

AISLAMIENTO DE 5,4'- DIHIDROXI - 6,7 - DIMETOXI -3-O- GLICOSILFLAVONA DE *AGERATINA GLYPTOPHLEBIA* Y CARACTERIZACION DE SU AGLICONA

Blanca Ligia Higuera y Cecilia Espitia de Pérez

Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de
Colombia. Bogotá, Colombia.

Keywords: *Ageratina glyptophlebia*, 5,4'-Dihydroxy-6,7-dimethoxy-3-O-glicosyl
flavone, 3,5,4'-Trihydroxy-6,7-dimethoxy flavone.

RESUMEN

Del extracto etanólico de las hojas de *Ageratina glyptophlebia* se aisló el glicósido 5,4'-Dihidroxi-6,7-dimetoxi-3-O-glicosil flavona. Su hidrólisis produjo la aglicona correspondiente, cuya estructura fue elucidada por métodos espectroscópicos y por las propiedades de sus derivados metilados.

ABSTRACT

The glycosylflavonoid 5,4'-dihydroxy-6,7-dimethoxy-3-O-glicosyl flavone was isolated from *Ageratina glyptophlebia*. The hydrolysis yielded its aglycone, characterized by spectroscopic methods and derivatization.

INTRODUCCION

El presente estudio se realizó con la especie *Ageratina glyptophlebia*, planta que crece espontáneamente en nuestro territorio, generalmente a alturas superiores a 2.000 m sobre el nivel del mar. Son varias las especies del género *Ageratina* que han sido estudiadas (1-10) y de ellas se han aislado principalmente compuestos terpénicos, cromenos y flavonoides en forma libre y O-glicosidados. Con este trabajo se complementa el estudio iniciado con *A. glyptophlebia*, que ha permitido el aislamiento de flavonas metoxiladas en la posición 6 (11).

RESULTADOS Y DISCUSION

5,4'-Dihidroxi-6,7-dimetoxi-3-O-glicosil flavonol (I):

El fraccionamiento del extracto etanólico de las hojas de *A. glyptophlebia* con solventes de diferentes polaridades, permitió obtener una fracción soluble en

metanol que contenía una mezcla compleja de compuestos flavonoides. De esta fracción, por cromatografías sucesivas, se obtuvo un sólido amarillo, cuyo UV presentó dos máximos de intensidades similares, a 345 y 273 nm, asignables a las bandas I y II respectivamente, típicas de los flavonoides. La posición de la banda I sugiere una estructura de flavonol O-sustituido en la posición C-3. Al adicionar MeONa se observó un desplazamiento batocrómico de 33 nm para la banda I, que denota la presencia de un grupo hidroxilo en la posición C-4'. Al adicionar AcONa no se observó variación significativa de las posiciones de las dos bandas (350 y 270 nm) lo cual permite determinar que el compuesto no posee grupo hidroxilo libre en la posición C-7. La aparición de un hombro en 405 nm sugiere la presencia de un hidroxilo libre en C-4' y la ausencia de éste en C-3 ó C-7. La adición de $AlCl_3$ mostró un desplazamiento batocrómico de 20 nm para la banda I y de 7 nm para la banda II, así como la aparición de dos hombros a 236 y 305 nm, espectro que permanece inalterado al adicionar HCl, lo que indica la presencia de hidroxilo en C-5, en ausencia de hidroxilo en C-3; la magnitud del anterior desplazamiento sugiere oxigenación en C-6. Así mismo se descarta la presencia de orto dihidroxilos, lo cual se corrobora con el espectro tomado en AcONa, que permaneció inalterado al adicionar H_3BO_3 .

De acuerdo al análisis anterior se deduce que el compuesto I es un flavonol con hidroxilos libres en las posiciones C-5, C-4' y con el hidroxilo de la posición C-3 posiblemente sustituido; lo mismo que con posible oxigenación en C-6.

3,5,4'-Trihidroxi-6,7-dimetoxi flavona (II):

La hidrólisis del compuesto I produjo la aglicona II y una mezcla de azúcares no caracterizados.

El UV de II exhibió máximos a 364 nm (banda I) y 260 nm (banda II). La posición de la banda I permite afirmar que el flavonol posee el hidroxilo en C-3 libre, de donde se deduce que la parte glicosídica en el compuesto I, se encuentra enlazada al oxígeno de la posición C-3. Al adicionar MeONa se observó un desplazamiento batocrómico para la banda I de 63 nm, que indica la presencia de hidroxilos libres en C-3 y C-4', y de 11 nm para la banda II, con descomposición lenta, confirmando la presencia de hidroxilo libre en C-3. La adición de AcONa produjo la aparición de un hombro pronunciado a 415 nm, lo cual corrobora la existencia de hidroxilo en C-4' y se descarta su presencia en C-7. No se observó cambio con la adición de H_3BO_3 , lo que permite descartar la presencia de orto-dihidroxilos. La adición de $AlCl_3$ causó desplazamiento batocrómico de 60 nm de la banda I, no alterado por la adición de HCl. La magnitud del desplazamiento de la banda I es la típica observada para las 3-hidroxi y 3,5-dihidroxi flavonas (12).

El EM presentó señales m/z a: 330 (100%), para el ión molecular, lo que corresponde a una fórmula empírica $C_{17}H_{14}O_7$, compatible con una flavona sustituida por tres hidroxilos y dos metoxilos; 287 (92%) que debe corresponder al fragmento $M^+ - [CH_3 + CO]$ el cual junto con la señal a $M^+ - 15$ (ocasionada por la pérdida de metilo) son los más frecuentemente observados para flavonoles C-6 ó

C-8 metoxilados. Considerando que la señal correspondiente a M^+ es mucho más intensa que la $M^+ - 15$ (9%) y que el fragmento $M^+ - 18$ (33%) es mayor del 10%, se puede afirmar que el compuesto II posee un metoxilo en C-6 y no en C-8 (13). Así mismo, el hecho de que el fragmento $M^+ - 43$ sea mayor del 30%, es también indicativo de la presencia de metoxilo en C-6 para flavonoles que tienen hidroxilo libre en C-3. Las señales m/z a 121 y 93 se asignan a los iones B_2 y $[B_2^+ - CO]$ obtenidos por una fragmentación vía II (13), propia de los flavonoles. Considerando la diferencia entre el ión molecular y el ión B_2^+ se deduce la presencia de dos hidroxilos y dos metoxilos en los anillos A y C. Con base en el análisis anterior se establece que la estructura de la aglicona (II) corresponde a la 3,5,4'-trihidroxi-6,7-dimetoxi flavona (Fig. 1), conocida como Eupalitina.

La Eupalitina ha sido obtenida por hidrólisis de varios glicósidos: del glicósido 3-O-Rhamnósido, aislado de *Ageratina ligustrina* (14), de *A. saltillensis* (1) y de *A. calophylla* (3); del glicósido O-galactósido y del O-diglucósido aislados de *Ipomopsis Aggregata* (16). Aunque los glicósidos de la Eupalitina aparecen como poco abundantes en la naturaleza, es significativo el hecho de haberse aislado de otras tres especies de *Ageratina*. Si se tiene en cuenta que la 6,7-dimetoxilación se ha presentado como una característica del género *Ageratina*, la ubicación de la especie (antes *Eupatorium glyptophlebium*) en dicho género sería la apropiada.

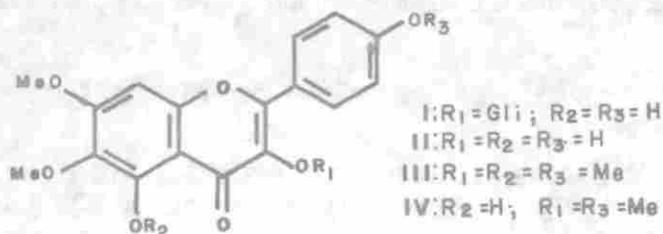


Fig. 1

Metilación de II

La metilación de la aglicona II produjo los productos III y IV (Fig. 1), que corresponden a los derivados penta y tetra-metoxilados respectivamente. El análisis UV de III mostró ausencia de hidroxilos libres, ya que no se observó variación de su espectro original por adición de reactivos de desplazamiento. Para el compuesto IV al adicionar MeONa se observó desplazamiento batocrómico de 44 nm para la banda I, con disminución fuerte de intensidad. Con $AlCl_3$ la banda I presentó desplazamiento batocrómico de 25 nm, inalterado por adición de HCl, lo cual indica la presencia de hidroxilo en C-5. Este es el producto principal de la metilación, explicable porque en las condiciones de la reacción el hidroxilo en C-5 es difícil de atacar.

Se confirman las estructuras de II, III, y IV por la concordancia de sus propiedades con las reportadas (14).

PARTE EXPERIMENTAL

La parte aérea de *A. glyptophlebia* (Rob.) et H. Robinson fue recolectada en el embalse del Sisga, municipio de Chocontá, Cundinamarca, a 2.750 m de altitud. Fue determinada por el profesor Roberto Jaramillo: COL 321519 (Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional).

Las hojas secas y molidas se extrajeron con etanol al 96% durante 48 horas en soxhlet. El etanol se evaporó a presión reducida y el extracto se liofilizó. El liofilizado se extrajo con éter de petróleo y posteriormente con metanol. La fracción soluble en metanol (4g) se fraccionó por cromatografía en columna sobre Sephadex LH-20 (300g); utilizando como eluente mezclas etanol-agua (6:4) variando la polaridad hasta 96% de etanol.

Obtención del compuesto I

La fracción de interés se liofilizó, obteniéndose 0.4 g, los cuales se fraccionaron en una columna tipo Lobar (presión media), RP-8, utilizando como eluente: metanol-agua-ácido acético (5:5:0.5), efectuando gradiente de elución hasta terminar con metanol. La fracción de interés (50mg) se purificó por CCDP en sílica gel G, obteniéndose el compuesto I, que presentó las siguientes características:

pf descompone sobre 200°C (higroscópico). Revela color café oscuro al UV y UV con NH₃.

UV λ nm: MeOH: 345, 273; MeONa: 378, 283, 245(h); AcONa: 405(h), 350, 270; AcONa H₃BO₃: 348, 270; AlCl₃: 365, 305(h), 280, 236(h), inalterado por adición de HCl.

IR (KBr): 1,665 cm⁻¹, entre otras.

Obtención del compuesto II:

El compuesto I se sometió a hidrólisis por reflujo con HCl al 6%, durante 6 horas, controlando la reacción por CCD. Se extrajo con éter etílico, se secó el extracto y se evaporó a presión reducida, obteniéndose el compuesto II, como un sólido cristalino (8mg) el cual presentó las siguientes características:

pf 287-288°C. Revela color café al UV y al UV con NH₃.

UV λ nm: MeOH: 364, 271(h), 260; MeONa: 427, 356(h), 271 (d); AcONa: 415(h), 364, 265; AcONa H₃BO₃: 416(h), 365, 270(h), 263; AlCl₃: 424, 370(h), 305(h), 275, inalterado por adición de HCl. IR (KBr): 3,275, 1,640 cm⁻¹, entre otras.

EM (70eV) m/z (int. relativa. %): 330 (100); 329 (8); 312 (33); 315 (9); 301 (7); 287 (92); 269 (17); 165 (8); 121 (23); 93 (9).

Obtención de los derivados metilados:

El compuesto II (2mg) se hizo reaccionar con exceso de solución de CH_2N_2 en éter a temperatura ambiente; la reacción se controló por CCD. Los productos se separaron por CCDP en sílica gel G, utilizando como eluente tolueno-acetona (9:1). Los compuestos separados se analizaron por espectroscopia UV:

Compuesto III: UV (MeOH) λ nm: 335, 268, inalterado por la adición de reactivos de desplazamiento.

Compuesto IV: UV λ nm: MeOH: 337, 273; MeONa: 283, 289; AlCl_3 : 360, 284, inalterado por la adición de HCl.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó gracias a la financiación del Programa II Expedición Botánica.

BIBLIOGRAFIA

1. S. Yu, N. Fang and T.J. Mabry, *J. Nat. Prod.*, **49**, 1178 (1986).
2. N. Fang, S. Yu, T.J. Mabry and K.A. Abboud, *Phytochemistry*, **27**, 3187 (1988).
3. N. Fang, S. YU and T.J. Mabry, *Phytochemistry*, **25**, 2684 (1986).
4. S. YU, N. Fang and T.J. Mabry, *Rev. Latinoam. Quim.*, **18**, 20 (1987).
5. P. Proksch, J. Palmer and T. Hartmann, *Pflanzl.*, **169**, 130 (1986).
6. G. Tamayo-Castillo, J. Jakupovic, F. Bohlmann, V. Castro and R.M. King, *Phytochemistry*, **28**, 139 (1989).
7. P. Proksch, L. Witte and V. Wray, *Phytochemistry*, **27**, 3690 (1988).
8. A. Morales Mendes and C. Rosquete, *Rev. Latinoam. Quim.*, **19**, 47 (1988).
9. N. Fang and T.J. Mabry, *J. Nat. Prod.*, **49**, 738 (1986).
10. N. Fang and T.J. Mabry, *Phytochemistry*, **27**, 283 (1988).
11. C. Espitia de Pérez, G. Salgado de Pinilla y B.L. Higuera, *Comunicación, XVII Congreso Latinoamericano de Química, Bogotá, Colombia (1986)*.
12. T.J. Mabry, K.R. Markham and M.B. Thomas, "The systematic identification of flavonoids", Springer Verlag, N.Y., 1970.

13. J.B. Harborne and T.J. Mabry, "The flavonoids. Advances in Research", Chapman and Hall, N.Y. (1982).
14. L. Quijano, F. Malanco and T. Rios, *Tetrahedron*, **26**, 2851 (1970).
15. D.M. Smith et al, *Phytochemistry*, **10**, 3115 (1971).