dentro de los rangos dados por la literatura (27) para la Genkwanina.

## 5 – Hidroxi-7,4'-Dimetoxiflavona (II)

El compuesto II fue caracterizado así:

En I.R. se observaron bandas a  $3.420$  y  $3.080\text{ cm}^{-1}$ , correspondientes a hidroxilo y aromaticidad; en  $2.820$ – $2.990$ ,  $1.380\text{ cm}^{-1}$  de grupo metilo y en  $1.660$  de carbonilo. El análisis de los espectros U.V. sustenta la presencia de una flavona 5-hidroxisustituída, ya que en sol. metanólica presentó máximos a  $328\text{ nm}$  (banda I), y  $269\text{ nm}$  (banda II). La adición de MeONa, desplazó la banda I en  $36\text{ nm}$  indicando la posible ausencia de hidroxilos libres en las posiciones C-4' y C-3 siendo probable la presencia de hidroxilo en C-5. Con adición de AcONa el espectro permaneció invariable, corroborando la ausencia de hidroxilos libres en C-3, C-4' y C-7. Tampoco se observó variación con la adición de  $H_3BO_3$ , descartándose así la presencia de grupos fenólicos en posiciones orto. La adición de  $AlCl_3$  desdobló las bandas iniciales en cuatro máximos ( $383$ ,  $346$ ,  $302$  y  $279\text{ nm}$ ), cuya posición no varió con la adición de ácido, comportamiento típico para la formación de un complejo estable, indicando así la presencia de un grupo fenólico libre en C-5.

El E.M. presentó señales m/z a: 298 (100%) para el ión molecular; a 162 y 132, asignables a los fragmentos A y B (mecanismo retro-Diels-Alder), indicando que el anillo A posee un grupo -OH y un grupo OMe y el anillo B un grupo -OMe.

La posición de los sustituyentes queda confirmada por el RMN<sup>1</sup>H, el cual presentó a  $3.85\text{ ppm}$ , una señal simple que integra para 6 protones, correspondiente a dos grupos metoxilos; dos dobletes a  $6.37$  y  $6.47\text{ ppm}$  ( $J=2\text{ Hz}$ ), asignables a los protones 8 y 6 de una flavona sus-

tituída en 7; una señal simple a 6.55 del protón 3. Se observaron dos pares de dobletes a 6.99 y 7.80 ppm ( $J=9$  Hz,  $J$ -meta no calculada); situación explicable si se asignan las señales a 6.98 ppm a los protones 3' y 5' y las señales a 7.80 ppm a los protones 2' y 6' de una flavona C-4 sustituída; una señal a 12.82 ppm que integra para un protón y que desaparece con la adición de  $D_2O$ , indica la presencia de un OH quelatado, asignable al hidroxilo en posición 5; correspondiendo así la estructura a la 5-Hidroxi-7,4'-Dimetoxiflavona, la cual fue corroborada con patrón auténtico obtenido de *E. amplum* (28).

### 5,7,4'-Trimetoxiflavona (III)

La metilación exhaustiva de las flavonas aisladas (I y II) produce el mismo derivado, caracterizado como la 5,7,4'-Trimetoxiflavona. Su I.R. indicó la presencia de grupos metilo y carbonilo (2.840, 2.918, 1.342,  $1.645\text{cm}^{-1}$ ). El U.V. en metanol mostró máximos a 325 nm (banda I) y 265 nm (banda II), cuyas posiciones no fueron alteradas por adición de MeONa ni de  $AlCl_3$ ; lo que demuestra la ausencia de grupos fenólicos libres, y que efectivamente la metilación fue exhaustiva. El E.M. presentó señales  $m/z$  a: 312 (100%), correspondiente al ión molecular; a 297 y 284, explicables por pérdidas de metilo y de CO del ión molecular; a 131 atribuible al ión  $[HC \equiv C-\phi-OCH_3]^+$  o fragmento  $B_1$ , obtenido por una ruptura retro-Diels Alder y a 153, asignable a  $[C_8H_8O_3]^+$  que puede provenir de la pérdida de CO del fragmento  $A_1$ . El  $RMN^1H$  mostró señales simples a 3.86, 3.88, y 3.92, de los tres grupos metoxilos y las señales correspondientes a los demás protones (ver parte experimental), asignadas de manera análoga a II, ya que los patrones de sustitución de II y III son iguales. Sus características generales concuerdan con las dadas en la literatura (29).

El hecho de que las dos flavonas aisladas produzcan el mismo derivado, confirma que las dos poseen el mismo patrón de oxigenación, como corresponde a las estructuras propuestas (Ver Fig. 1).

La 5,4'-Dihidroxi-7-Metoxiflavona o Genkwanina es una flavona que ha sido aislada de especies de otros géneros y familias (30). Sin embargo del género *Eupatorium*, del cual se han estudiado más de 60 especies, sólo se ha indicado su aislamiento de una especie, que corresponde al híbrido de *E. capillifolium* y *E. perfoliatum* (27).

Con relación a la 5-Hidroxi-7,4'-Dimetoxiflavona, aislada también de otros géneros y familias (30) se ha encontrado en dos especies del género *Eupatorium*: *E. amplum* (28) y *E. tinnifolium* (29). Resulta interesante observar que dichas especies, incluyendo la aquí estudiada, han sido recolectadas en regiones altas cercanas a Bogotá.

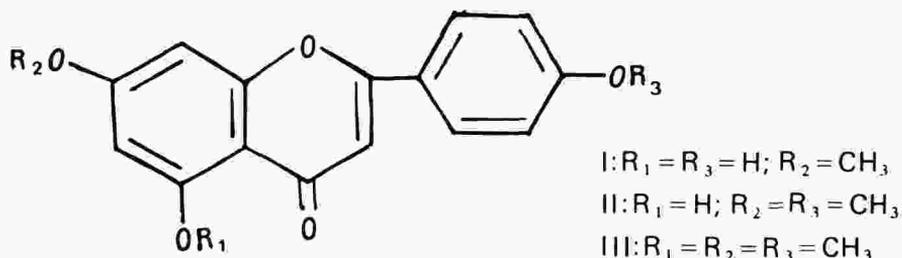


Figura 1

## PARTE EXPERIMENTAL

El material vegetal fue recolectado por C.E. de Pérez y A.M. Céspedes en la carretera que conduce de Tabio a Sochacota (Cundinamarca), a una altura de 2.500 m. Fue determinada por S. Díaz (Instituto de Ciencias Naturales Universidad Nacional de Colombia) y un ejemplar reposa en el Herbario Nacional bajo el número COL. 191513.

Los espectros U.V. fueron tomados en un Beckman 25; los I.R. en un Perkin Elmer 467; los E.M. en un Jeol JMS-015 G-Z; los espectros RMN<sup>1</sup> H en un Perkin Elmer R-128 (60 MHz).

Las hojas secas (1.215 g) se molieron y se extrajeron con etanol al 96% durante 24 horas en soxhlet. El etanol se evaporó a presión reducida. El extracto obtenido se sometió a una partición entre agua y cloroformo. La solución clorofórmica se secó con sulfato de sodio anhidro, se eliminó el solvente a presión reducida y se fraccionó por cromatografía en columna de sílica gel con mezclas de Benceno-Acetato de Etilo como eluyente, controlándola por C.C.D.

### Aislamiento de 5,4'-Dihidroxi-7-Metoxiflavona (I)

De la fracción 17 se separó un sólido (37 mg), el cual se purificó por cromatografía sobre sílica gel (15 g), utilizando como eluyente  $CH_2Cl_2$ -MeOH (98-2) y luego cristalización en MeOH, obteniéndose 25 mg de I, el cual presentó las siguientes características:

pf 286-288 °C. Reveló como mancha amarilla verdosa con sol. metanólica al 5% de  $AlCl_3$  y de color café al U.V. y U.V. con  $NH_3$ ; da positiva la prueba de Shinoda.

I.R.(KBr): 3.260, 3.040, 2.918, 2.850, 1.660, 1.373  $cm^{-1}$   
 U.V. MeOH: 338, 302(hombro), 268nm; MeOH+MeONa: 380, 296(hombro), 270 nm; MeOH + AcONa: 378, 297 (hombro), 270 nm;

MeOH + AcONa + H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>: 335, 303(hombro), 270 nm; MeOH + AlCl<sub>3</sub>:378, 344, 303, 278 nm, inalterado por adición de HCl.

E.M. m/z (%): 284 (100), 285 (18.3), 255 (38), 166 (11.8), 138 (17) 121 (7.8), 118 (9.1).

### Aislamiento de 5-Hidroxi-7,4'-Dimetoxiflavona (II)

La fracción 7 proveniente de la primera columna se sometió nuevamente a cromatografía en columna de sílica gel, utilizando mezclas de Benceno-Acetato de Etilo como eluyente. Se obtuvo un sólido amarillo, el cual dio por cristalización (MeOH:CHCl<sub>3</sub> 1:1) 85 mg y presentó las siguientes características:

I.R. (KBr): 3.420, 3.080, 2.820-2.990, 1.660, 1.380, 1.090 cm<sup>-1</sup>  
U.V.: MeOH:328, 269 nm; MeOH + MeONa:364, 290 nm; MeOH + AcONa:327, 270 nm; inalterado por adición de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; MeOH AlCl<sub>3</sub>:383, 346, 302, 279 nm, inalterado por adición de HCl.

E.M. m/z (%): 298(100), 269 (68), 255 (50), 166(27.5), 138 (34), 135 (46), 132 (36.6).

RMN<sup>1</sup> H (CDCl<sub>3</sub>, δ ): 3.85 (6H, s); 6.37 (1H, d, J=2 Hz); 6.46 (1H, d, J=2Hz); 6.55 (1H, s); 6.98 (2H, dd, J=9Hz, J<sub>m</sub> no calculable); 7.80 (2H, dd, J=9); 12.82 (1H,s) esta señal desaparece al añadir D<sub>2</sub> O. pf. 172-173 °C; prueba de Shinoda positiva.

Al revelar con luz U.V. se visualizó como mancha café, que permanece igual con vapores de amoníaco.

### Obtención de 5,7,4'-Trimetoxiflavona (III)

Las flavonas I y II se suspendieron en éter etílico y se agregó exceso de solución de CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> en éter a temperatura ambiente, hasta fin de reacción que se controló por C.C.D. El éter se evaporó y los productos se cristalizaron en acetona. Los derivados de las dos flavonas resultaron idénticos (co-cromatografía y pf. mixto). La flavona obtenida (III) presentó las siguientes características:

pf. 153-154 °C, produce coloración amarillo verdosa con solución metanólica de AlCl<sub>3</sub>, y al U.V. color azul claro.

I.R.(KBr): 2.918, 2.840, 1.425, 1.450, 1.645, 1342 cm<sup>-1</sup>

U.V.: MeOH: 325, 265 nm; inalterado por adición de MeONa y  $\text{AlCl}_3$ .

E.M.  $m/z$  (%): 312 (100), 297 (98), 284 (14), 269 (25.5), 132 (21.6) 137 (10), 153 (7.5).

RMN<sup>1</sup>H ( $\text{CDCl}_3, \delta$ ): 3.86 (3H, s); 3.88 (3H, s); 3.92 (3H, s); 6.34 (1H, d, J no calculable); 6.50 (1H, d); 6.56 (1H, s); 6.94 (2H, dd, J=9Hz,  $J_m$  no calculable); 7.79 (2H, dd, J=9Hz,  $J_m$  no calculable).

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó gracias a los aportes de Consejo de Investigación y Desarrollo de la Universidad Nacional (CINDEC) y del Proyecto Multinacional de Química (OEA).

## BIBLIOGRAFIA

1. W. HERZ et al, J. Org. Chem., **43**, 3559 (1978)
2. F. BOHLMANN et al, Phytochemistry, **18**, 1401 (1979).
3. W. HERZ, V. GOVINDAN and J.F. BLOUNT, J. Org. Chem., **44**, 2999 (1979).
4. W. HERZ, R. MURARI and S.V. GOVINDAN, Phytochemistry, **18**, 1337 (1979).
5. F. BOHLMANN et al, Phytochemistry, **16**, 1973 (1977).
6. W. HERZ et al, J. Org. Chem., **44**, 2784 (1979).
7. W. HERZ and P. KULANTHAIVEL, Phytochemistry, **21**, 2363 (1982).
8. W. HERZ and P. KULANTHAIVEL, Phytochemistry, **21**, 2475 (1982).
9. F. BOHLMANN, J. JAKUPOVIC and W. VOGEL, Phytochemistry, **21**, 1153 (1982).
10. F. BOHLMANN et al, Phytochemistry, **23**, 1189 (1984).
11. J. BECERRA et al, Rev. Latinoamer. de Quim., **14**, 191 (1983).
12. J.S. CALDERON et al, Phytochemistry, **22**, 2717 (1983).
13. L. QUIJANO et al, Phytochemistry, **21**, 2095 (1982).

14. W. HERZ, N. KUMAR and J.F. BLOUNT, *J. Org. Chem.* **45**, 489 (1980).
15. A.G. GONZALEZ et al, *Phytochemistry*, **16**, 107 (1977).
16. W. HERZ et al, *J. Org. Chem.*, **42**, 2264 (1977).
17. W. HERZ and R.P. SHARMA, *J. Org. Chem.*, **41**, 1015 (1976).
18. T. TAKAHASHI, *Chem. Pharm. Bull.*, 2539 (1979).
19. M.D. MIDGE and A.V. RAMA RAO, *Indian J. Chem.* **13**, 541 (1975).
20. K.H. LEE et al, *Tetrahedron Lett*, N **14**, 1051 (1976).
21. A.T. PcPHAIL et al, *Tetrahedron Lett.*, N **36**, 3203 (1974).
22. S.M. KUPCHAN et al, *J. Org. Chem.*, **38**, 2189 (1973).
23. W. HERZ, S.V. GOVINDAN and N. KUMAR, *Phytochemistry*, **20**, 1343 (1981).
24. K.V. RAO and F.M. ALVAREZ, *J. of Natural Products*. **44**, 252 (1981).
25. H. GARCIA BARRIGA, "Flora Medicinal de Colombia", 1a. ed., Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1975, Vol. 3, pp 347–349.
26. T.J. MABRY, K.R. MARKHAM and M.B. THOMAS., "Systematic Identification of Flavonoids", Springer–Verlag, Berlín (1970).
27. W. HERZ et al, *Phytochemistry*, **11**, 2859 (1972).
28. C. ESPITIA de PEREZ, A.M. ROA y Y. CASTELBLANCO, *Revista Colombiana de Química*, **10**, 17 (1980).
29. B. MORENO et al, *I. Farmaco. Ed. Sci.*, **35**, 457 (1980).
30. E. WOLLENWEBER in "The Flavonoids. Advances in Research" (eds. J.B. Harborne and T.J. Mabry) Chapman and Hall, London, 1982, Cap. 4, p. 191.