

TERPENOS Y FLAVONOIDES DE *Ageratina fastigiata* (H.B.K.) King & Robinson

Rubén Torrenegra G., Jorge Robles C y Julio Pedrozo P.

*Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Santafé de Bogotá, Colombia.

Keywords: *Ageratina fastigiata*; *Asteraceae*, *Compositae*; ent-kauran-16 β -ol; ent-kauran-16,20-diol; 5-hydroxy-7,4'-dimethoxy flavone; 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxy flavone.

RESUMEN

De los extractos lipofílicos tanto de hojas como de flores, se aislaron e identificaron dos derivados del kaurano: el ent-kauran-16 β -ol y el ent-kauran-16,20-diol y, dos flavonas metoxiladas: la 5-hidroxi-7,4'-dimetoxi-flavona y la 5-hidroxi-3,7,4'-trimetoxi-flavona. Los dos diterpenos confirman la ubicación taxonómica de dicha especie según King y Robinson.

ABSTRACT

From lipophilic extracts (flowers and leaves) were identified and isolated two derivatives of kaurane: ent-kauran-16 β -ol and ent-kauran-16,20-diol, and two known flavones 5-hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone and 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone, were obtained from dried leaves and flowers of *Ageratina fastigiata* (H.B.K.) King & Robinson. The diterpenes confirm the taxonomic position at the genera of this species about King and Robinson.

INTRODUCCION

Ageratina fastigiata (Compositae-Asteraceae, Tribu Eupatorieae, Subtribu Oxylobinae) es un arbusto muy ramificado con inflorescencias blancas y olorosas; es abundante en la sabana de Bogotá en donde se le conoce con el nombre de chilco sin atribuirsele ningún uso en la farmacoepa.

Los trabajos de King y Robinson (1,2) basados en algunas características anatómicas de las inflorescencias e información citogenética, han permitido incluir muchas especies del amplio género *Eupatorium* en *Ageratina*.

La química de *Ageratina* es bastante diversa, muestra numerosos benzofuranos, cromenos, flavonoides, poliacetilenos, sesquiterpenos, diterpenos y triterpenos (1,3). La presencia de diterpenos derivados del Kaurano (4,1,5) y flavonoides con metoxilaciones en los carbonos C6, C7 y C8 es muy común, razón por la cual estos tipos de compuestos han sido utilizados como marcadores taxonómicos para dicha categoría (6).

PARTE EXPERIMENTAL

El material se colectó en el kilómetro 7 de la carretera que de Santafé de Bogotá conduce a Choachí (Cundinamarca). Un ejemplar de la especie se llevó al Herbario Nacional de Colombia donde quedó radicado bajo el No. Col. 331284. El resto del material se separó en hojas e inflorescencias y se secó al medio ambiente para posteriormente molerlo.

Dos kg de hojas secas y molidas se extrajeron exhaustivamente en Soxhlet durante 72 horas con la fracción éter de petróleo 40-60. El extracto se concentró hasta mínimo volumen en el rotavapor a presión reducida, posteriormente se trató con etanol, se filtró y concentró hasta sequedad. Cinco g de dicho extracto se percolaron en una C.C. empacada con 80 g de sílica-gel G-60; eluída con éter de petróleo, mezclas de este y acetato de etilo de polaridad creciente y por último con acetato de etilo. De las fracciones eluídas con la mezcla 10:1 se separó un sólido blanco amorfo que se denominó Af-1. De las fracciones eluídas con la mezcla 7:3 se aisló un sólido amarillo que precipitó en forma de agujas monoclinicas y que se denominó Af-2.

El material desengrasado fue extraído con etanol y se fraccionó L-L con éter de petróleo, diclorometano y acetato de etilo. La fracción diclorometánica se percoló en una C.C. empacada con sílica-gel G-60 que se eluyó con cloroformo, mezclas de cloroformo y acetato de etilo de polaridad creciente y finalmente, con acetato de etilo. De las fracciones eluídas con las mezclas de solventes en proporción 8:2 se aisló un sólido blanco, amorfo no muy soluble en cloroformo, que se denominó Af-3. Para obtener la información espectroscópica que permitiera elucidar su estructura, dicho compuesto fue acetilado; el derivado se rotuló como **Af-3a**.

Se extrajeron 350 g de inflorescencias en Soxhlet con éter de petróleo, obteniéndose dicho extracto. 7 g del extracto se percolaron en C.C. empaca-

da con 100 g de silica-gel G-60 y eluida con éter de petróleo, mezclas de éter de petróleo y acetato de etilo de polaridad creciente y por último con acetato de etilo. De las fracciones obtenidas con la mezcla en las proporciones 15:1 se aisló un sólido amarillo que precipitó en forma de agujas monoclinicas y que se denominó **Af-4**.

Los compuestos denominados **Af-1** y **Af-2** fueron aislados tanto de hojas como de flores.

Los puntos de fusión fueron tomados en un fusiómetro Meltemp. Laboratory Devices; los espectros U.V. se realizaron en un Spectronic 2000 con registrador XY y disueltos en MeOH; los espectros de I.R. se hicieron en fase sólida en pastillas de KBr en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 710B. Los espectros de RMN tanto del protón como del carbono se realizaron en un espectrómetro Spectrometer Jeol FX90Q. Fourier Transf. disueltos en CDCl_3 . Los ángulos de rotación específica fueron tomados en un Polartronic E.

COMPUESTO AF-1: Pf= 214-216°C, Lit. 216-218°C (7); $[\alpha]_D^{20}$ -47.5° (CHCl_3), Lit. $[\alpha]_D^{20}$ -48.5° (CHCl_3).

I.R.(cm^{-1}): 3300(-OH); 2950(CH); 1680(C-C); 1460(CH_2); 1380(GEM DIMETILO); 1120(OH).

RMNH¹ δ (ppm): 0.85 d(6H,2 CH_3); 1.05 s(3H, CH_3); 1.35 s(3H, CH_3); 1.50 s(CH_2); 1.85 s(1H,CH).

RMNC¹³ δ (ppm): 79.41(C, C16); 58.24(CH_2 , C15); 57.05(CH, C9); 56.37(CH, C5); 49.19(CH, C13); 45.38(C, C8); 42.20(2 CH_3 , C14 y C3); 40.52(CH_2 , C7); 39.49(C, C10); 37.84(CH_2 , C1); 33.69(CH_3 , C18); 33.39(C, C4); 27.02(CH_2 , C12); 24.56(CH_3 , C17); 21.66(CH_3 , C19); 20.52(CH_2 , C6); 18.73(CH_2 , C2); 18.13(CH_2 , C11); 17.89(CH_3 , C20).

Los datos espectroscópicos coincidieron con la literatura consultada (4,7).

COMPUESTO AF-2: Pf= 168-169°C, Lit. 166-167°C (4). Es un sólido amarillo en forma de agujas monoclinicas.

U.V λ_{max} (nm): MeOH 327,269; AcONa 328, 268; MeONa 373, 288; AlCl_3 340, 384, 279, 302.

RMNH¹ δ (ppm): 3.80 s(6H,2 OCH_3); 6.40 d(2H, CH de C6 y C8); 6.53 s(1H, CH de C3); 7.00 d(2H, CH de C3' y C5'); 7.80 d(2H, CH de C2' y C6'); 12.80 s(1H, OH de C5).

Los datos espectroscópicos (U.V. y RMNH¹) coincidieron con la literatura consultada (2).

COMPUESTO AF-3: Se acetiló para poder realizar las pruebas tanto químicas como espectroscópicas, obteniéndose el derivado denominado **AF-3a**.

COMPUESTO AF-3a: Pf= 158-159°C. Cristalizó en forma de agujas monoclinicas.

I.R.(cm⁻¹): 2950(CH); 1690(C-C); 1460(CH₂); 1380(CH₃); 1260(OCOCH₃); 1030(C-O).

RMNH¹ δ(ppm): 0.98 s(3H, CH₃); 1.25 d(6H, 2CH₃); 1.55 s(CH₂); 2.10 s(3H, OCOCH₃); 4.20 s(3H, CH₂OCOCH₃).

RMNC¹³ δ(ppm): 183.83(C, CH₂OCOCH₃); 171.37(OCOCH₃); 80.13(C, C16); 68.56(CH₂, C20); 56.81(CH, C5); 55.71(CH, C9); 52.88(CH₂, C15); 45.91(C, C8); 44.80(CH, C13); 43.73(C, C4); 41.82(CH₂, C7); 40.57(CH₂, C14); 39.70(C,C10); 37.77(CH₂, C1); 37.08(CH₂,C3); 29.72(CH₂, C12); 28.94(CH₃^{*}, C17); 22.06(CH₂, C6); 20.95(CH₃^{*}, C18); 19.02(CH₂, C11); 18.45(CH₂, C2); 15.56(CH₃, C19).

Los datos se compararon con la literatura consultada (4,7).

COMPUESTO AF-4: Pf= 143°C, Lit. 154-155°C (4). Sólido amarillo en forma de agujas monoclinicas.

U.V λ_{max} (nm): MeOH 348, 268; MeONa 379, 284; AlCl₃ 345, 398, 278, 303.
RMNH¹ δ(ppm): 3.88 d(9H, 3OCH₃ de C3,C7 y C4'); 6.31 d(2H, CH de C6 y C8); 7.00 d(2H, CH de C3' y C5', J=9Hz); 8.10 d(2H, CH de C2' y C6', J=9Hz.); 12.60 s(1H, OH de C5).

Los datos espectroscópicos coincidieron con la literatura consultada (2,5).

RESULTADOS Y DISCUSION

Del extracto en éter de petróleo de hojas de *A. fastigiata*, se aislaron dos compuestos: un diterpeno derivado del kaurano y un flavonoide, los cuales se purificaron por recristalización y sus estructuras se determinaron por técnicas espectroscópicas.

El **ent-kauran-16 β -ol (Af-1)** con peso molecular de 290 g, que satisface la fórmula molecular $C_{20}H_{34}O$ mostró en el análisis de su espectro I.R. a 3300 cm^{-1} absorción para OH de alcohol la que se confirmó con la señal a 1120 cm^{-1} y a 1380 cm^{-1} una señal para gem dimetilo.

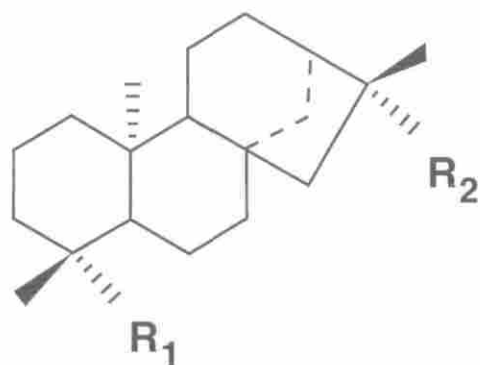
En su espectro de $RMNH^1$ se observaron 3 señales para 4 grupos metilo y, una de ellas, que integra para 6 hidrógenos correspondientes a los 2 grupos CH_3 que están unidos al C4.

El espectro de $RMNC^{13}$ presenta 19 señales para un total de 20 carbonos (una señal corresponde a 2 carbonos de CH_2); a 79.41 ppm aparece la señal para el carbono cuaternario C16 al cual se une el OH originando un desplazamiento hacia campos bajos, también se observan las señales para los 4 carbonos de CH_3 a 33.69, 24.56, 21.66 y 17.89 ppm; las señales 57.05, 56.37 y 49.19 corresponden a los carbonos de los CH en posición C9, C5 y C13 respectivamente.

Las características mostradas son de un compuesto derivado del kaurano. Después del análisis de sus espectros y de comparar con los datos de la literatura se identificó como el **ent-kauran-16 β -ol** (4,7).

La **5-hidroxi-7,4'-dimetoxi flavona (Af-2)** con peso molecular de 298 g, que satisface la fórmula molecular $C_{17}H_{14}O_5$, presenta en su espectro U.V. la banda de absorción BI a 327 nm y BII a 269 nm lo que la ubica dentro del rango de absorción de las flavonas. El comportamiento de la sustancia con los reactivos de desplazamiento indican que no existen grupos -OH libres en las posiciones C7 y C4'; lo que nos indica que deben estar sustituidos por los metoxilos observados en el espectro de $RMNH^1$. Estas sustituciones se corroboran en el espectro de $RMNH^1$ el cual muestra una señal a 3.80 ppm que integra para 6 hidrógenos y corresponden a 2 grupos $-OCH_3$ que se ubican en C7 y C4'; además, las señales de los hidrógenos libres en los carbonos mencionados no aparecen; se observó una señal a 6.40 ppm para 2H de los C6 y C8; a 6.53 ppm aparece singlete que corresponde al H del C3. El espectro de $RMNH^1$ nos indicó que el compuesto tiene un sistema AA'BB'. Los datos coincidieron con los de la literatura consultada (2).

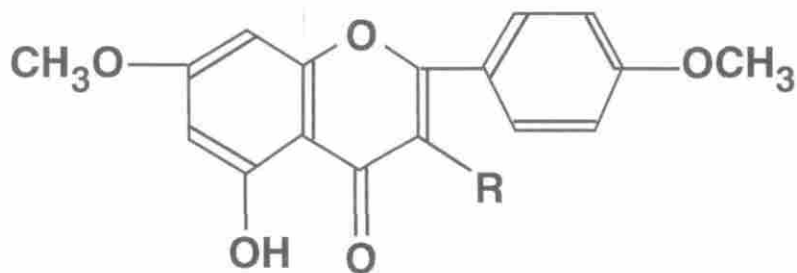
De la fracción obtenida con cloroformo a partir del extracto etanólico se obtuvo un sólido blanco (kauran-16,20-diol, **Af-3**) el cual se acetiló; el diacetato producido presenta las siguientes características espectroscópicas. En su espectro de I.R. se observa como característica importante una banda intensa a 1260 cm^{-1} que corresponde al grupo acetato y a 1030 cm^{-1} una señal para enlaces del tipo C-O del acetato. El espectro de $RMNH^1$ muestra señales para 3 CH_3 y dos grupos acetatos en la estructura, un singlete a 2.10



Af-1 : R₁ = CH₃ ; R₂ = OH

Af-3 : R₁ = CH₂OH ; R₂ = OH

Af-3a : R₁ = CH₂O-CO-CH₃ ; R₂ = O-CO-CH₃



Af-2 : R = H

Af-4 : R = OCH₃

ppm que integra para 3H de CH_3 de un acetato y un singlete a 4.20 ppm que integra para 3H de CH_3 del otro acetato que está unido a un CH_2 . El espectro de RMNC¹³ presenta señales para 22 carbonos lo que es típico de acetatos de diterpenos; se observan 6 carbonos cuaternarios, 2 de los cuales están desplazados a 183.83 ppm y 171.37 ppm que corresponden a los $-\text{COO}$ de los acetatos y los 4 carbonos de C16, C8, C4 y C10; hay 3 señales para CH que corresponden a los C5, C9 y C13; las señales a 28.94 ppm y 20.95 ppm corresponden a CH_3 y tienen doble intensidad porque estas son intercambiables con los CH_3 de los acetatos. Se llegó a la determinación de la estructura por análisis de los espectros y comparando con los datos de la literatura; el derivado (Af-3a) se identificó como el kauran-16,20-diacetato y el aislado (Af-3) como el kauran-16,20-diol (4,7).

Del extracto en éter de petróleo de flores se obtuvo un sólido amarillo que cristalizó en forma de agujas monoclinicas y que se denominó 5-hidroxi-3,7,4'-trimetoxi flavona (Af-4). En su espectro de U.V. muestra señales de la BI a 348 y BII a 268 nm ubicándola dentro del rango de las flavonas, su comportamiento con los reactivos de desplazamiento nos indican que no existen OH libres en las posiciones C3, C7 y C4'. El espectro de RMNH¹ muestra un sistema AA'BB', una señal a 3.88 ppm que integra para 9H que corresponden de 3 $-\text{OCH}_3$ (C3, C7 y C4'); a 6.31 ppm una señal doble que integra para 2H que corresponden a los de C6 y C8; a 7.00 ppm un doblete con un $J=9$ Hz que integra para 2H de los C3' y C5'; a 8.10 un doblete con un $J=9$ Hz que integra para 2H de los C2' y C6'; a 12.6 un singlete que integra para el H del OH del C5. Los datos espectroscópicos y otras características físicas coincidieron con los reportados para la 5-hidroxi-3,7,4'-trimetoxi flavona (2).

Teniendo en cuenta que los compuestos diterpénicos derivados del kaurano son utilizados como marcadores taxonómicos para las especies del género *Ageratina* (1,5), se resalta, el hecho de que dos compuestos de este tipo se hayan podido obtener del estudio químico de *Ageratina fastigiata*, permitiendo corroborar su ubicación taxonómica dentro de esta categoría.

AGRADECIMIENTOS

A la Pontificia Universidad Javeriana por su apoyo económico. Al Herbario Nacional de Colombia por la determinación de la planta.

BIBLIOGRAFIA

1. King M. R.; Robinson, H. *The genera of the Eupatorieae (Asteraceae)*, Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical garden: Missouri., **1987**, Vol 22.
2. Morales M.; Rosquete P. *Rev. Latinoam. Quím.* **1988**, 19, 2, 47-49.
3. Torrenegra, R.; Robles, J.; Pedrozo, J., *Phytochemistry*. **1990**, 29, 1, 305-307.
4. Dey, P. M.; Harborne, J. B. *Methods in plant Biochemistry Terpenoids*, Edited by B.V. CHARLWOOD AND D.V. BANTHORPE. Academic Press. London **1991**, 266 - 269, Vol. 7.
5. Morales M.; Rosquete P., *Rev. Latinoam. Quím.* **1990**, 21, 1, 29-32.
6. Espitia de Pérez, C.; Coconubo, J. *Rev. Colombiana de Química*. **1989**, 18, 1-2, 47-54.
7. Pyrek, J. *J. Nat. Prod.* **1984**, 47, 5, 826.