

BENZOQUINONA E HIDROQUINONA PRENILADAS Y OTROS CONSTITUYENTES AISLADOS DE PIPER BOGOTENSE C. DC.*

Luz Ángela Peña, Eliseo Avella¹ y Aura María Puentes de Díaz²

Aceptado: Junio 8/2000

Keywords: *Piper bogotense*, Piperaceae, prenylated benzoquinone, prenylated hydroquinone, flavone C-glycoside, di-oxoaporphine, aristolactam, stigmasterol, sitosterol, glucose.

RESUMEN

Dos compuestos, que innovan la química conocida del género *Piper*, (2'E,6'E)-2-farnesilhidroquinona, (2'E,6'E)-2-farnesil-1,4-benzoquinona, y α -D-glucosa fueron aislados de los frutos de *Piper bogotense* C. DC.; los tallos y las hojas presentaron, como constituyentes mayoritarios, lactama del ácido 10-amino-4-hidroxil-2,3-dimetoxifenantreno carboxílico, 1,2-metilendioxi-6-metil-4H-dibenzo [de,g] quinolina-4,5(6H)-diona (Cefaradiona A), estigmasterol y sitosterol. Adicionalmente de las hojas de esta planta se aisló 8C- β -D-glucopiranosil-4'-O-metilapigenina (4'-O-metilvitexina, Cytosido o Trematina). Sus estructuras fueron determinadas por métodos espectroscópicos y comparación con datos de la literatura.

ABSTRACT

Two compounds, that innovate the known chemistry of the genus *Piper*, (2'E,6'E)-2-farnesylhydroquinone, (2'E,6'E)-2-farnesyl-1,4-benzoquinone, and α -D-glucose were isolated from the fruits of *Piper bogotense* C. DC.; the stems and the leaves presented, as major constituents, 10-amino-4-hydroxy-2,3-dimethoxyphenanthrene-1-carboxylic acid lactam, 1,2-methylenedioxy-6-methyl-4H-dibenzo[de,g]quinoline-4,5(6H)-dione (Cepharadione A), stigmasterol and sitosterol. Additionally, 8C- β -D-glucopyranosyl-4'-O-methylapigenin (4'-O-methylvitexin, Cytoside or Trematin) was isolated from the leaves of this plant. Their structures were determined by spectroscopic methods and comparison with data of the literature.

INTRODUCCIÓN

Revisiones recientes indican que, en orden de mayor a menor frecuencia de hallazgo, amidas (N-isobutilamidas, N-acilpiperidinas y N-acilpirrolidinas), lig-

* Basado en parte de la Tesis de Magister Scientiae de L. A. P., presentada a la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1999.

1. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, A. A. 14490, Bogotá, e-mail: eliaavell@ciencias.ciencias.unal.edu.co
2. e-mail: apuentes@ciencias.ciencias.unal.edu.co

nanos y otros arilpropanoides, terpenos y terpenoides, hidrocarburos, aporfinas y aristolactamas, epóxidos y lactonas se encuentran comúnmente en las especies del género *Piper* (1-3). Muchos de estos compuestos han mostrado actividad biológica importante (4-6).

Piper bogotense C. DC. (*Piperaceae*) es un árbol de 8 a 10 m de altura. Está ampliamente distribuido en Colombia, Ecuador y Panamá. En Colombia se halla localizado especialmente en el altiplano Cundiboyacense, Cauca y Nariño (7).

En investigaciones cualitativas preliminares en el extracto etanólico de las hojas de *Piper bogotense* C. DC., detectaron la presencia de flavonoides, fenoles, alcaloides y esteroides (8). Este trabajo presenta el aislamiento y la identificación de (2'E,6'E)-2-farnesilhidroquinona **1**, (2'E,6'E)-2-farnesil-1,4-benzoquinona **2**, 8-C- β -D-glucopiranosil-4'-O-metilapigenina (4'-O-metilvitexina, Cytososido o Trematina) **3**, 1,2-metilendioxi-6-metil-4H-dibenzo[de,g]-quinolina-4,5(6H)-diona (Cefaradiona A) **4**, lactama del ácido 10-amino-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantreno carboxílico **5**, 24 α -etilcolest-5,22-dien-3 β -ol (estigmasterol) **6**, 24 α -etilcolest-5-en-3 β -ol (sitosterol) **7**, y α -D-glucosa **8** a partir de las partes aéreas de esta planta. Sus estructuras moleculares fueron determinadas, fundamentalmente, por métodos espectroscópicos (IR, UV-VIS, EM, RMN ^1H , RMN ^{13}C mono y bidimensionales) y por comparación con datos de la literatura.

PARTE EXPERIMENTAL

Equipos. Los puntos de fusión (p. f.) corregidos, se tomaron en un fusiómetro

Fisher-Johns; los espectros UV-VIS en un espectrofotómetro UV-VIS Perkin-Elmer Lambda 2S y los espectros IR en un instrumento ATI Mattson Génesis Serie FT-IR. Los espectros de RMN se obtuvieron en espectrómetros: *Jeol EX-90* (RMN ^1H , 90 MHz; RMN ^{13}C , 22,5 MHz, 30°C), *Bruker Avance DRX 500* (RMN ^1H , 500 MHz; RMN ^{13}C , 125,7 MHz; DEPT 45°, 90° y 135° y correlaciones bidimensionales homonucleares y heteronucleares); como referencia interna se usó TMS en CCl_4 , ó acetona en agua deuterada (para α -D-glucosa). Los espectros de masas (IE: 70 eV ó 20 eV ó IQ: 150 eV, gas ionizante: isobutano) se hicieron en un espectrómetro Shimadzu 920 DF o en un espectrómetro Micromass, Modelo Autospect (para la 4'-O-metilvitexina; IE: 20 eV).

Material vegetal. Las partes aéreas frescas de *P. bogotense* C. DC. fueron colectadas en mayo de 1994, en la vereda Cardonal del municipio de Susacón (Boyacá), e identificadas por el botánico, doctor Gustavo Lozano. Un espécimen de la planta reposa en el Herbario Nacional Colombiano (COL. 365903) del Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia.

Extracción y aislamiento de constituyentes. Los frutos y tallos frescos, sanos y limpios se secaron a condiciones ambiente del laboratorio, antes de su extracción.

Frutos: 164 g se sometieron, sucesivamente, a maceración en frío, con éter de petróleo (40-60°C), 2-butanona y etanol. Los extractos se fraccionaron, por separado, mediante cromatografía en columna (silicagel 60, 10 g por 1 g de extracto) con éter de petróleo (40-60°C) y

diclorometano, puros y en mezclas de polaridad creciente. De las fracciones del extracto en éter de petróleo (6,6 g) eluidas con éter de petróleo (40-60°C) - diclorometano 8:2, por repetidas cromatografías en columna (silicagel G-60), con vacío y elución isocrática con éter de petróleo (40-60°C) - diclorometano 7:3, se purificó 2 (11,2 mg).

De las fracciones del extracto en 2-butanona (25 g) eluidas con éter de petróleo (40-60°C) - diclorometano 1:1, mediante recristalización sucesiva en éter de petróleo (40-60°C) - diclorometano 1:1, se obtuvo 1 (43,8 mg).

En las fracciones de los extractos en 2-butanona y etanólico (7 g) eluidas con diclorometano puro, después de varias CC (silicagel 60, éter de petróleo (40-60°C) - diclorometano, puros y en mezclas de polaridad creciente) se detectó Cefaradiona A con algunas impurezas. En las fracciones de mayor polaridad del extracto etanólico, eluidas con 2-butanona y etanol, puros y en mezclas de polaridad creciente, se obtuvo α -D-glucosa 8 (227 mg) (12, 13).

Tallos: 5391 g de tallos molidos se extrajeron exhaustivamente, por maceración en frío, con éter de petróleo (40-60°C) y luego con etanol. El extracto en éter de petróleo (40-60°C) (30 g) se fraccionó por CC (silicagel 60) con éter de petróleo (40-60°C) y diclorometano, puros y en mezclas de polaridad creciente. De las fracciones eluidas con éter de petróleo (40-60°C) - diclorometano 9:1 por CC (silicagel 60, diclorometano, elución isocrática) se obtuvieron 517,6 mg de una mezcla de estigmasterol 6 y sitosterol 7 (14). En las fracciones eluidas con éter de

petróleo (40-60°C) - diclorometano 8:2 se detectó 2, y en las eluidas con diclorometano se detectó Cefaradiona A 4.

En las fracciones del extracto etanólico (46,5 g), eluidas por CC (silicagel 60) con n-hexano-acetona 1:1 se detectó Cefaradiona A 4 y se aislaron 34 mg de *lactama del ácido 10-amino-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantreno carboxílico* 5 impuro.

Hojas: 290 g de hojas frescas, trituradas, de *P. bogotense* C. DC. se sometieron a hidrodestilación (tres horas). El material sólido residual, seco, se extrajo con etanol. La fracción acuosa residual se sometió a extracción exhaustiva, con cloroformo, y luego con acetato de etilo. Los extractos en cloroformo (0,98 g) y en acetato de etilo (10,9 g) y el extracto etanólico (30,1 g) se reunieron y fraccionaron por CC [silicagel 60, éter de petróleo (40-60°C) n-hexano-acetona 1:1 y 2-butanona en orden de polaridad creciente]. De las fracciones eluidas con éter de petróleo (40-60°C) se aislaron 6,3 mg de una mezcla de estigmasterol 6 y sitosterol 7 (14).

De las fracciones eluidas con n-hexano-acetona 1:1 y de las provenientes de los extractos de frutos y de tallos donde se detectó Cefaradiona A (85,7 mg), por CC sucesivas (silicagel 60, cloroformo-acetona 97:3, cloroformo-metanol 9:1 y cloroformo-metanol 97:3, sucesivamente) se obtuvo Cefaradiona A 4 pura (15,6 mg) (9-11).

De las fracciones eluidas con 2-butanona y de las del extracto de tallos donde se detectó *lactama del ácido 10-amino-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantreno carboxílico* 5 (34 mg), por CC (silicagel 60, cloroformo-metanol 97:3) y CCP (silica-

gel G-60 F₂₅₄, éter de petróleo (40-60°C) - acetato de etilo 75:25) se obtuvo *lactama del ácido 10-amino-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantreno carboxílico* **5** puro (5,7 mg) (15, 16).

De las últimas fracciones eluidas con 2-butanona, por CC (silicagel 60, cloroformo-metanol 9:1) se obtuvo *8-C-β-D-glucopiranosil-4'-O-metilapigenina* (4'-O-metil vitexina, Cytisosido o Trematina) **3** puro (60,1 mg) (17, 18).

(2'E,6'E)-2-Farnesilhidroquinona **1**: Sólido amorfo blanco, soluble en CH₂Cl₂, HCCl₃ y 2-butanona (con alteración), p. f.: 55-56°C [éter de petróleo (40-60°C) - diclorometano 1:1]. IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3238 (banda ancha), 3087, 3044, 2964, 2932, 2914, 2854, 1610, 1517, 1451, 1377, 1197. UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm (log ε): 202 (4,50), 235 (3,87, h), 300 (3,52); $\lambda_{\max}^{\text{EtONa/EtOH}}$ nm: 220, 244, 325. EM (70 eV. IE) m/z (int. rel. %): 316 [M + 2]⁺ (0,9), 315 [M + 1]⁺ (7,0), 314 [M]⁺ (30), 299 (1), 271 (1), 245 (2), 161 (24), 123 (68), 81 (33), 69 (100). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) y RMN ¹³C (125,7 MHz, CDCl₃): tabla 1. CCD/silicagel G-60 F₂₅₄, eluyente (R_f): H₂CCl₂ (0,17); H₂CCl₂-CH₃OH 99:1 (0,54).

(2'E,6'E)-2-Farnesil-1,4-benzoquinona **2**: Aceite amarillento, soluble en éter de petróleo (40-60°C), CH₂Cl₂, HCCl₃ y acetona. IR $\nu_{\max}^{\text{Pellicula}}$ cm⁻¹: 3076, 2965, 2920, 2855, 1659, 1598, 1445, 1380, 1348, 1297, 1100, 900. UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm (log ε): 203 (3,92), 238 (3,39), 290 (2,80), 328 (2,54). EM (70 eV. IE.) m/z (int. rel. %): 314 [M + 2]⁺ (1), 312 [M]⁺ (1), 269 (1), 243 (1), 201 (5), 161 (23), 123 (14), 81 (32), 69 (100). RMN ¹H (500

MHz, CDCl₃) y RMN ¹³C (125,7 MHz, CDCl₃): figura 2. CCD/silicagel G-60 F₂₅₄, eluyente (R_f): éter de petróleo (40-60°C) - H₂CCl₂ 8:2 (0,41).

8-C-β-D-glucopiranosil-4'-O-metilapigenina **3**: Cristales aciculares amarillentos, solubles en dimetilsulfóxido, ligeramente solubles en HCCl₃, H₂CCl₂, (CH₃)₂CO y MeOH, p. f.: 232,5-233°C (HCCl₃-MeOH 9:1, desc.) (Lit. (17) 230-232°C, MeOH). IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3394 (banda ancha), 2920, 2857, 1660, 1609, 1577, 1510, 1431, 1362, 1312, 1294, 1266, 1247, 1182, 1100, 1084, 1028, 832. UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm (log ε): 215 (4,16), 272 (3,89), 324 (3,82); $\lambda_{\max}^{\text{EtONa/EtOH}}$ nm: 213, 281, 306 (h), 373; $\lambda_{\max}^{\text{HCl/EtOH}}$ nm: 201, 272, 326; $\lambda_{\max}^{\text{AlCl}_3/\text{EtOH}}$ nm: 220, 261 (h), 281, 305, 340, 397; $\lambda_{\max}^{\text{(AlCl}_3\text{)+HCl/EtOH}}$ nm: 220, 261 (h), 281, 304, 339, 393; $\lambda_{\max}^{\text{AcONa/EtOH}}$ nm: 281, 306,5 (h), 366; $\lambda_{\max}^{\text{(AcONa+H}_3\text{BO}_3\text{)/EtOH}}$ nm: 274, 307 (h), 348. EM (70 eV), EM (20 eV.) (17, 18). RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) y RMN ¹³C (125,7 MHz, DMSO-d₆): tabla 2. CCD/Silicagel G-60 F₂₅₄, eluyente (R_f): HCCl₃-CH₃OH 9:1 (0,16), HCCl₃-CH₃OH 8:2 (0,26), HCCl₃-CH₃OH 6:4 (0,73), AcOEt (0,14).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Compuesto 1: Las bandas en 3238 cm⁻¹ (ancha) y en 1197 cm⁻¹ (intensa) en el espectro de IR, los desplazamientos batocrómicos (18, 9 y 25 nm, respectivamente) de las bandas de absorción en el UV (202, 235 y 300 nm) generados por la adición de EtONa a la solución etanólica del compuesto, las señales de RMN ¹H (90 MHz, CDCl₃) en δ: 4,62 y en δ: 4,82, que

desaparecen al adicionar D_2O a la muestra y cuyos desplazamientos químicos varían en función de la concentración, y las señales en δ : 148,0 y en δ : 149,2 en su espectro de RMN ^{13}C (carbonos sp^2 unidos a heteroátomo) indicaron la existencia de dos grupos OH fenólicos en la estructura de 1 (figura 1).

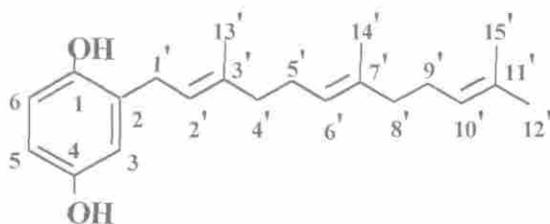


Figura 1. Estructura del compuesto 1.

El espectro de RMN ^{13}C de 1 presentó 20 señales, que según los desplazamientos químicos y la fase de las señales en DEPT 45° , 90° y 135° se asignaron a seis carbonos cuaternarios sp^2 , seis CH sp^2 , cuatro CH_3 y cinco CH_2 sp^3 (hay dos que superponen sus señales (véase tabla 1). Los acoplamientos C-H a una unión observados en el espectro HETCOR (J:140 Hz; tabla 1) y el análisis del espectro de masas de 1 ($[M]^+ = 314$ y $\% ([M+1]^+ / [M]^+) = 70/3$) sustentaron la fórmula condensada $C_{21}H_{30}O_2$ para 1.

Los desplazamientos de las señales en RMN 1H de 1, en δ : 6,55, δ : 6,60 y δ : 6,65 y su modelo de acoplamiento (sistema ABC), indicaron la existencia de un anillo de benceno 1,2,4-trisustituido. Los acoplamientos C-H a una, dos y tres uniones (HETCOR y HETCOR-LR) mostraron la existencia de un sustituyente del anillo for-

mado por tres unidades de isopreno, cuyos datos de RMN 1H y RMN ^{13}C son similares a los del fragmento farnesilo en el ácido 3-farnesil-4-hidroxibenzoico, aislado de *Piper marginatum* (19). La mayor estabilidad de los isómeros geométricos E,E y la observación de protección γ -cis [que afecta el desplazamiento de las señales en RMN ^{13}C de los carbonos metílicos 13', 14' y 15' y de los carbonos metilénicos 4' y 8' en el isómero (2'E,6'E)-farnesilo (20)] corroboraron la estructura de 1 como (2'E,6'E)-2-farnesil-hidroquinona. La estructura de 1 se confirmó por el espectro de masas que mostró iones fragmentarios típicos de fenoles y de las rupturas alílicas del farnesilo.

Compuesto 2: Al comparar los datos espectroscópicos de los compuestos 1 y 2 se encontraron las siguientes diferencias: el compuesto 2 presenta un pico de ion molecular en m/z 312 (1%); una banda intensa en 1659 cm^{-1} (C=O) y ausencia de la banda de tensión OH en su espectro de IR; señales en δ : 6,71, δ : 6,76, δ : 6,53 en RMN 1H (RMN ^{13}C , δ : 136,3, δ : 136,7 y δ : 132,2) que indican la existencia de un sistema ABX (anillo aromático 1,2,4-trisustituido), y señales en RMN ^{13}C en δ : 148,5, 187,6 y 187,9 (de carbonos cuaternarios sp^2) dos de las cuales corresponden a carbonos de grupo carbonilo. Los acoplamientos a uno y dos o tres enlaces (HETCOR y HETCOR-LR) de las señales de RMN, antes mencionadas, mostraron la existencia del fragmento 1,4-benzoquinona 2-sustituida en la estructura de 2 (figura 2).

Tabla 1. RMN ^1H (500 MHz), RMN ^{13}C (125,7 MHz), DEPT (45° , 90° , 135°), HETCOR (J: 140 Hz), HETCOR-LR (J: 7 Hz) de **1** en CDCl_3 , TMS.

RMN ^{13}C δ : ppm,	DEPT	RMN ^1H , δ : ppm, multiplicidad, integración	Asignación HETCOR	HETCOR-LR
16,0	CH_3	1,575*, s (ancho), 3 H	14'	6', 7', 8'
16,2	CH_3	1,73, s (ancho), 3 H	13'	2', 3', 4'
17,7	CH_3	1,58*, s (ancho), 3 H	15'	10', 11', 12'
25,7	CH_3	1,67, s (ancho), 3 H	12'	10', 11', 15'
26,4	CH_2	2,10-2,13, m, 2 H	5'	4', 6', 7'
26,6	CH_2	2,04-2,08*, m, 2 H	9'	8', 10', 11'
29,6	CH_2	3,29, d (J: 7,1 Hz), 2 H	1'	2', 3', 1, 2, 3
39,6*	CH_2	1,95-2,00, m, 2 H	8'	6', 7', 10', 9', 14'
39,6*	CH_2	2,05-2,09*, m, 2 H	4'	3', 2', 5', 6', 13'
113,8	=CH	6,55, dd (J: 8,5; 2,8 Hz), 1 H	5	3
116,58	=CH	6,65, d (J: 8,5 Hz), 1 H	6	2, 4
116,63	=CH	6,60, d (J: 2,7 Hz), 1 H	3	1', 1, 5
121,2	=CH	5,27-5,30, m, 1 H	2'	1', 13', 4'
123,7	=CH	5,06-5,12*, m, 1 H	6'	4', 5', 8', 14'
124,3	=CH	5,07-5,13*, m, 1 H	10'	8', 9', 12', 15'
128,4	♦		2	1', 6
131,4	♦		11'	9', 12', 15'
135,5	♦		7'	5', 8', 14'
138,7	♦		3'	1', 4', 13'
148,0	♦		1	1', 3
149,2	♦		4	6
		5,09, s	1-OH	
		5,29, s	4-OH	

* Desplazamientos determinados por HETCOR, ♦Carbono cuaternario

El peso molecular junto con el análisis de los experimentos DEPT y HETCOR de **2** dejaron establecer la fórmula condensada $C_{21}H_{28}O_2$ y determinar la presencia del sustituyente farnesilo en **2**, al igual que en **1**. Los desplazamientos químicos, a campos más altos, de las señales de RMN 1H de **2** en δ : 3,13 (**1**: δ : 3,29) y en δ : 5,14 - 5,17 (**1**: δ : 5,27-5,30) y de las señales de RMN ^{13}C en δ : 27,3 (**1**: δ : 29,6) y en δ : 117,6 (**1**: δ : 121,2) se atribuyen al efecto anisotrópico del grupo C=O vecino (figura 2).

8' y 9' (figura 2a), y la observación de que **2** experimenta dismutación por una reacción electrocíclica térmica, característica de plastoquinonas (22, 23), corroboraron la identidad de **2** como (2'E,6'E)-2-farnesil-1,4-benzoquinona.

Esta es la primera vez que se aíslan e identifican **1** y **2** de una especie del género *Piper*. Los dos compuestos se han aislado a partir de especímenes marinos como la esponja *Ircinia spinosula* (24) y las algas *Manne algae* (25) y *Dietyopteris undulata* (26). En plantas superiores se cita el

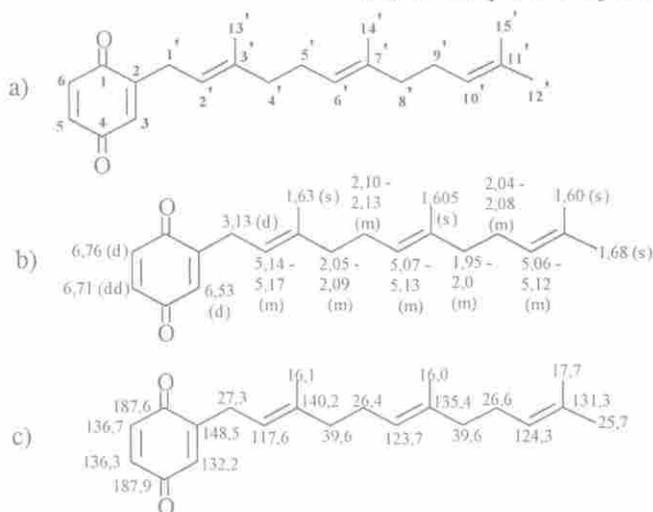


Figura 2. a) Estructura, b) RMN 1H (500 Mhz) y c) RMN ^{13}C (125,7 Mhz), en $CDCl_3$, del compuesto **2**.

Los acoplamientos C-H observados en el espectro HETCOR-LR (J : 7 Hz) de **2**, la banda de absorción en el UV (328 nm), a longitud de onda más larga que en **1**, el modelo de fragmentación, típico de benzoquinonas (21), en el espectro de masas de **2**, con predominio de la ruptura del enlace doblemente alílico entre los carbonos

aislamiento de **1** a partir de *Wigandia kunthii* (27) y *Wigandia caracasana* (*Hydrophyllaceae*) (28). Sin embargo, los datos de RMN ya publicados no aportan correlaciones bidimensionales que corroboren la estructura. (27) describe a **1** como un aceite incoloro y sustenta su identidad con base en la comparación del

espectro UV del compuesto con el de una hidroquinona prenilada; en la coincidencia de las señales en RMN ^1H (100 MHz, CDCl_3) en δ : 6,5-6,73 (3H) con las señales de protones aromáticos de Alliodorin ((2E,6E)-8-(2,5-dihidroxifenil-2,6-dimetil-2,6-octadienaldehído) y en la identidad de los espectros RMN ^1H del compuesto y del producto de condensación de hidroquinona con trans,trans-farnesol. En la familia *Piperaceae* se han aislado ácidos benzoicos prenilados, hidroxisustituidos o no, en especies de los géneros *Piper* (19, 29), *Peperomia* (30) y *Pothomorphe* (31).

Compuesto 3: Las bandas de absorción en 3394, 1312 y 1247 cm^{-1} en el espectro IR, el desplazamiento batocrómico (49 y 9 nm, respectivamente) de las bandas de absorción en el espectro UV (324 y 272 nm), generado por la adición de EtONa a la solución etanólica del compuesto, y una señal simple en δ : 13,12 en el espectro RMN ^1H (tabla 2) que desaparece al adicionar agua deuterada a la muestra, indicaron la existencia de grupos OH de tipo fenólico en la estructura de **3**.

Las absorciones en UV de **3**, características de flavonas monooxigenadas en el anillo B, con hidroxilación, en 5- ó 5,7- en el anillo A (32, 33), el desplazamiento batocrómico de las bandas de absorción en UV y la formación de cuatro distintos picos o inflexiones (Ia: 397, Ib: 340, IIa: 305 y IIb: 281 nm) al adicionar AlCl_3 a la solución etanólica de **3**, que permanecen después de agregar HCl, el desplazamiento batocrómico (9 nm) de la banda II (272 nm) en el espectro UV por la adición de acetato de sodio y la absorción intensa en 1660 cm^{-1} en el espectro IR, confirma-

ron que **3** es una 5,7-dihidroxi-flavona (17, 32-35).

La presencia de *p*-metoxifenil unido a C-2 (anillo C) en el compuesto **3** fue determinada por el pico en $m/z = 132$, $[\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4\text{C}=\text{CH}]^+$ (65,4 %), en el espectro de masas (resultado de un rearrreglo tipo retroDiels-Alders) y las señales de RMN ^1H en δ : 3,86 (3H, s, OMe) y en δ : 8,14 (2H, d, J: 8,2 Hz) y en δ : 7,07 (2H, d, J: 8,2 Hz) (sistema AA'XX') que acoplan a dos o tres uniones (HETCOR-LR, J: 7 Hz; tabla 2) con los carbonos cuaternarios sp^2 (RMN ^{13}C y DEPT; tabla 2) en δ : 162,31, δ : 163,51 (unidos a oxígeno) y δ : 123,26, respectivamente, y el acoplamiento a dos o tres uniones del protón en δ : 6,85 con los carbonos cuaternarios sp^2 en δ : 163,51 y δ : 182,12 (C=O).

La resistencia de **3** a la hidrólisis química, por reflujo durante dos horas con HCl 2N/EtOH, 95%; 1:1 (36), las seis señales en el espectro de RMN ^{13}C (tabla 2), de carbonos sp^3 unidos a heteroátomo (oxígeno), entre δ : 81,85 y δ : 61,20 (donde aparecen las señales del fragmento glicosil en glicósidos de flavonoide), las señales múltiples en el espectro de RMN ^1H (tabla 2) entre δ : 5,01 y δ : 4,67 y entre δ : 3,86 y δ : 3,17 (protones de estructuras tipo glicósido) de las cuales algunas desaparecen al adicionar agua deuterada a la solución, el pico de ion molecular en $m/z = 446$ (6,0%) $[\text{M}]^+$, el pico base en $m/z = 297$ $[\text{M} - \text{C}_5\text{H}_9\text{O}_5]^+$ y los picos de ion fragmentario en $m/z = 165$ (25,1%) $[\text{M} - \text{C}_5\text{H}_9\text{O}_5 - \text{C}_9\text{H}_8\text{O}]^+$, 284 (100%) $[\text{M} - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3]^+$, 314 (16,0%) $[\text{M} - \text{C}_6\text{H}_8\text{O}]^+$, 428 (100%) $[\text{M} - \text{H}_2\text{O}]^+$, 410 (27,6%) $[\text{M} - 2\text{H}_2\text{O}]^+$ y 392 (16,9%) $[\text{M} - 3\text{H}_2\text{O}]^+$ en el espectro de masas mostraron la existencia de un fragmento C-glicosil ($\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5$) unido al

anillo A de **3**. La relación de intensidades de los picos en $m/z = 298$ (22,3 %) $[M - 148]^+$ y 297 (100%) $[M - C_5H_9O_5]^+$ en el espectro de masas de **3** sugirió que el fragmento glucosil está unido a C-8 y no a C-6 (35, 37). Esto se confirmó mediante HETCOR-LR (tabla 2).

El valor del desplazamiento y los acoplamientos a tres uniones entre los protones metínicos del fragmento glucosil (COSY 45, tabla 2) y la similitud del desplazamiento de cada uno de los carbonos unidos a esos protones, con el de las señales de RMN ^{13}C del fragmento glucosil de *8C-glucosilapigenina* (38), permitieron identificar el fragmento glucosil de **3** como glucopiranosil unido a C-8, mediante C-1 de la glucosa.

El valor de la constante de acoplamiento, diaxial (9,9 Hz), entre los protones en δ : 4,70 y δ : 3,82 y el efecto nuclear Overhauser (NOESY; tabla 2) de los protones en δ : 4,70 y δ : 3,25 por interacción asta-bandera de H-1" con H-5", confirmaron la estructura de **3** como *8C- β -D-glucopiranosil-4'-O-metilapigenina* (figura 3). Este compuesto, obtenido por primera vez como producto de hidrólisis de *7-O- β -D-glucosil-8C- β -D-glucosil-4'-O-metilapigenina* aislada de las hojas de *Trema aspera* (*Ulmaceae*) (17), se halló también en las partes aéreas de *Lupinus arboreus* (*Leguminosae*) (39). Su aislamiento e identificación en *Piper bogotense* C. DC. constituye el primer reporte de la existencia de este metabolito en *Piperaceae* y el aporte a su estudio espectroscópico con experimentos en RMN bidimensionales.

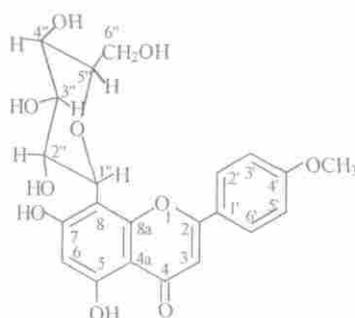


Figura 3. Estructura del compuesto **3**.

La identificación de los compuestos *1,2-metilendioxi-6-metil-4H-dibenzof[de,g]-quinolina-4,5(6H)-diona* (Cefaradiona A) (9-11), *lactama del ácido 10-amino-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantreno carboxílico* (15, 16), *24 α -etilcolest-5,22-dien-3 β -ol* (estigmasterol), *24-etilcolest-5-en-3 β -ol* (sitosterol) (14) y *α -D-glucosa* (12, 13) se obtuvo por comparación de sus datos espectroscópicos y constantes físicas con datos citados en la literatura. Adicionalmente, Cefaradiona A se comparó, por cocromatografía, con un patrón auténtico aislado de *Piper divaricatum* Meyer (11).

AGRADECIMIENTOS

A Katherine Jaramillo y Jindra Purmová de la Sección de Resonancia Magnética Nuclear del Instituto de Inmunología, por su colaboración en la toma de espectros de RMN, al DIB (Universidad Nacional de Colombia, Sede de Bogotá) y a Colciencias por la financiación parcial de este trabajo.

Tabla 2. RMN¹H (500 MHz), RMN¹³C (125,7 MHz), DEPT (45°, 90°, 135°), HETCOR (J: 140 Hz), HETCOR-LR (J: 7 Hz), COSY y NOESY de **3** en DMSO-d₆, TMS.

RMN ¹³ C δ: ppm, DEPT	RMN ¹ H. δ: ppm, multiplicidad, integración	Asignación HETCOR	HETCOR LR	COSY 45° (1)	NOESY
55,58	CH ₃ , s, 3 H	4'-OMe		3' ó 5'	
61,20	CH ₂ , 3,58 dd (11,2; 4,4) y 3,75 dd (11,2; 4,4), 2 H	6''a 6''b		6''b, 2'', 3'' ó 5'' 6''a,	6''b 6''a
70,39	CH, 3,41, m ⁺ , 1 H	4''		3'' ó 5''	3' ó 5', 6
70,89	CH, 3,82, m, 1 H	2''		3'' ó 5'', 1''	1''
73,38	CH, 4,70, d (9,9) ⁺ , 1 H	1''	7, 8, 8a, 2''	3' ó 5'	6, 2'', 3'' ó 5'', 7-OH
78,64	CH, 3,27, m, 1 H	3''		2'', 3'' ó 5'', 4''	
81,85	CH, 3,25, m, 1 H	5''		3' ó 5'	1'', 2'', 2' ó 6'
98,26	=CH, 6,3, s, 1 H	6	4a, 5, 7, 8	3' ó 5'	1'', 4''
103,13	=CH, 6,85, s, 1 H	3	2, 4, 4a	3' ó 5', 2' ó 6'	2' ó 6'
104,07	♦	4a			
104,63	♦	8			
114,43	=CH, 7,07, d (8,2), 2 H	3', 5'	1'	2' ó 6', 3, 6, 4'-OMe, 4'', 3'' ó 5''	2' ó 6', 4''
123,26	♦	1'			
128,86	=CH, 8,14, d (8,2), 2 H	2', 6'	2, 4'	3' ó 5', 3	3' ó 5', 3, 3'' ó 5''
156,04	♦	8a			
160,41	♦	5			
162,31	♦	4'			
162,77	♦	7			
163,51	♦	2			
182,12	♦	4			
	5,01, s (ancho)	7-OH			4'', 1''
	13,12, s	5-OH	5, 4a, 6		

* Con adición de D₂O. + Observado en RMN ¹H y en HETCOR (J: 140 Hz) al adicionar D₂O.

++ No se pudo discriminar su desplazamiento e integración. ♦ Carbono cuaternario.

REFERENCIAS

1. Parmar, V. S.; Jain, S. C.; Bisht, K. S.; Jain, R.; Taneja, P.; Jha, A.; Tyagi, O. D.; Prasad, A. K.; Wengel, J.; Olsen, C. E.; Boll, P. M. (1997). Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry* **46**, 597.
2. Avella, E.; Peña, L. A.; Puentes de Díaz, A. M. (1997). Analogías estructurales en la química del género *Piper* (Piperaceae). "Memorias del V Congreso Colombiano de Fitoquímica", Universidad de Antioquia, Medellín, 168.
3. Peña, L. A., "Constituyentes fijos y volátiles de *Piper bogotense* C. DC. (Piperaceae)". (1999). Tesis de Magister Sc., Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Bogotá, 3-7.
4. Jensen, S.; Hansen, J.; Boll, P. M. (1993). Lignans and neolignans from Piperaceae. *Phytochemistry* **33**, 523.
5. Mac Rae, W. D.; Towers, G. H. N. (1984). Biological activities of lignans. *Phytochemistry* **23**, 1207.
6. Peña, L. A.; Avella, E.; Puentes de Díaz, A. M. (1997). Usos populares y acción biológica relevante y comprobada en algunas especies de *Piper* (Piperaceae). "Memorias del V Congreso Colombiano de Fitoquímica", Universidad de Antioquia, Medellín, 107.
7. Trelease, W.; Yunker, G., *The Piperaceae of Northern and South America*, (1950). University of Illinois Press, Urbana, **1**, 1, 93.
8. Calle, J. (1983). Contribución al estudio de algunas especies de la familia Piperaceae. *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm.* **4**, 47.
9. Singh, S. K.; Prasad, A. K.; Olsen, C. E.; Jha, A.; Jain, S. C.; Parmar, V. S.; Wengel J. (1996). Neolignans and alkaloids from *Piper argyrophyllum*. *Phytochemistry* **43**, 1355.
10. De Díaz, A. M. P.; Díaz D., P. P.; Joseph Nathan, P. (1990). Dioxoaporphine alkaloid and flavone from *Piper manausense* Yunk. *Rev. Col. Quím.* **19**, 63.
11. Avella, E.; Díaz, P. P.; de Díaz, A. M. P. (1994). Constituents from *Piper divaricatum*. *Planta Med.* **60**, 195.
12. Agrawal, P. K. (1992). NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. *Phytochemistry* **31**, 3307.
13. Perlin, A. S.; Casu, B. (1969). Carbon-13 and proton magnetic resonance spectra of D-glucose-¹³C. *Tetrahedron Lett.* **34**, 2921.
14. Peña O., L. A.; de Díaz, A. M. P. (1995). Aristolactama y esteroides del tallo de *Piper chiadoense*. *Rev. Col. Quím.* **24**, 17.
15. Olsen, C. E.; Tyagi, O. D.; Boll, P. M.; Hussaini, F. A.; Parmar, V. S.; Sharma, N. K.; Taneja, P.; Jain, S. C. (1993). An aristolactam from *Piper acutisleginum* and revision of the structures of Piperolactam B and D. *Phytochemistry* **33**, 518.
16. Desai, S. J.; Prabhu, B. R.; Mulchandani, N. B. (1988). Aristolactams and

- 4,5-dioxoaporphines from *Piper longum*. *Phytochemistry* **27**, 1511.
17. Oelrichs, P. (1968). 7-*O*- β -D-glucosyl-8*C*- β -D-glucosyl-4'-*O*-methylapigenin. A new flavone from *Trema aspera*. *J. Chem. Soc. C*, 941.
 18. Mabry, T. J.; Markham, K. R. (1975). Mass spectrometry of flavonoids. In: *The flavonoids*. (Eds. Harborne, J. B.; Mabry, T. J.; Mabry, H.) Academic Press, New York, pp. 118-121.
 19. Maxwell, A.; Rampersad, D. (1988). Prenylated 4-hydroxybenzoic acid derivatives from *Piper marginatum*. *J. Nat. Prod.* **51**, 370.
 20. Naito, T.; Niitsu, K.; Ikeya, Y.; Okada, M.; Mitsuhashi, H. (1992). A phtalide and 2-farnesyl-6-methyl benzoquinone from *Ligusticum chuangxiang*. *Phytochemistry* **31**, 1787.
 21. Thompson, R. H. Naturally occurring quinones, (1971). 2nd ed., Academic Press, London, 21-29, 77.
 22. Muraca, R. F.; Whittick, J. S.; Doyle Daves, G. Jr.; Friis, P.; Folkers, K. (1967). Mass spectra of ubiquinones and ubiquinols. *J. Am. Chem. Soc.* **89**, 1505.
 23. Muckensturm, B.; Diyani, F.; Reduron, J.-P.; Hildenbrand, M. (1997). 7-demethylplastoquinone-2 and 2-demethylplastoquinone-3 from *Seseli farreyrii*. *Phytochemistry* **45**, 549.
 24. De Rosa, S.; De Giulio, A.; Iodice, C. (1994). Biological effects of prenylated hydroquinones: structure-activity relationship studies in antimicrobial, brine shrimp, and fish lethality assays. *J. Nat. Prod.* **57**, 1711. In: Chem. Abstr. 1995, **122**, 153673j.
 25. Masamitsu, O. (1983). Antimicrobial constituents of *Manne algae*. *Suisangaku Shirizu* **45**, 101. In: Chem. Abstr. 1983, **99**, 200391j.
 26. Masamitsu, O.; Hiyoshizo, K.; Satoko, I.; Makoto, T.; Takashi, T. (1979). Isolation of 2-(3,7,11-trimethyl-2,6,10-dodecatrienyl)hydroquinone from the brown seaweed *Dietyopteris undulata*. *Chem. Lett.* (7), 831. In: Chem. Abstr. 1979, **91**, 105189a.
 27. Gómez, F.; Quijano, L.; Calderón, J. S.; Ríos, T. (1980). Terpenoids isolated from *Wigandia kunthii*. *Phytochemistry* **19**, 2202.
 28. Reynolds, G. W.; Gafner, F.; Rodríguez, E. (1989). Contact allergens of an urban shrub *Wigandia caracasana*. *Contact dermatitis* **21**, 65. In: Chem. Abstr. 1990, **112**, 19645s.
 29. Maxwell, A.; Rampersad, D. (1989). Novel prenylated hydroxybenzoic acid derivatives from *Piper saltuum*. *J. Nat. Prod.* **52**, 614.
 30. Mahion, V.; Roblot, F.; Hocquermiller, R.; Cavé, A. (1996). New prenylated quinones from *Peperomia galioides*. *J. Nat. Prod.* **59**, 694.
 31. Kijjoa, A.; Giesbrecht, A. M.; Aki-sue, M. K.; Gottlieb, O. R.; Gottlieb, H. E. (1980). 4-nerolidylcatechol from *Potomorphe umbellata*. *Planta Med.* **39**, 85.

32. Geissman, T. A. The chemistry of flavonoid compounds, (1962). MacMillan, New York, 75, 107-131.
33. Wollenweber, E. (1982). Flavones and flavonols. In: *The Flavonoids: Advances in Research*, (Eds.: Harborne, J. B.; Mabry, T. J.) Chapman and Hall, London, pp. 240-245.
34. Voirin, B. (1983). UV spectral differentiation of 5-hydroxy- and 5-hydroxy-3-methoxyflavones with mono-(4'), di-(3',4') or tri-(3',4',5')-substituted B rings. *Phytochemistry* **22**, 2107.
35. Markham, K. R.; Mabry, T. J. (1975). Ultraviolet-visible and Proton Magnetic Resonance Spectroscopy of Flavonoids. In: *The flavonoids* (Eds. Harborne, J. B.; Mabry, T. J.; Mabry, H.) Academic Press, New York, pp. 45-77.
36. Harborne, J. B. (1965). Plant polyphenols-XIV. Characterization of flavonoid glycosides by acidic and enzymic hydrolyses. *Phytochemistry* **4**, 107.
37. Prox, A. (1968). Massenspektrometrische untersuchung einiger natürlicher C-glukosylverbindungen. *Tetrahedron* **24**, 3697.
38. Markham, K. R.; Chari, M. V.; Mabry, T. J. (1982). Carbon-13 NMR Spectroscopy of Flavonoids. In: *The Flavonoids: Advances in Research*, (Eds.: Harborne, J. B.; Mabry, T. J.) Chapman and Hall, London, p. 48.
39. Chopin, J.; Bouillant, M. L.; Besson, E. (1982). C-glycosylflavonoids. In: *The Flavonoids: Advances in Research*, (Eds.: Harborne, J. B.; Mabry, T. J.) Chapman and Hall, London, pp. 459, 468.