



REVISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS UNIVERSIDAD JAVERIANA

CONTENIDO

EDITORIAL	7
TRABAJOS DE INVESTIGACION	9
Comparación citogenética de dos poblaciones de <i>Aedes aegypti</i> en Colombia: Felio Bello, Bertha Ospina de Dulce, Alejandro Giraldo y Sofía Duque	11
Análisis limnológico y concentración de biocidas en peces de los ríos Ariari, Guayuriba, Humea y Meta: John Ch. Donato	29
Perfil lipídico en pacientes renales crónicos hemodializados: Martha Guerra de Muñoz y Ernesto Pachón M.	55
Contribución a los estudios en anélidos Glossoscolécidos de Colombia. Morfología y anatomía de <i>Martiodrilus crassus</i> : Giovanni M. Iafrancesco V. y Edith Portella	65
Tabla de desarrollo del estado metamórfico en <i>Hyla labialis</i> : Eliseo Ladino e Irma Colmenares de Escamilla	85
Anillos de Boole: Carlos Ruiz S.	101
Disminución de danlings bonds sin oxidación: Alfonso Suárez G.	133
Flavonas metoxiladas de tres especies del género <i>Eupatorium</i> : Rubén D. Torrenegra, Julio A. Pedrozo, Alvaro Roza y Jorge E. Robles	141
REVISIONES	153
Presencia de <i>Achirus novoae</i> Cervigón (Pisces: Soleidae) en la Orinoquía Colombiana: Germán Galvis y José I. Mojica	155
RESUMENES DE TESIS	161
INSTRUCCIONES PARA LA PRESENTACION DE ARTICULOS	180

**FLAVONAS METOXILADAS
DE TRES ESPECIES DEL GENERO EUPATORIUM (1)**

Rubén D. Torrenegra (2)

Julio A. Pedrozo (2)

Alvaro Rozo (2)

Jorge E. Robles (2)

RESUMEN

Se aislaron cinco flavonas metoxiladas de las partes aéreas de tres especies del género *Eupatorium*. De los extractos de flores y hojas de *E. micropillum* y *E. viscosum* se aislaron la 5-hidroxi-6,7,3',4'- tetrametoxiflavona y la 5-hidroxi-7,8,3',4'-tetrametoxiflavona. Del extracto etanólico de *E. gracile* se aislaron tres sustancias: la 3,5,4'-trihidroxi-7,8-dimetoxiflavona, la 3,5,7,3',4'-pentahidroxi 6-metoxiflavona y la 3,5,7,4'-tetrahidroxi-8-metoxiflavona.

(1) Como parte de la investigación "Estudio químico de las plantas colombianas de las familias Compositae y Apocinaceae", financiada por COLCIENCIAS.

(2) Grupo de Investigación Fitoquímica (GIFUJ), Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana.

ABSTRACT

Five methoxylated flavones were isolated from aerial parts of three species of *Eupatorium*. The extracts from flowers and leaves of *E. micropillum* and *E. viscosum* afforded 5-hidroxy-6,7,3',4'- tetramethoxy flavone and 5-hidroxi-7,8,3',4'- tetramethoxy flavone. The flowers of *E. gracile* gave three flavonoids: 3,5,4' -Three hydroxy- 7,8-dimethoxy flavone, 3,5,7,3',4'-pentahidroxy-6-methoxy flavone, and 3,5,7,4'-tetrahidroxy-8- methoxy flavone.

Palabras Clave: Asteraceae - Eupatori - *Eupatorium*.

INTRODUCCION

Las flavonas polimetoxiladas son filtros de radiación ultravioleta, sintetizadas por las angiospermas; del género *Eupatorium* se han aislado un buen número de ellas. En esta investigación se aislaron flavonas metoxiladas de tres especies de dicho género: *E. gracile*, *E. micropillum* y *E. viscosum*.

La sistemática y clasificación de los vegetales observando no solo el hábitat, las diferencias morfológicas o los caracteres genéticos, sino también el estudio químico de los diferentes tipos de compuestos característicos de un conjunto o taxón vegetal, es el gran aporte que brinda la quimiotaxonomía. Al analizar los caracteres químicos de las plantas se pone de manifiesto que algunos metabolitos secundarios (alcaloides, terpenoides, fenoles, etc.), presentan variaciones tanto cualitativas como cuantitativas entre los diferentes géneros, especies, tribus, etc., sirviendo de base a los estudios quimiotaxonómicos.

Las flavonas son importantes marcadores químicos por tres razones: se pueden aislar fácil y rápidamente del material vegetal, se pueden separar fácilmente por cromatografía en papel o en capa delgada, y se pueden identificar por su comportamiento ante algunos reactivos específicos. Razón por la cual en este trabajo se estudian dichas sustancias.

Los sistemas modernos de clasificación dividen el gran grupo de las compuestas en dos familias: Las Cichoriaceae que presentan flores liguladas y las Asteraceae de flores aliguladas. Las plantas de la familia Asteraceae y más precisamente del género *Eupatorium*, están ampliamente distribuidas en Colombia y crecen desde los 50 hasta los 3.500 m.s.n.m.

En Colombia se conocen más de 70 especies del género *Eupatorium*, de las cuales, el 90% son de gran importancia en medicina popular.

Se caracterizan por presentar inflorescencias en capítulos pequeños, en cimas corimbiformes; flores isomorfas hermafroditas, blancas, rosadas o azules, con involucros cilíndricos o acampanados; aquenios con cinco ángulos marcados, truncados en el ápice y, papus formado por numerosas cerdas rígidas y ásperas.

E. gracile var. *epilobioides* (H.B.K.) Robinson, hierba semipostrada de 20 cm de alta, bien ramificada; hojas opuestas acorazonadas, borde crenado, ápice acuminado y base emarginada y, capítulos pequeños blancos (Figura 1).



Figura 1. *Eupatorium gracile* var, *epilobioides* H.B.K.

E. micropillum L.F., yerba postrada de 20 cm de alta, ramificada y tallos lanuginosos; hojas opuestas ovoides, haz verde, envés blancuzco; cabezuelas sésiles de color violeta (Figura 2).

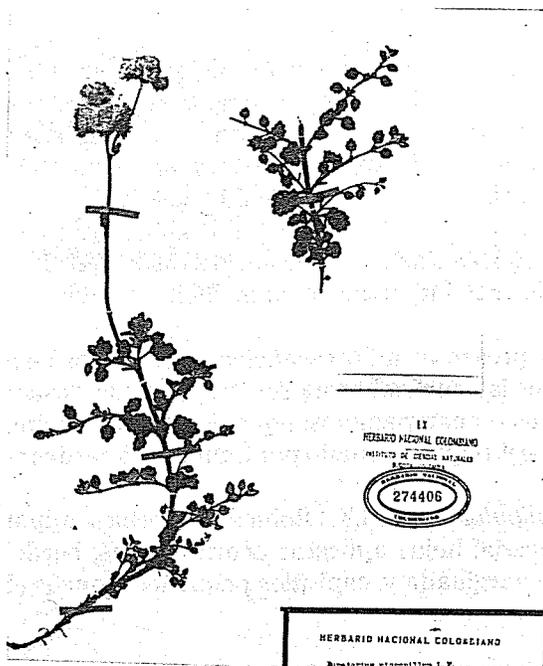


Figura 2. *Eupatorium micropillum* L.F.

E. viscosum H.B.K., semiarbusto de 2 m de altura, ramificado; tallos leñosos hojas opuestas elípticas y aserradas; cabezuelas sésiles de color violeta (Figura 3).

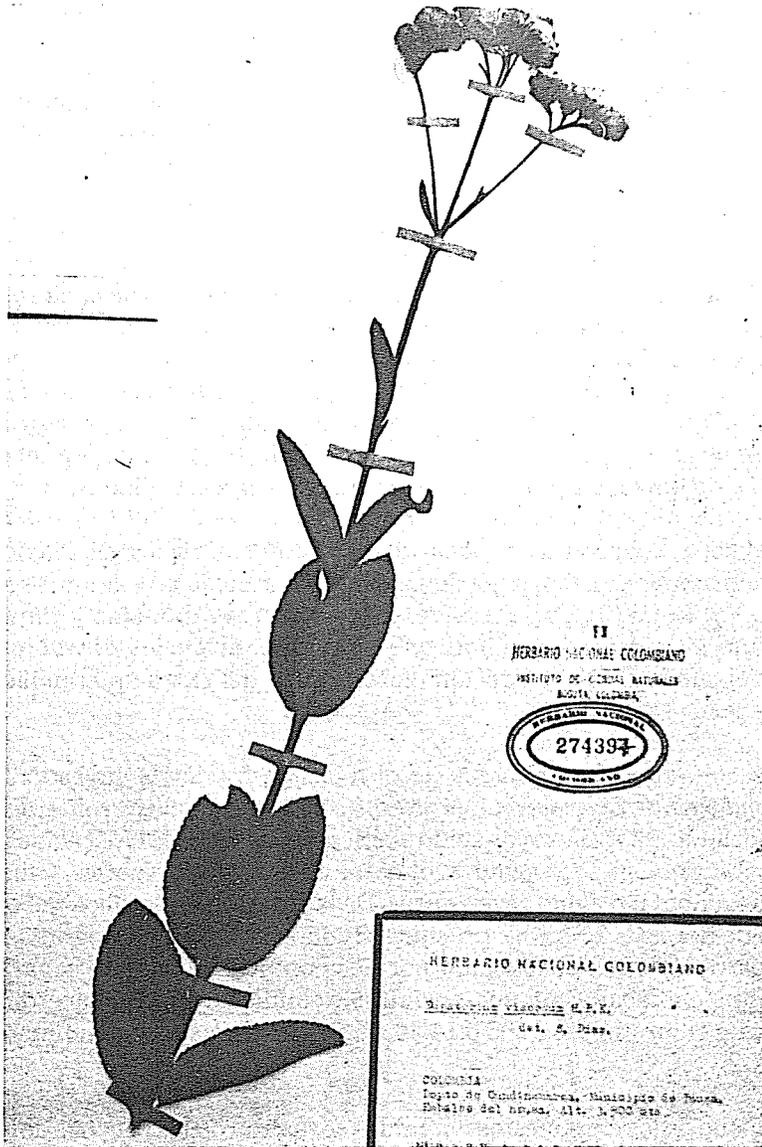


Figura 3. *Eupatorium viscosum* H.B.K.

MATERIALES Y METODOS

En el desarrollo de este trabajo se aplicaron los métodos tradicionales más utilizados en fitoquímica (4). El material vegetal se colectó en los alrededores de la Sabana de Bogotá (2.600 m.s.n.m.): se seleccionaron flores y hojas, las cuales se secaron en estufa a 40°C durante 48 h y posteriormente se trituraron.

Se pesó 1 kg de hojas secas para ser extraído en Soxhlet, con éter de petróleo durante 72 h. El extracto resultante se concentró a presión reducida, hasta mínimo volumen; se trató con acetona y el filtrado resultante se percoló a través de una columna empacada con sílica gel y eluída con éter de petróleo y mezclas de éste con acetona en orden creciente de polaridad. El material sin grasa se extrajo nuevamente en Soxhlet con etanol al 95% v/v, durante 72 h; el extracto resultante se concentró al vacío y después de ser tratado con agua y filtrado, se fraccionó por extracciones líquido-líquido, con éter de petróleo, cloroformo y éter etílico en su orden. La fracción clorofórmica se percoló a través de una columna empacada con sílica gel y eluída con mezclas de éter de petróleo-cloroformo y cloroformo-metanol; a la fracción éter etílico se le realizó cromatografía en columna empacada con sephadex LH-20, y se eluyó con mezclas hidroalcohólicas en orden creciente de polaridad. De igual manera fueron tratados 500 g de flores, de cada una de las tres especies estudiadas.

Se recogieron fracciones de 100 ml de las columnas de sílica gel, a las cuales se les realizó cromatografía en capa delgada en sílica; como reveladores se utilizaron luz U.V y $\text{CoCl}_2/\text{H}_2\text{SO}_4$. De los extractos etéreos de hojas y flores de *E. micropillum* se obtuvo un sólido que se rotuló A, de los extractos de *E. viscosum* el sólido B; de la fracción clorofórmica del extracto etanólico de *E. gracile* se aisló el sólido C.

De las columnas de sephadex se obtuvieron fracciones cuyos volúmenes dependían de los anillos coloreados que descendían; se realizó cromatografía en papel, utilizando BAW (butanol-ácido acético-agua), FORESTAL (ácido acético-ácido clorhídrico-agua) y ácido acético al 15% como solventes, y luz U.V. y vapores de amoníaco como reveladores. De la fracción éter etílico del extracto etanólico de flores de *E. gracile* precipitó el sólido D. Las cromatografías de este sólido mostraron estar constituido por dos compuestos, que se separaron en una columna empacada con microcelulosa, y eluída con butanol-acetona-ácido acético-agua en proporción 70:70:14:26, el primero en salir se denominó D1 y el segundo D2.

Para cada uno de los compuestos obtenidos se realizaron las pruebas de Shinoda y de Dimroth (5) y, se les determinó el punto de fusión. En la determinación de las estructuras de estas sustancias se tuvo en cuenta, además de sus propiedades físicas y químicas, sus propiedades espectroscópicas (espectrofotometría VIS, UV e IR; $^1\text{HNMR}$ y EIMS).

RESULTADOS

Los cinco compuestos fueron positivos para las pruebas de Shinoda y Dimroth; los puntos de fusión y los Rf de cada compuesto, se presentan en la tabla 1.

Tabla 1.

PUNTOS DE FUSION Y RELACION DE FRENTES EN LOS COMPUESTOS OBTENIDOS

COMPUESTOS	PF °C	Rf		
		BAW	Forestal	Acido acético
A	186-88	84	89	7.1
B	156-57	94	95	7.0
C	270-72	82	77	8.2
D1	262-64	65	48	5.0
D2	268-70	38	74	8.0

Los espectros VIS y UV se determinaron en metanol (MeOH), para lo cual se usó un Spectronic 2000. Se determinaron también los desplazamientos producidos en las bandas de absorción de cada compuesto al agregarse independientemente los reactivos tricloruro de aluminio ($AlCl_3$), metóxido de sodio (MeONa) y acetato de sodio (AcONa). (Tabla 2).

Tabla 2.

ESPECTROS VIS Y UV DE LOS COMPUESTOS OBTENIDOS Y, LOS DESPLAZAMIENTOS PRODUCIDOS POR REACTIVOS ESPECIFICOS

COMPUESTOS	A		B		C		D1		D2	
	BI	BII	BI	BII	BI	BII	BI	BII	BI	BII
MeOH	340	282	351	253	370	270	373	258	382	260
$AlCl_3$	+30	+13	+4	+24	+62	+3	+87	+13	0	+12
$AlCl_3/HCl$	+28	+13	+4	+24	+62	+3	+57	+8	0	+6
MeONa	0	+63	+25	+30	M.I.	+4	M.I.	+68	M.I.	+68
AcONa	+5	+2	0	0	+6	0	+15	+10	+18	+10

BI_m en la banda de absorción del VIS. BII_m en la banda de absorción del UV. El signo (+) indica desplazamientos batocrómicos. M.I. indica inestabilidad de la sustancia.

Los espectros IR, se tomaron en fase sólida en pastillas de bromuro de potasio, en un espectrofotómetro Perkin Elmer 126. Se observaron bandas y picos de absorción típicos para flavonoides, de frecuencias de: 3.500-3.300, 2.940, 2.561, 1.550, 1.370 y 1.220 cm^{-1} .

Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica ($^1\text{H-NMR}$), se determinaron con las sustancias disueltas en acetona deuterada, a 250 MHz; en ellas se observaron picos característicos de grupos metoxilados (4.0-3.5) e hidroxilados (8.1-12.3) (Figura 4). Los espectros de masa de impacto electrónico se tomaron en un MAT 312 a 70 eV; (Tabla 3).

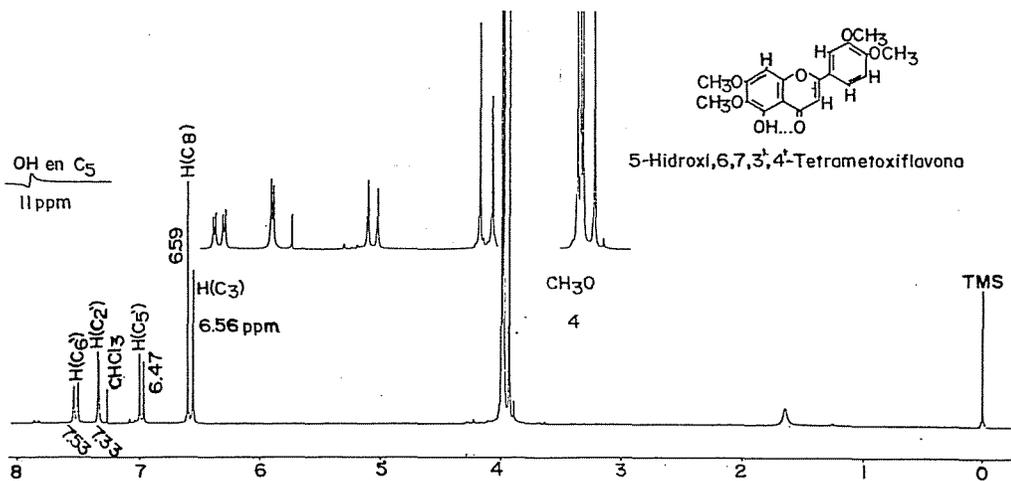


Figura 4. Espectro de $^1\text{H-NMR}$ de 5-hidroxi, 6, 7, 3', 4'-tetrametoxiflavona.

Tabla 3.

FRAGMENTOS ORIGINALES EN LOS ESPECTROS EIMS

Compuestos	Relación m/z de algunos fragmentos originales
A	M^+ 358(100%) [$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$] $^+$; M^+ -15 343 (94%); 329; 315; 312; 181; 163; 137.
B	M^+ 356 (42%) [$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_8$] $^+$; M^+ -15 343 (100%); 315; 165; 137.
C	M^+ 330 (40%) [$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_7$] $^+$; M^+ -15 315 (100%); 312 (18%); 287; 269; 244; 171; (48%); 93; 39 (98%)...
D1	M^+ 332 (85%) [$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_8$] $^+$; M^+ -15 317 (13%); 314 (46%); 289 (100%); 137; 109; 39 (26%)...
D2	M^+ 316 (89%) [$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_9$] $^+$; M^+ -15 301 (99%); 273 (94%); 244 (88%); 121; 39 (100%)...

DISCUSION

Al ser positivas las pruebas de Shinoda y Dimroth, se le asignó a las cinco sustancias el esqueleto carbonado básico de una flavona hidroxilada en C5 (fig. 5 I). Las λ m en el rango VIS mayor o menor de 355 nm, indican la presencia de un grupo hidroxilo OH en C3 para los sólidos C, D1 y D2. El AcONa es una base débil que ioniza grupos OH ácidos y un efecto batocrómico en la banda de absorción BII del espectro UV, se interpreta como la presencia de un grupo OH libre en C7; el MeONa es una base fuerte que ioniza todos los grupos OH de la molécula y un efecto batocrómico en la banda de absorción BI del espectro VIS, se interpreta como la presencia de OH en C3 y C4', mientras que una inestabilidad (MI) de dicha banda se asocia a la presencia de OH en C3, C3', y C4'; el AlCl₃ forma puentes entre grupos OH en posición orto y entre el OH de C3 y/o C5 con el grupo ceto CO de C4, lo cual se manifiesta como efectos batocrómicos en las bandas de absorción BI y BII, lábil o resistente a la presencia de HCl, respectivamente (4), (5).

La presencia de grupos OCH₃ en C6 o en C8, se deduce de si en el espectro EIMS la intensidad de $M^+ > M^+ - 15$ o si $M^+ < M^+ - 15$ respectivamente (2), (3).

El espectro EIMS de A, mostró un pico progenitor M^+ de masa 358 (peso molecular) que correspondió a una fórmula molecular C₁₉H₁₈O₇, con por lo menos cuatro grupos OCH₃, detectados también en el espectro ¹HNMR (picos 3.81 y 4.00 ppm); la presencia de un pico m/z 137 en EIMS, mostró dos grupos OCH₃ en el anillo B en posición C3' y C4'. El pequeño desplazamiento de +2, producido en BII al adicionar AcONa dejó ver al tercer grupo OCH₃ en C7; el cuarto se colocó en C6 debido a que en el EIMS M^+ mostró una intensidad de 100% y $M^+ - 15$ de 94%.

El compuesto B mostró un peso molecular de 358 (M^+), una fórmula molecular C₁₉H₁₈O₇ y por lo menos cuatro grupos OCH₃ (3.82 y 4.00 ppm en ¹HNMR). El AcONa no presentó ningún efecto en el espectro de absorción lo que indica que en C7 existe otro grupo OCH₃; el M^+ posee una intensidad del 42% y $M^+ - 15$ de 100%, indicando que el cuarto grupo OCH₃ se debe colocar en C8.

La sustancia C mostró un peso molecular de 330 (M^+), una fórmula molecular C₁₇H₁₄O₇ y por lo menos dos grupos OCH₃ (picos 3.75 y 4.00 ppm en ¹H NMR); un grupo se colocó en C7 (el AcONa no produce ningún efecto en BII) y, el otro en C8 (M^+ 40% y $M^+ - 15$ 100%). La inestabilidad producida por MeONa en la BI (MI), indicó la presencia de OH en C3 y en C4'; este último se corroboró por la presencia de un pico m/z 93 en el EIMS.

El sólido D1 mostró un peso molecular de 332 (M^+), una fórmula molecular C₁₆H₁₂O₈, con un grupo OCH₃ (pico 3.8 ppm a ¹HNMR) en C6 (M^+ 85% y $M^+ - 15$

13%). El AcONa produjo un efecto batocrómico de +10 en BII, indicando la presencia de un OH en C7 y, la inestabilidad de BI con MeONa, la de grupos OH en C3, C3' y C4'. La presencia de los grupos OH en el anillo B se dedujo también del efecto batocrómico de +87 producido por $AlCl_3$ en la BI, sensible al adicionar HCl.

El compuesto D2 resultó tener como fórmula molecular $C_{16}H_{12}O_7$ y un peso molecular de 316 (M^+). Presentó un grupo OCH_3 (pico 3.9 ppm en 1H NMR) en posición C8 ($M^+89\%$ y $M^+-15/99\%$). El efecto batocrómico de +10 producido en la BII con AcONa, indicó la presencia de un OH libre en C7; la inestabilidad moderada producida por MeONa en la BI se interpretó como la presencia de grupos OH libres en C3 y en C4'.

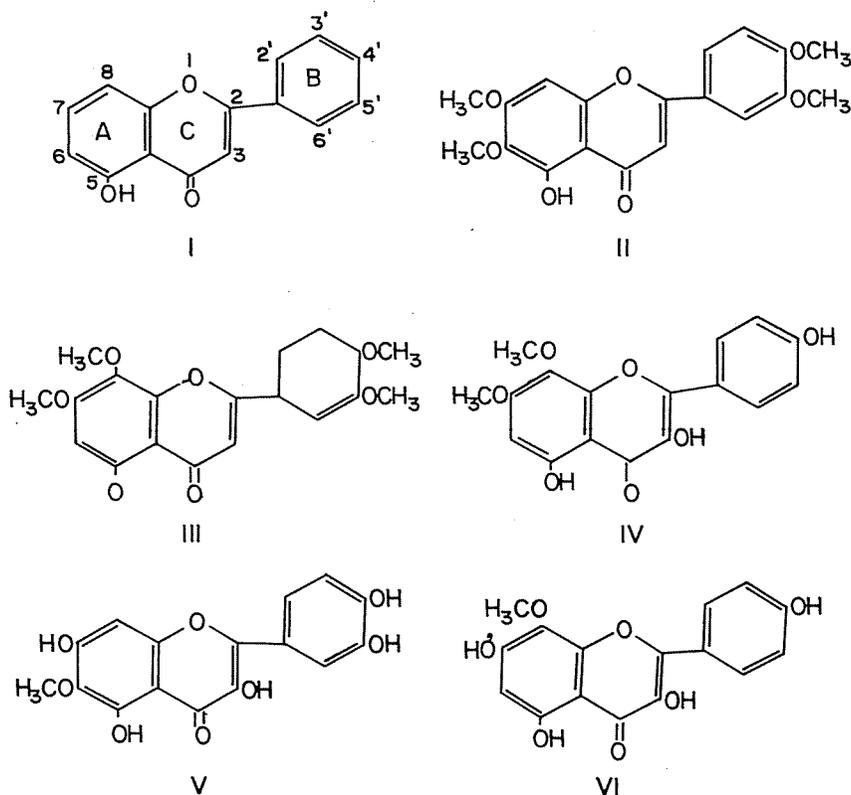


Figura 5. Esqueleto carbonado de una flavona. Estructura de los compuestos aislados.

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta las propiedades físicas, químicas, espectroscópicas y al comparar éstas y las reportadas en la literatura se concluye:

- a. El compuesto A corresponde a la 5-hidroxi-6,7,3',4'- tetrametoxiflavona (Fig. 5 II) (1).
- b. El compuesto B a la 5-hidroxi-7,8,3',4'- tetrametoxiflavona (Fig. 5 III) (7).
- c. El compuesto C a la 3,5,4'-trihidroxi-7,8-dimetoxiflavona (Fig. 5 IV) (6).
- d. El compuesto D1 a la 3,5,7,3',4'-pentahidroxi-6-metoxiflavona (Fig. 5 V) (5).
- e. El compuesto D2 a la 3,5,7,4'-tetrahidroxi-8-metoxiflavona (Fig. 5 VI) (5).

LITERATURA CITADA

1. GONZALEZ, G.A., J. ARTEAGA, J. BRETON, y B. FRAGA. (1976). *Phytochemistry*, 16: 107-110.
2. GOUDARD, M., FAVRE-BONVIN., P. LEBRETON. and J. CHOPIN. (1978). *Phytochemistry*, 17: 145-146.
3. —————, —————. J. STRELISKI, M. NOGRAD and J. CHOPIN. (1979). *Phytochemistry*, 18: 186-187.
4. HARBONE, J.B. (1976). *Phytochemistry methods*. Chapman Hall.
5. —————. J.B. MARBY and H. MARBY. (1975). *The flavonoids*. Chapman Hall.
6. JAUHARI, P.K., S.C. SHARMA, J.S. TANDON and M.M. DHAR. (1979). *Phytochemistry*, 18: 359-360.
7. PROKSCH, M., P. PROKSCH, G. WEISSENBOECK and F. RODRIGUEZ. (1982). *Phytochemistry*, 21: 1835-1836.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Hans Achenbach del Institute fur Pharmazie und Lebensmittelchemie (Germany), quien tomó los espectros de NMR y MS. Al Dr. Santiago Díaz, del Herbario Nacional quien determinó las especies utilizadas en el trabajo. A COLCIENCIAS y a la Pontificia Universidad Javeriana por su apoyo económico a ésta investigación.