

## FUKUGETINA Y FUKOGISIDA, BIFLAVONOIDES DE *Clusia guaviarensis* Cuatr. (CLUSIACEAE)

Eduardo Martínez O., Bárbara Moreno-Murillo y Franco Delle Monache\*  
Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional  
de Colombia. A.A. 043087, Santafé de Bogotá, Colombia.

\*Istituto di Chimica, Università Cattolica del Sacro Cuore, CNR, Largo  
F. Vito 1, 00168 Roma, Italia.

**Keywords:** *Clusiaceae*; *Clusia guaviarensis*; biflavonoids; fukugetine;  
fukugiside.

### RESUMEN

De los frutos de la especie nativa *Clusia guaviarensis* (Cuatr.) se aislaron e identificaron los biflavonoides fukugetina 1 y fukugisida 2. Este es el primer estudio fitoquímico de esta especie así como el primer reporte de biflavonoides en el género *Clusia*. La identificación se realizó por técnicas espectroscópicas tales como IR, UV Y RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  así como por comparación con muestras auténticas. Se reporta además la presencia de dos atropoisómeros la cual es evidente en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN a temperatura ambiente.

### ABSTRACT

Fukugetin (Morelloflavone) and Fukugiside have been isolated from the fruits of the species *Clusia guaviarensis* (Cuatr.). This is the first phytochemical analysis of this plant and the first report of biflavonoids in the genus *Clusia*. The identification was performed by IR, UV and NMR Spectroscopies. The presence of two atropoisomers was evident in the  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra at room temperature.

## INTRODUCCIÓN

El género *Clusia* de la familia Clusiaceae, anteriormente considerada como subfamilia del grupo Guttiferae, incluye numerosas especies tropicales, maderables y en Colombia su número es superior a 100; los reportes de la literatura muestran que este grupo es rico en derivados terpenoides (1,2) y benzofenonas polisopreniladas en los frutos, raíces y hojas (3,4,5) con datos muy escasos sobre la presencia de flavonoides (6). El hallazgo de biflavonoides en el género *Clusia* es importante desde el punto de vista fitoquímico debido a que forman parte del grupo conocido como flavonoides de *Garcinia* (7), género asignado a la misma subfamilia a la cual pertenece el género *Clusia* (Clusioideae).

Además del interés quimiotaxonómico se han adelantado estudios de esta y otras especies del género *Clusia* con respecto a las potenciales aplicaciones derivadas de su bioactividad; entre otras sobresalen la acción terapéutica como antimicrobiano de uso tradicional, en el tratamiento de afecciones de la piel y recientemente algunos compuestos han presentado actividad inhibitoria del Virus de Inmunodeficiencia Humana (HIV)(5).

En el presente trabajo, primer estudio de esta especie, se reporta por primera vez el aislamiento e identificación de fukugetina (Morelloflavona) y de 7-O-glucosil-fukugetina (Fukugisida) biflavonoides del tipo flavanona-flavona (caracterizados por la unión I-C3,II-C8), como nuevos compuestos del género *Clusia*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del extracto en acetona de los frutos de *Clusia guaviarensis* y de la fracción soluble en acetato de etilo se aislaron por métodos cromatográficos dos compuestos de R<sub>f</sub> similar, los cuales se caracterizaron como flavonoides por medio de las reacciones de Shinoda y la de Marini-Bettolo (8). Los sólidos de color amarillo rojizo se recrystalizaron con Acetato de Etilo y mostraron en IR absorciones fuertes a 3380 cm<sup>-1</sup> (grupos OH) y a 1650 cm<sup>-1</sup> (grupo carbonilo). El espectro UV de los dos compuestos consta de dos bandas de absorción máxima en las regiones de 290-300 nm y de 318-329 nm, típicas de un cromóforo acilfloroglucinol (9). Los espectros de RMN de <sup>1</sup>H y de <sup>13</sup>C del compuesto **1** a temperatura ambiente en C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N a 300 y 75 MHz respectivamente, presentaron señales duplicadas con valores muy parecidos y con baja resolución, situación considerada en primera instancia como causada por la presencia de impurezas. Al replicar los espectros a 75 °C mejoró la resolución y la intensidad relativa de las señales dobles varió lo cual se puede explicar por fenómenos de atropoisomerismo. La dependencia

de las señales en los espectros de RMN con respecto a la temperatura se atribuye a la existencia de varias conformaciones moleculares a temperaturas bajas o ambiente, producidas por enlaces fuertes de hidrógenos intra o intermoleculares con grupos hidroxilos presentes (10), no reportadas previamente.

El espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del compuesto 1 muestra una señal en  $\delta=5,34$  ppm (d,  $J=11.8$  Hz) asignable a los protones del anillo heterocíclico de una flavanona sustituida en C-3 por la ausencia de la señal alrededor de 2,8 ppm; también se observa una señal singlete en 6,80 ppm correspondiente al hidrógeno situado en la posición C-3 del anillo heterocíclico de una flavona. El grupo de señales en 6,47 ppm (d,  $J=1.4$  Hz), 6.58 ppm (d,  $J=1.4$  Hz) y 6,73 ppm (s) es compatible con una 5,7 dihidroxilación y un enlace entre I-C3 y II-C8 de un biflavonoide (11), (Figura 1). Las señales de RMN de  $^{13}\text{C}$  para la mayoría de los átomos de carbono de algunos biflavonoides con enlace C3-C8 se pueden asignar con la ayuda de los espectros de los monómeros correspondientes (9); los desplaza-

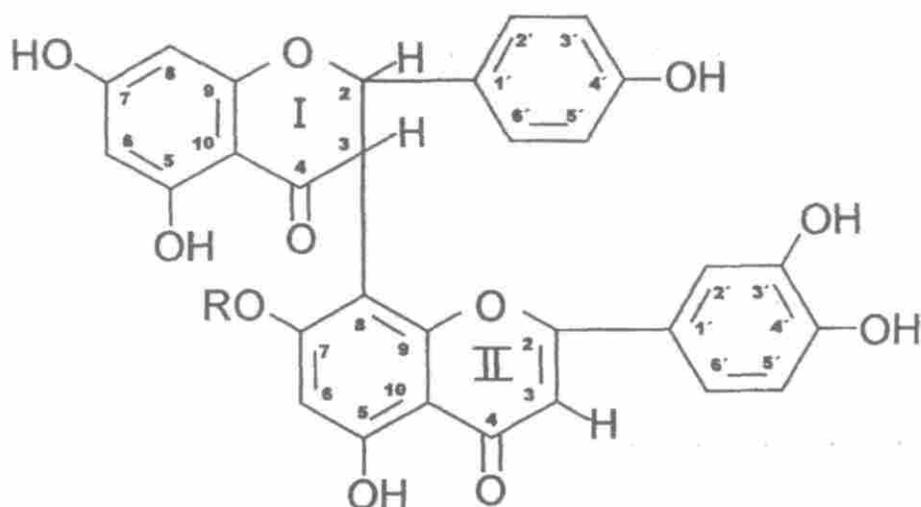


Figura 1.

mientos químicos de 82.6 ppm y 50.6 ppm corresponden a los carbonos I-C2 y I-C3 del anillo C de la flavanona del compuesto 1 y las señales en 165.0 ppm y en 104.3 ppm se asignan a los carbonos II-C2 y II-C3 de la flavona del mismo compuesto. Los desplazamientos químicos para los carbonos de las posiciones 8 de los correspondientes monómeros del compuesto 1 presentan valores muy similares alrededor de 96.9 ppm; sin embargo la aparición de una señal a campo más alto en 102.4 ppm confirma la sustitución en C-8 del compuesto 1. Los datos de RMN de  $^{13}\text{C}$  para el compuesto 2, concuerdan con la mayoría de los del compuesto 1 mostrando además una 7-O-sustitución por el desplazamiento a campo más bajo de 1,6 ppm del carbono correspondiente. En la región entre 62.1 ppm y 79,5 ppm aparecen las señales atribuidas a los carbonos 2, 3, 4, 5 y 6 de una glucosa y la señal en 102,2 ppm corresponde al carbono número 1 de la misma; todas las señales son dobles con mayor intensidad para el primer valor puesto que los datos de RMN de  $^{13}\text{C}$  para el compuesto 2 se reportan a temperatura de 25 °C y registrados en  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$  en tanto que los datos de la literatura se registraron en  $\text{DMSO-d}_6$ . El estudio espectroscópico, el comportamiento químico y la comparación con datos de la literatura (12,13) conducen a proponer para el compuesto 1 la estructura correspondiente a Fukugetina (morelloflavona) y para el compuesto 2 la del respectivo derivado glicosidado 7-O-glucosil-fukugetina (Fukugisida). Además la identificación de la fukugetina fue confirmada por comparación con una muestra auténtica aislada de especies del género *Rheedia* (Guttiferae) (14). Con referencia al glucósido, a este se le realizó una hidrólisis ácida (HCl/MeOH) y la aglicona obtenida se comparó con la fukugetina (cocromatografía y pf mixto).

## PARTE EXPERIMENTAL

La especie *Clusia guaviarensis* (Cuatr.) es un árbol epífita de fruto verde claro con bandas rojizas entre 15 a 25 mm de diámetro, 5-7 estaminoides; segrega un látex incoloro, glauco y pegajoso. Las hojas miden entre 5-12 cm son oblongas, ovovadas opuestas y con cuatro sépalos externos; la planta es pluriflorae. La muestra se recolectó en el Caño Cristales (Sur del Departamento del Meta) en los alrededores de la denominada cascada 1, a 500 msnm (BMM 1041) en abril de 1993 y fue clasificada por el Prof. R. Jaramillo del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá.

Los frutos secos y molidos (200.0 g) se extrajeron con acetona por percolación en frío; el extracto acetónico se separó en diversas fracciones por extracción con solventes de polaridad creciente y la fracción soluble en Acetato de Etilo (2,5 g) se separó por Cromatografía en Columna (CC)

en gel de sílice, eluida con gradiente de  $\text{CHCl}_3$ -MeOH. Se colectaron 5 fracciones importantes a saber: E1 (200 mg) con  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (9:1); E2 (86 mg) y E3 (201 mg) con  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (8:2); E4 (130 mg) y E5 (180 mg) con Metanol. La recristalización de E1 en AcOEt produjo Fukugetina 1 (Morelloflavona) (86 mg) y al reunir las fracciones E2, E3 y E4 por CC en gel de sílice y elución con  $\text{CHCl}_3$ -Acetona (50:50) y posteriormente con  $\text{CHCl}_3$ : MeOH (95:5) se obtuvo 1 seguido de la fukugetina-7-O-glucosido 2, (35 mg), el cual eluyó con mezclas de gradiente creciente de cloroformo-Metanol (9:1 a 1:1).

Para el registro de los espectros IR se utilizó un equipo Perkin Elmer 1750 IFTS serie N 13061, con muestra en KBr anhidro; los espectros de UV se registraron en un instrumento Hewlet-Packard 8451A con arreglo de diodos en Metanol bidestilado grado UV, en el Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia. Para los registros de RMN de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$  se utilizó un equipo Gemini 300 a 300 y 75 MHz.

**Fukugetina(1)** (Morelloflavone) Cristales amarillos rojizos, de acetato de etilo, pf 287° (d).  $^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ; 75°C): 197.6 (I C-4), 183.2 (II C-4), 168.6 (I C-7), 166.0 (I C-5), 165.0 (II C-2), 164.6 (I C-9), 163.8 (II C-7), 162.7 (II C-5), 159.6 (I C-4'), 157.2 (II C-9), 151.9 (II C-4'), 148.0 (II C-3'), 129.9 (I C-1'), 129.6 (I C-2', 6'), 123.1 (II C-1'), 120.0 (II C-6'), 117.2 (II C-5'), 116.2 (I C-3', 2'), 115.1 (II C-2'), 105.4 (II C-10), 104.3 (II C-3), 103.5 (I C-10), 102.4 (II C-8), 100.2 (II C-6), 98.1 (I C-6), 96.9 (I C-8), 82.6 (I C-2), 50.6 (I C-3).  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ; 75°C): 8.0 (d, J=1.6 Hz; II H-2'), 7.96 (dd, J=9.8 Hz, II H-6'), 7.67 (d, J=8.3 Hz, I H-2', 6'), 7.38 (d, J= 8.2 Hz, II H-5'), 7.00 (d, J=8.3 Hz, H-3', 5'), 6.8 (s, II H-3), 6.73 (s, II H-6), 6.58 (d, J=1.4 Hz, H-6), 6.47 (d, J=1.4 Hz, H-8), 6.48 (d, J=11.8 Hz, I H-2), 5.34 (d, J= 11.8 Hz, I H-3).

**Fukugisida (7-O-glucosil-fukugetina) (2)**  $^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ; temperatura ambiente): 197.7, 196.3 (I C-4), 183.0 (II C-4), 169.5, 168.6 (I C-7), 165.8, 165.9 (I C-5), 165.3, 165.6 (II C-2), 164.4, 164.1 (I C-9), 162.2, 162.7, 162.0 (II C-7, II C-5), 159.9, 159.3 (I C-4'), 155.3, 156.1 (II C-9), 152.5, 152.3 (II C-4'), 148.5, 148.0 (II C-3'), 129.7, 128.3 (I C-1'), 131.0, 129.6 (I C-2', 6'), 122.8, 122.7 (II C-1'), 119.7, 120.0 (II C-6'), 115.9, 117.1 (II C-5'), 115.3, 114.7 (II C-2'), 116.5, 116.9 (I C-3', 5'), 106.7, 106.4 (II C-10), 104.3, 103.9 (II C-3), 103.5, 103.8 (I C-10), 103.1, 103.0 (II C-8), 102.2, 102.6 (G-1), 100.2 (II C-6), 98.0 (I C-6), 96.7, 96.6 (I C-8), 83.8, 82.4 (I C-2), 79.3, 79.5 (G), 78.7, 79.1 (G), 74.9, 75.3 (G), 71.1, 71.3 (G), 62.1, 62.3 (G-6), 48.5, 50.5 (I C-3).

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó gracias al apoyo financiero de Colciencias (008-94) y de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia.

## BIBLIOGRAFIA

1. García Barriga, H. "*Flora Medicinal de Colombia*" Tomo II, Ed. Imprenta Nacional - Fondo Colombiano de Investigaciones Científicas y Proyectos Especiales. Bogotá, 1975, 210-217.
2. Hasbun, C., Castro, O., and Delle Monache, F. *Fitoterapia*, 1989, 60, 190.
3. Martínez, E., González, J., and Delle Monache F. *Phytochemistry*. 1994, 36, 473-475.
4. González, J., Martínez, E. and Delle Monache, F. *Phytochemistry*. 1995, 38, 485-489.
5. Oliveira, C.M.A., Porto, A. M., Bittrich, V., Vencato I. & Marsaiole, A. *Tetrahedron Letters*. 1996, 37 (36), 6427-6430.
6. Delle Monache, F. *Rev. Latinoamer. Quim.* 1991, 22, 27-29.
7. Gunatilaka, L. et al. *Phytochemistry*. 1984, 23, 323-328.
8. Domínguez, X. "*Métodos de Investigación Fitoquímica*". Ed. Limusa, México, 1973, 84.
9. Duddeck, B., Snatzke, G., and Yemul, S. *Phytochemistry*. 1978, 17, 1369-1373.
10. Jackson, B., Locksley S. and Scheinmann, J. *J. Chem. Soc.* 1971, 3791-3800.
11. Mabry, T., Markham, K. and Thomas, M. "*The Systematic Identification of Flavonoids*". Ed. Spring Verlag, Berlin, 1970, 261-268.

12. Bandaranayake, W. H., Selliah, S., Sultandabaw, M. V. S. and Oelis, W. D. *Phytochemistry*. 1975, 14, 1978-1980.
13. Watterman, P. G. & Crichton, E. G. *Phytochemistry*. 1980, 19, 2723-2726.
14. Botta, B., Marquina, M. Delle Monache, G., Delle Monache, F. & De Mello J. F. *J. Natl Prod.* 1984, 47, 1853-1857.