

6-METOXIFLAVONAS DE flores de *Ageratina angustifolia* R.M. King & H. Robinson (Compositae)

Aura Ardila de Villarraga y Cecilia Espitia de Pérez*

*Departamento de Química. Universidad Nacional de Colombia.
A.A. 14490. Bogotá, Colombia

Keywords: 6-methoxyflavones, *Ageratina angustifolia*, Compositae.

RESUMEN

De las flores de *Ageratina angustifolia* (Compositae) se aislaron tres flavonas cuyas estructuras fueron elucidadas por métodos espectrocópicos y corresponden a: 5,7-dihidroxi-6,4'-dimetoxiflavona (1); 5,7,4'-trihidroxi-6-metoxiflavona (3) y a un glicósido (2) cuya aglicona corresponde a la 5,7-dihidroxi-6,4'-dimetoxiflavona. La flavona 1 y el glicósido no han sido aislados previamente del género *Ageratina*, aunque sí se han encontrado en otros géneros.

ABSTRACT

Three flavonoids were isolated from flowers of *Ageratina angustifolia* (Compositae). The structures were determined by spectroscopic methods as: 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone (1); 5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyflavone (3) and a glycosylflavone (2), its aglycone is the 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone. It is the first time that the flavone 1 and the glycosylflavone have been isolated from *Ageratina* species, although they were previously found in other genus.

INTRODUCCION

La especie *Ageratina angustifolia* R.M. King and H. Robinson (Compositae, tribu Eupatoriae), es una planta que crece espontáneamente en varias regiones de nuestro territorio y a la cual se le atribuyen, a nivel popular, algunas propiedades medicinales tales como su acción emenagoga y febrífuga (1).

El presente trabajo comprende el aislamiento y determinación de las estructuras de algunos compuestos flavonoides presentes en las flores de esta especie y constituye

la continuación del estudio iniciado con las hojas (2), de las cuales se aislaron las flavonas Genkwanina y la 5-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona. Con relación a la química del género *Ageratina*, ésta se presenta muy variada (3-17). La mayoría de las estructuras de los flavonoides aisladas del género *Ageratina*, corresponden a flavonas y flavonoles oxigenados en las posiciones 5,7,3' y 4' y otros con oxigenación adicional en la posición 6. La oxigenación en esta última posición se ha propuesto como típica del género *Ageratina* (20).

Los resultados obtenidos en este estudio sirven para reforzar dicha hipótesis, ya que los tres flavonoides aislados poseen metoxilación en la posición C-6. Se encontró que dichos compuestos corresponden a las flavonas: 5,7-dihidroxi-6,4'-dimetoxiflavona, 5-hidroxi-6,4'-dimetoxi-7-glicosilflavona y 5,7,4'-trihidroxi-6-metoxiflavona.

RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

Del extracto en acetato de etilo de las flores de *Ageratina angustifolia* se aislaron y purificaron tres compuestos de estructura flavonoide (1-3).

El análisis de sus estructuras (21-24) mostró que uno de los compuestos corresponde a un glicósido y todos presentan metoxilación en C-6 e hidroxilación en C-5.

El espectro UV del compuesto 1 presenta máximos típicos de una flavona (21) a 332 nm para la banda I y 276 nm para la banda II. El comportamiento con los reactivos de desplazamiento indica 5,7-dihidroxisustitución. Se observa formación de un complejo estable con AlCl_3 , observándose posible metoxilación en C-6 por la magnitud del desplazamiento batocrómico de la banda I, por adición de AlCl_3/HCl . La adición de NaOAc produce desplazamiento batocrómico de la banda I, regenerándose el espectro inicial por adición de H_3BO_3 , lo cual indica la presencia de hidroxilo en C-7.

El espectro de masas presenta un ión molecular M^+ a m/z 314 ($\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$), con fragmentaciones típicas de una flavona metoxilada en C-6 (22), tales como los iones a 299 (70.5%), 296 (53.4%) y 271 (52.9%), correspondientes a $[\text{M}-15]^+$, $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ y $[\text{M}-\text{CO}-\text{CH}_3]^+$. Se observan también los iones a m/z 167, 135, 132, de los fragmentos $[\text{A}_1-\text{CH}_3]^+$; B_2^+ y B_1^+ respectivamente. De este análisis se deduce que el anillo A se encuentra sustituido por dos hidroxilos y un metoxilo, y el anillo B por un metoxilo.

El espectro RMN¹H corrobora la presencia de dos metoxilos por las señales simples a 3.90 y 4.00 ppm. Se observan dos dobletes a 7.16 y 8.09 ppm, con acoplamiento orto ($J=9.0$ Hz) interpretados como un sistema AA' BB' y asignables a los protones en C-3', C-5' y C-2', C-6' respectivamente. Se observan también las señales en 6.7 y 6.8 ppm, correspondientes a los protones en C-3 y C-8, respectivamente (21,23).

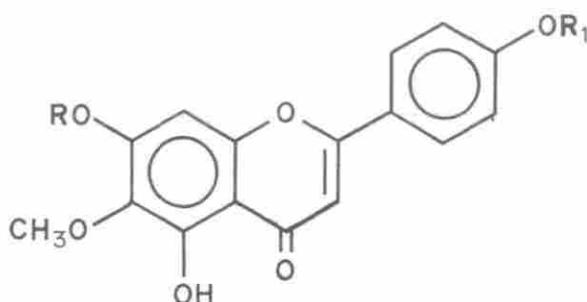


Figura 1.

El anterior análisis, permite concluir que la estructura del compuesto 1 corresponde a la 5,7-dehidroxi-6,4'-dimetoxiflavona (fig. 1). Los datos espectroscópicos concuerdan con los publicados en la literatura (24).

El compuesto 2 presenta características espectroscópicas análogas a las del compuesto 1. Se observa diferencia en el espectro UV con adición de NaOAc, ya que en el compuesto 2 no se produce desplazamiento de la banda I, indicando ausencia de hidroxilo libre en C-7. El EM presenta fragmentaciones análogas a las presentadas por 1, las cuales deben corresponder a las fragmentaciones de la aglicona, asumiendo que 2 es un glicósido de 1, y el azúcar debe estar en la posición C-7, por los resultados obtenidos en los espectro UV y teniendo en cuenta que en las condiciones de determinación del EM no es posible visualizar la señales propias del glicósido. La hidrólisis de 2 produce una aglicona, que cromatográficamente es igual a 1. Se concluye así que la estructura 2 es el glicósido: 5-hidroxi-6,4'-dimetoxi-7-glicosilflavona (fig. 1).

El compuesto 3 presenta también, características de flavona, por la posición de las bandas I y II en el UV, (336 y 274 nm). El comportamiento con los reactivos de desplazamiento indican hidroxilación en las posiciones C-5, C-7 y/o C-4', con posible metoxilación en C-6. El EM presenta un ion molecular a m/z 300 y como en los casos anteriores también se presentan las fragmentaciones características de metoxilación en C-6 ya que los iones obtenidos por la pérdida de $\cdot CH_3$, H_2O y $[-CH_3+CO]$ del ión molecular se presentan muy intensos. Se observan los iones producidos por fragmentaciones RDA, $[A_1-15]^+$, B_1^+ y B_2^+ indicando que el anillo A está sustituido por un metóxilo y dos hidroxilos y en el anillo B por un hidroxilo. El

espectro RMN¹H, presenta en la región aromática señales análogas a las presentadas por el compuesto **1**. Se observan también las señales a 6.60 ppm y 6.80 ppm asignadas a los protones C-3 y C-8. El espectro RMN¹³C confirma el anterior análisis: se observan carbonos con desplazamientos típicos de carbonilos y metoxilos a 182.0 y 59.9 ppm, asignables al carbono C-4 y al carbono del metoxilo en C-6, respectivamente. Se observan señales entre 152-163 ppm, típicas de carbonos aromáticos unidos a oxígeno y que deben corresponder a los carbonos C-5, C-9, C-7, C-4', C-2. Las señales a 128.4 y 115.9 ppm confirman la sustitución *para* en el anillo B. Las asignaciones para todos los carbonos (ver parte experimental), hechas con base en la comparación con compuestos análogos, corrobora el anterior análisis y permite concluir que la estructura de la flavona **3** corresponde a la 5,7,4'-trihidroxi-6-metoxiflavona (fig. 1), la cual fue confirmada por la comparación con una muestra patrón y con los datos espectroscópicos publicados (11).

Las estructuras **1** y **2** no habían sido aisladas anteriormente de especies del género *Ageratina*. El compuesto **1**, llamado Pectolinaringenina se ha aislado de varios géneros entre ellos *Baccharis* y *Eupatorium* (25). La flavona **3**, Hispidulina, se aisló previamente de la especie *Ageratina glyptophlebia* (11). Resulta interesante el hallazgo de estas flavonas C-6-metoxiladas, ya que constituye la segunda especie colombiana del género *Ageratina* donde se reporta este tipo de compuestos y a la vez, estos datos sirven para sustentar la hipótesis de que estos compuestos se perfilan como característicos del género. Además, por la importante actividad biológica de este tipo de flavonas, resulta promisorio continuar con los estudios de búsqueda de estas estructuras y evaluar el potencial de las especies de este género.

PARTE EXPERIMENTAL

La especie *Ageratina angustifolia* (H.B.K.) (Spreng) R.M. King & H. Robinson se recolectó en el kilómetro 5 sobre la vía que de Tabio conduce a Sochagota (Cundinamarca) a 2500 metros sobre el nivel del mar. Fue determinada por Santiago Díaz y un ejemplar reposa en el Herbario Nacional (Col 191513).

Las flores secas se extrajeron con etanol del 96%. El extracto etanólico se concentró a presión reducida. El residuo se suspendió en agua y se extrajo sucesivamente con éter de petróleo, éter etílico y acetato de etilo.

El extracto en acetato de etilo se evaporó a presión reducida, obteniéndose un sólido amarillo (4,7 g.) el cual se sometió a separación cromatográfica así: La parte soluble en metanol (0.7 g.) se cromatografió en una columna RP-8 utilizando como eluyente agua-etanol-ácido acético (65:30:5).

Las fracciones polares fueron sometidas a sucesivas cromatografías en columnas al vacío en sílica Gel H y utilizando como eluyente acetona-diclorometano-agua (8:2:0.2). De estas cromatografías se obtuvo el compuesto **2**.

Las fracciones menos polares se sometieron a purificación por cromatografía al vacío y CCDP en sílica Gel H y Sílica Gel G respectivamente, utilizando como eluente cloroformo-acetona-tolueno (1:1.5:7.5). Se obtuvieron los compuestos 1 y 3.

Los tres compuestos purificados se pasaron por una columna de sephadex LH20 antes de ser sometidos al análisis espectroscópico. Para los espectros UV se utilizó como solvente Metanol uvasol. Los IR se tomaron en pastilla de KBr. Los EM por impacto electrónico a 70 eV. Los espectros RMN¹H se realizaron a 90 MHz, utilizando TMS como referencia interna.

5,7-dihidroxi-6,4'-dimetoxiflavona (1).

UV λ_{\max} nm: 332, 276; + AlCl₃: 354, 300, 288h; + AlCl₃/HCl: 344, 300, 288; + NaOAc 354, 300h, 276; + NaOAc/H₃BO₃: 336, 300h, 278.

IR ν_{\max} cm⁻¹: 3436, 2922, 2851, 1637

EM m/z (int. rel.): 314 (100); 299 (70.5); 296 (53.4); 285 (7.5); 271 (52.9); 167 (14.2); 139 (15.2); 135 (6.7); 133 (24.8); 132 (7.9)

RMN¹H, 90 MHz, DMSO/CD₃COCD₃, δ (m, int.): 3.90 (s, 3H); 4.00 (s, 3H); 6.70 (s, 1H); 6.80 (s, 1H); 7.16 (d J:9Hz, 2H); 8.09 (d J:9Hz, 2H); 13.15 (m, 1H).

5-hidroxi-6,4'-dimetoxi-7-glicosilflavona (2)

mp 258-260 °C (desc.)

UV λ_{\max} : 330, 276; + NaOMe: 380, 298; + AlCl₃ 354, 300, 284; + AlCl₃/HCl: 346, 298, 284; + NaOAc 330, 276.

IR ν_{\max} cm⁻¹: 3468, 3414, 2924, 2854, 1654, 1609

EM m/z (int. rel.): 314 (100); 299 (69.7); 296 (50.1); 285 (12.5); 271 (52.5); 167 (18.0); 139 (19.7); 135 (7.8); 133 (23.4); 132 (7.8).

El compuesto 2 (3 mg) se hidrolizó en medio ácido. La fracción orgánica se comparó por co-cromatografía con el compuesto 1. Resultando ser idénticos los dos compuestos.

5,7,4'-trihidroxi-6-metoxiflavona (3)

mp 287-288 °C

UV λ_{\max} nm: 336, 274; + NaOMe 392, 328h, 276; + AlCl₃: 362, 300; + AlCl₃/HCl 352, 294; + NaOAc: 358, 276; + NaOAc/H₃BO₃: 342, 276.

IR ν_{\max} cm⁻¹: 3413, 3108, 2945, 2841, 1650, 1615;

EM m/z (int. rel.): 300 (100); 285 (62.5); 282 (40.5); 257 (52.7); 167 (17.9); 139 (22.3); 121 (7.8); 119 (19.8); 118 (10.2)

RMN¹H, 90 MHz, DMSO/CD₃COCD₃, (m. int.): 3.75 (s, 3H); 6.60 (s, 1H); 6.80 (s, 1H); 6.92 (d J=9Hz, 2H); 7.89 (d J = 9Hz, 2H)

RMN¹³C, 22.40 MHz, DMSO/CO₃COCD₃, δ : 182.0 (C-4); 163.7 (C-2); 161.1

(C-4'); 157.7 (C-7); 152.7, 157.4 (C-9, C-5); 131.4 (C-6); 128.4 (C-2', C-6'); 121.1 (C-1'); 115.9 (C-3', C-5'); 103.8 (C-10); 102.3 (C-3); 94.3 (C-8); 59.9 (6-OCH₃).

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó gracias a la ayuda financiera dada por el Programa BID-COLCIENCIAS.

BIBLIOGRAFIA

1. García, H. "Flora Medicinal de Colombia", Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, **1975**.
2. Espitia de Pérez, C. y Céspedes, A. M., *Rev. Col. Quim.* **1980**, 10, 17.
3. Bohlmann, F. und Grenz, M., *Chem. Ber.* **1977**, 110, 91.
4. Bohlmann, F.; Banerjee, S.; Wolfrum, C.; Jakupovic, J., King, R.M and Robinson, H.; *Phytochemistry.* **1985**, 24, 1319.
5. Melek, F. R.; Gage, D. A. and Mabry, T. J., *J. Nat. Prod.* **1985**, 48, 331.
6. Fang, N. and Mabry, T. J. *Phytochemistry.* **1988**, 27, 283.
7. Tamayo-Castillo, G.; Jakupovic, J.; Bohlmann, F., Rojas, A.; Castro, V. and King, R.M., *Phytochemistry.* **1988**, 27, 2893.
8. Tamayo-Castillo, G.; Jakupovic, J.; Bohlmann, F., Castro, V. and King, R.M. *Phytochemistry.* **1989**, 28, 139.
9. Fang, N., Yu, S., Marby, T. J., Abboud, K. A. and Simonsen, S. H., *Phytochemistry.* **1988**, 27, 3187.
10. Espita de Pérez, C., Roa, A. M. y Castiblanco, Y., *Rev. Col. Quim.* **1980**, 10, 17.
11. Espitia de Pérez, C. y Salgado de Pinilla, G., *Rev. Col. Quim.* **1990**, 19, 101.
12. Higuera, B. L. Y Espitia de Pérez, C., *Rev. Col. Quim.* **1989**, 18, 55.
13. Dobberstein, R. H., Tin-Wa, M., Fong, H. H. S., Crane, F.A. and Farnsworth, N. R., *J. Pharm. Sci.* **1977**, 66, 600.

14. Fang, N., Yu, S. and Marby, T. J., *Phytochemistry*. **1986**, 25, 2684.
15. Yu, S., Fang, N. and Marby, T. J. *Rev. Latinoamer. Quim.* **1987**, 18, 20.
16. Morales Méndez, A. y Rosquete, C. *Rev. Latinoamer. Quim.* **1988**, 19, 47.
17. Yu, S., Fang, N. and Mabry, T. J., *J. Nat. Prod.* **1986**, 49, 1178.
18. Bolhmann, F. und Grenz, M., *Chem. Ber.* **1977**, 110, 1321.
19. Banerjee, S., Jakupovic, J., Bohlmann, F., King, R. M. and Robinson, H., *Phytochemistry*. **1985**, 24, 2681.
20. Proksch, P. Witte, L. and Wray, V., *Phytochemistry*. **1988**, 27, 3690.
21. Markham, K. R. and Mabry, T. J. in "*The Flavonoids*", J. B. Harborne, T. J. Mabry and E. Mabry, ed., Chapman and Hall, London, **1975**.
22. Wollenweber, E. in "*The Flavonoids. Advances in Research*", J. B. Harborne and T. J. Mabry, ed., Chapman and Hall, N. Y., **1982**.
23. Markham, K. R. in "*Methods in Plant Biochemistry*", P. M. Dey and J. B. Harborne ed., Academic Press, London, **1989**.
24. Melek, F. R., Ahmed, A. A. y Mabry T. J. *Rev. Latinoamer. Quim.* **1985**, 16, 27.
25. Wollenweber, E. and Jay, M. in "*The Flavonoids: Advances in research since 1980*". J. B. Harborne, ed., Chapman and Hall, N. Y., **1988**.