

Estudio de los componentes químicos del *Baccharis decussata* (K) Hieron

Janne Rojas* y Antonio Morales

Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes.
Mérida, Venezuela.

Recibido: 04-06-98. Aceptado: 18-05-2000

Resumen

Las partes aéreas del *Baccharis decussata* (K) Hieron fueron extraídas con alcohol isopropílico en un soxhlet hasta agotamiento. El extracto alcohólico llevado a concentración al vacío proporcionó 97 g de material crudo, el cual fue sometido a percolación en una columna de gel de sílice usando como solvente inicial éter de petróleo (EP) y luego mezclas de acetato de etilo (AcOEt) y metanol en polaridad creciente. De las fracciones eluidas con EP:AcOEt (50:50), se obtuvo un sólido amorfo, que después de recromatografiado en columna de gravedad empleando un sistema de solventes similar al anterior, proporcionó en las fracciones eluidas con EP: AcOEt (90:10) y EP: AcOEt (60:40), dos sustancias flavonoídicas que fueron identificadas como 5,7-dihidroxi-4',6-dimetoxiflavona (pectolarigenina) (I) y 5,7-dihidroxi-4',6,8-trimetoxiflavona (nevadensina) (II), respectivamente. El filtrado obtenido al separar el sólido amorfo y someterlo a destilación bajo vacío produjo una masa viscosa, que cromatografiada en columna con silicagel proporcionó en las fracciones eluidas en EP: AcOEt (95:5) un sólido que fue identificado como stigmasta-5,22-dien-3-ol (estigmasterol) (III) y posteriormente en las fracciones eluidas con EP: AcOEt (80:20), se obtuvo un diterpeno de núcleo labdano que se identificó como 8,17-labden-7 β ,15-diol (IV).

Palabras clave: *Baccharis decussata*; Compositae; flavonoides, terpenos.

Chemical compounds from *Baccharis decussata* (K) Hieron

Abstract

The aerial parts from *Baccharis decussata* (K) Hieron were extracted with isopropilic alcohol in soxhlet until wasting. The alcoholic extract on concentration under vacuum afforded 97 g of raw material, which was submitted to purification in vacuum chromatography using petroleum ether (EP) as initial solvent and then mixtures of ethyl acetate (AcOEt) and methanol with increasing polarity. From fractions eluted with EP: AcOEt (50:50), were obtained a solid, which was chromatographed over silicagel. The fractions eluted with EP: AcOEt (90:10) and EP: AcOEt (60:40), afforded two flavonoids which were identified as 5,7-dihidroxi-4',6-dimetoxiflavone (pectolarigenine) (I) and 5,7-dihidroxi-4',6,8-trimetoxiflavone (nevadensine) (II) respectively. The filtrate, obtained after the separation of amorphous solid, on distillation under vacuum afforded a viscous product which on chromatographic purification over silicagel, (eluent EP: AcOEt 95:5) afforded a solid substance that was identified as

* Autor para la correspondencia.

stigmasta-5,22-dien-3-ol (stigmasterol) (III) and the fractions eluted with EP: AcOEt (80:20) afforded a labdane diterpene which was identified as 8,17-labden-7 β , 15-diol (IV).

Key words: *Baccharis decussata*; Compositae; flavonoids, terpens.

Introducción

El género *Baccharis* es uno de los más importantes de la familia Compositae (tribu Astereae) (1) y sus especies son exclusivamente Americanas (2). Su distribución cubre toda Suramérica, se extiende del norte hacia el sur de los Estados Unidos, llegando por el este a Massachusetts. Algunas de las especies son endemismos de gran limitación geográfica, otras ocupan áreas muy vastas (3). El total de sus especies se aproxima a 400, de las cuales sólo 18 se han encontrado en Venezuela (4).

Estudios químicos realizados en diferentes especies de este género han demostrado en las mismas la presencia de sesquiterpenos, diterpenos (5), triterpenos, flavonoides y tricótenos, sustancias macrocíclicas que presentan actividad antileucémica y anticancerosa (6).

Continuando con el estudio fitoquímico de las especies del género *Baccharis* presentes en la flora Venezolana, reinvestigamos el *Baccharis decussata* (K) Hieron (7) por considerar que podría aportar nuevos resultados acerca de sus componentes químicos. Resultados obtenidos de la presente investigación se exponen en el siguiente artículo.

Materiales y Métodos

Los espectros IR fueron realizados en pastillas de KBr, en un espectrómetro Perkin-Elmer modelo 1720X. Los puntos de fusión fueron tomados en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Los espectros RMN¹H y RMN¹³C de las muestras I y II fueron realizados en solución de CDCl₃ con tetrametilsilano como referencia interna, en un espectrómetro modelo

Jeol de 200 MHz en la Universidad de Salamanca y los RMN¹H y RMN¹³C de las muestras III y IV fueron realizados igualmente en solución de CDCl₃ con tetrametilsilano como referencia interna, en un espectrómetro modelo Jeol de 400 MHz de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes.

Los espectros UV fueron realizados en un aparato UV Perkin-Elmer Lambda 3B UV/VIS espectrometer y los ensayos empleando los reactivos de desplazamiento (AcONa, MeONa, H₃BO₃, AlCl₃) se tomaron en solución de MeOH.

Para las separaciones en columna se usaron los solventes éter de petróleo, acetato de etilo y metanol en grado técnico destilados previamente.

En las cromatografías en columna se utilizó silicagel 60 (0,063-0,2 mm) marca Merck y para las cromatografías en capa fina se usó silicagel tipo GF (10-40 μ) marca Sigma.

Resultados

Las partes aéreas del *Baccharis decussata* (K) Hieron, recolectadas en las riveras del Río Albarregas, La Hechicera Edo. Mérida, después de secados al aire y molidas (4,86 Kg) fueron extraídos hasta agotamiento con alcohol isopropílico en un soxhlet. El extracto después de concentrado por destilación al vacío dio una masa viscosa (97 g) que fue mezclada con silicagel (190 g) hasta formar una masa pulverulenta.

5,7-dihidroxi-4',6-dimetoxiflavona (pectolinarigenina) (I)

La separación cromatográfica en columna de silicagel de los componentes del extracto, proporcionó en las fracciones eluidas con éter de petróleo: acetato de etilo

(50:50) un sólido amorfo que fue recromatografiado en columna de gravedad obteniéndose en las fracciones eluidas con EP: AcOEt (90:10) un producto (I) de pf: 196-198°C que se identificó como pectolinarigenina. **UV**: λ_{\max} = 274, 325 nm; MeONa: 358 nm, AlCl_3/HCl : 339 nm. **IR**: 3456 cm^{-1} , 1666 cm^{-1} , 1105 cm^{-1} . **RMN ^1H** : (CDCl_3 , δ ppm): 3,86 y 4,02 ppm (s, $-\text{OCH}_3$ 6 y 4'); 6,54 ppm (s, H_g); 6,52 ppm (s, H_3); 6,99 ppm y 7,08 ppm (d, $\text{H} = 2',6',3',5'$); 13,06 ppm (s, OH fenólico). **RMN ^{13}C** : 55 y 61 ppm (2 $-\text{OCH}_3$); 94, 104, 114 y 127 ppm (4 $-\text{CH}-$); 184 ppm (C=O). **EM**: 314 [M^+] $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$, 184, 140, 141, 132, 135 m/e.

5,7-dihidroxi-4',6,8-trimetoxiflavona (nevadensina) (II)

De las fracciones eluidas de esa misma columna con EP:AcOEt (60:40), se obtuvo un sólido, pf: 181-183°C. **UV**: 282 y 324 nm; MeONa: 369 nm; **IR**: 3410 cm^{-1} , 1657 cm^{-1} , 1125 cm^{-1} . **RMN ^1H** : 3,99 y 4,01 (s, $-\text{OCH}_3$ 6,8,4'); 6,55 ppm (s, H_3); 7,0 -7,85 ppm (d, $\text{H}:2',6',3',5'$); 12,73 ppm (s, OH fenólico); **RMN ^{13}C** : 55-61 ppm (3 $-\text{OCH}_3$); 103-130

ppm ($-\text{CH}-$); 182 ppm (C=O). **EM**: 344 [M^+], $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$, 329,170,132,135 m/e.

Stigmasta-5,22-dien-3-ol (estigmasterol) (III)

Del filtrado obtenido al separar el sólido amorfo se obtuvo por destilación bajo vacío una masa viscosa que cromatografiada en columna de silicagel proporcionó en las fracciones eluidas con EP/AcOEt (95:5) un sólido blanco (III). $[\alpha]_D = -52$ (2mg%, CHCl_3), pf: 151-58°C. **IR**: 3426 cm^{-1} , 2960 cm^{-1} , 2942 cm^{-1} , 1456 cm^{-1} , 1383 cm^{-1} . **RMN ^{13}C** : 12-21,3 ppm (6 CH_3), 21,5-31,4 ppm (6 CH_2); 31,8 ppm ($-\text{CH}-$); 34,2 ppm ($-\text{C}-$); 37,1-39,4 ppm (3 $-\text{CH}_2-$); 40,2 y 40,8 ppm (2 $-\text{CH}_2$); 43,2 ppm ($-\text{C}-$); 49,4-55,9 ppm (4 $-\text{C}-$); 71 ppm ($-\text{CHOH}-$); 117,4 ppm-138,1 ppm (3 $=\text{CH}-$); 139,5 ppm ($=\text{C}-$). **EM**: 412 [M^+], $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$, 397 m/e, 369 m/e, 271 m/e, 255 m/e.

8,17-labden-7 β ,15-diol (IV)

De las fracciones eluidas de esa misma columna, con EP/AcOEt (80:20) se separó un sólido blanco (IV), $[\alpha]_D = -25$ (2 mg%,

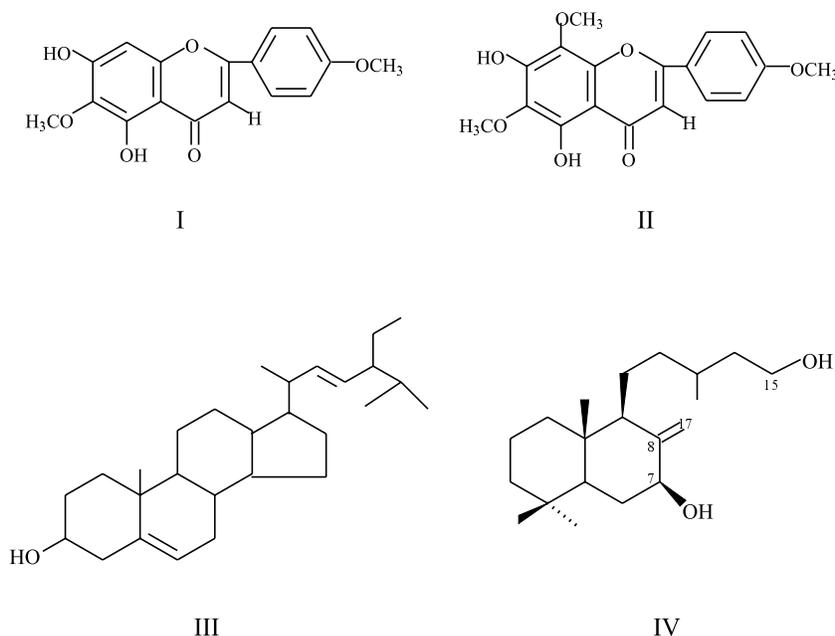


Figura 1. (I) Pectolinarigenina. (II) Nevadensina. (III) Estigmasterol. (IV) 8,17-labden-7 β ,15-diol.

CHCl₃), pf: 110-114°C. IR: 3276 cm⁻¹, 2925cm⁻¹, 1650cm⁻¹. RMN ¹H: 0,66 ppm (s, H₂₀, CH₃); 0,81 ppm (s, H₁₉, CH₃); 0,89 ppm (s, H₁₈, CH₃); 0,90 ppm (d, H₁₆, CH₃); 3,67 ppm (m, H₁₅, CH₂-OH); 3,96 (dd, H₇, CH-OH). RMN ¹³C: 39,63 ppm (-CH₂); 19,33 ppm (-CH₂); 42,02 ppm (-CH₂-); 33 ppm (-C-); 53,15 ppm (-CH-); 33,97 ppm (-CH₂); 74,02 ppm (-CH₂OH-); 150,76 ppm (-C); 55,54 ppm (-CH-); 39,37 ppm (-C-); 20,62 ppm (-CH₂); 35,95 ppm (-CH₂); 30,25 ppm (-CH-); 38,96 ppm (-CH₂); 61,20 ppm (-CH₂OH); 19,83 ppm (-CH₃); 102,84 ppm (-CH₂); 14,45 ppm (-CH₃); 21,62 ppm (-CH₃); 35,53 ppm (-CH₃). EM: 308 [M⁺] C₂₀H₃₆O₂, 275 m/e, 272 m/e, 257 m/e, 207 m/e, 138 m/e, 123 m/e, 109 m/e, 95 m/e, 81 m/e, 69 m/e, 55 m/e y 41 m/e.

Discusión

De las partes aéreas del *Baccharis decussata* (K) Hieron, se obtuvo un extracto etanólico, que se percoló a través de una columna de gel de sílice. De las fracciones eluidas con éter de petróleo/acetato de etilo (50:50), se separó un líquido viscoso que dejado en reposo durante 24 horas y filtrado proporcionó un sólido amorfo, que mostró en cromatografía en capa fina la presencia de varias sustancias. La cromatografía en columna de gravedad con sílicagel de este sólido, proporcionó en las fracciones eluidas con EP: AcOEt (90:10) un producto (I) de color amarillo que después de recristalizado varias veces en metanol fundió a 196-198°C.

Su espectro IR muestra absorciones a 3456 cm⁻¹ (-OH), 1666 cm⁻¹ (C=O α,β - insaturadas) y 1105 cm⁻¹ (C-O éter). Su RMN ¹H muestra dos singuletes a 3,86 y 4,02 ppm para dos grupos metoxilo (-OCH₃), dos singuletes a 6,52 y 6,54 ppm atribuidos cada uno de ellos para protones aromáticos. Además, presenta dos dobletes centrados a 6,99 y 7,08 ppm atribuidos cada uno de ellos a los dos protones aromáticos de dos sistemas

A,B equivalentes y un singulete en 13,06 ppm de un OH fenólico.

Su espectro RMN ¹³C muestra señales para 17 carbonos distribuidos de la siguiente forma: dos primarios (55 y 61 ppm), seis terciarios (94, 104, 114 y 127 ppm) y nueve cuaternarios, una de ellas a 184 ppm atribuida al carbono de un grupo carbonilo.

Su espectro de masas muestra el ion molecular a 314 m/e [M⁺] que corresponde con la fórmula molecular C₁₇H₁₄O₆ y fragmentos significativos a 184 m/e, 140 m/e, 141 m/e, 132 m/e y 135 m/e.

Los datos espectroscópicos anteriores nos llevan a la conclusión de que el compuesto (I) es un flavonoide. Su UV muestra bandas a 325 nm (banda I) y 274 nm (banda II), acordes con los valores observados en la literatura para los anillos A y B respectivamente (8).

Los ensayos realizados con los reactivos de desplazamiento mostraron los siguientes resultados: con MeONa la banda I sufrió desplazamiento batocrómico de +33 nm y disminuyó su intensidad lo que señala la presencia de un OH en C₄' sustituido. En presencia de AcONa no se alteró, por lo que el OH en la posición 7 está sustituido. Con NaOAc/ H₃BO₃ no hubo variación lo que indica la ausencia de grupos OH en posición orto y con AlCl₃/ HCl se produjo un desplazamiento batocrómico de +14 nm indicando la presencia de un grupo OH en C₅ (9). Por comparación de las constantes físicas y datos espectroscópicos del compuesto I con las reportadas en la bibliografía consultada se le identificó como pectolinarigenina (10).

Por otra parte, de las fracciones eluidas con EP/AcOEt (60:40) se obtuvo un sólido amarillo (II) que después de recristalizado en metanol fundió a 181-183°C. Su espectro IR muestra bandas a 3410 cm⁻¹ (O-H), 1657 cm⁻¹ (C=O α,β - insaturadas) y 1125 cm⁻¹ (C-O éter). Su espectro RMN ¹H muestra dos singuletes a 3,99 y 4,01 ppm atribuidos

cada uno de ellos a grupos (-OCH₃), en 6,55 ppm se observa un singulete atribuido al H₃ y dos dobletes centrados a 7,0 y 7,85 ppm atribuidos a los protones del sistema A,B equivalentes y un singulete a 12,73 ppm atribuido al protón del OH fenólico.

En el espectro RMN ¹³C se observan señales de carbonos primarios a 55 y 61 ppm, entre 103 y 130 ppm se observan señales para carbonos terciarios y a 182 ppm se observa la señal del grupo C=O. Su espectro de masas muestra un ion molecular de 344 g/mol [M⁺] que concuerda con la fórmula molecular C₁₈H₁₆O₇ y fragmentos a 329 m/e y 170 m/e, 132 m/e y 135 m/e. Al igual que en el compuesto anterior los datos espectroscópicos nos llevan a concluir que el compuesto (II) es un flavonoide.

Su espectro UV presenta absorciones a 324 y 282 nm, acordes con los valores observados en la literatura para flavonoides (8). Ensayos realizados con los reactivos de desplazamiento señalan los siguientes resultados: con MeONa la banda I sufre un desplazamiento batocrómico de +45 nm indicando la presencia de un grupo OH en C₄′, con AcONa / H₃BO₃, no se alteró, lo que indica la ausencia de grupos di-OH en posición orto.

Análisis de las constantes físicas y comparación de los datos espectroscópicos con los reportados en las referencias bibliográficas el compuesto (II) se identificó como nevadensina.

La nevadensina es un compuesto poco común en la naturaleza. Solo ha sido reportado su aislamiento en *Iva nevadensis* (11) y asimismo en el trabajo anterior del estudio de esta especie (7). La nevadensina ha sido reportada como un compuesto que posee actividad anti-inflamatoria, hipotensora y tuberculostática (12).

El filtrado obtenido al separar el sólido amorfo al someterlo a destilación bajo vacío, produjo una masa viscosa que cromatografiada en columna de silicagel, proporcionó

en las fracciones eluidas en EP/AcOEt (95:5) un sólido blanco (III) que después de recristalizado en MeOH fundió a 154-158°C, [α]_D = -52 (2 mg %, CHCl₃), que fue identificada como estigmasterol, al ser superponibles sus espectros IR, RMN¹H con el de una muestra auténtica de dicha sustancia.

De las fracciones eluidas con EP/AcOEt (80:20) se separó un compuesto cristalino (IV), pf 110-114°C; [α]_D = -25 (2mg %, CHCl₃) y de peso molecular 308 g/mol determinado por espectrometría de masas (M⁺ 308 m/e), que concuerda con la fórmula molecular C₂₀H₃₆O, de un diterpeno bicíclico.

Su espectro IR muestra bandas a 3276 cm⁻¹ (OH) y a 1650 cm⁻¹ (C=C) y un pico a 896 cm⁻¹, lo que sugiere que la insaturación debe pertenecer a un grupo metileno terminal.

En el espectro RMN ¹H se observan singuletes a 0,66 ppm, 0,81 ppm y 0,89 ppm para tres metilos sobre carbonos cuaternarios, una señal doblete centrada a 0,90 ppm para un metilo sobre un carbono terciario y dos señales singuletes a 5,16 ppm y 4,67 ppm para cada uno de los protones de un grupo metileno terminal. Además presenta una señal multiplete centrada a 3,67 ppm para los dos protones de un grupo alcohólico primario.

Por otra parte, también presenta una señal doblete de dobletes centrada a 3,96 ppm, atribuida a un protón en posición axial en el C₇, debido a un acoplamiento H_{7,6} (ax-ax), J = 11 Hz y un acoplamiento H_{7,6} (ax-ec), J = 5 Hz, lo que indica que el OH debe estar en posición β ecuatorial en el C₇. Análisis detallado de los datos espectroscópicos nos llevan a identificar al compuesto IV con 8,17-labden-7β,15-diol, aislado sólo antes del *B. pedunculata* (Mill.) Cab. (13), siendo en este trabajo donde se reportan sus constantes físicas por primera vez. Previamente González *et al.* (14), habían mencionado la obtención por vía sintética del estereoisómero 8,17-labden-7β, 15-diol.

Agradecimientos

Al CDCHT por su apoyo económico a través de proyecto FA-160-95-08-C, a Alí Bahsas de la Facultad de Ciencias de la Universidad de los Andes, a Esther del Olmo de la Universidad de Salamanca por la realización de los espectros de RMN y masas; y a William Velázquez del Laboratorio de Físico-Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de la ULA por su colaboración en la realización de los espectros UV.

Referencias Bibliográficas

1. ARISTIGUIETA L. *Familia y géneros de los árboles de Venezuela*, Edición especial del Instituto Botánico, UCV, Caracas (Venezuela), pp. 845, 1973.
2. ZDERO C., BOHLMANN F., NIEMEYER M. *Phytochemistry* 30(5): 1597-1601, 1991.
3. MORALES A., ROSQUETE C. *Revista Latinoamericana de Química* 11: 112-113, 1980.
4. ZDERO C., BOHLMANN F., SOLOMON J., KING R., ROBINSON H. *Phytochemistry* 28(2): 531-542, 1989.
5. GUERRERO C., ROMO DE VIVAR A. *Revista Latinoamericana de Química* 4: 178-184, 1973.
6. LIU Y., TIMMERMANN B., HOFFMANN J., Mc LAUGHLIN P. *Phytochemistry* 33(6): 1549-1551, 1993.
7. MORALES A., NUÑES O., ROSQUETE C., MONTILLA A. *Anales de Química de la Real Sociedad Española de Química* 80(1): 98-99, 1984.
8. MARKHAM K.R. *Techniques of flavonoid identification*, Academic press, Great Britain, pp. 113, 1982.
9. HARBORNE J. *The Flavonoids advances in research*, Chapman and Hall, Great Britain, pp 621, 1988.
10. KUPCHAN M., JARVIS B., DAILEY R., BRIGHT W., BRYAN R. *Journal American Chemical Society* 98: 7092-7093, 1976
11. FARKAS L., NOGRADI M., SUDARSANAM V., HERZ W. *Journal Organic Chemistry* 31: 1629, 1966.
12. LIU Y., WAGNER H., BAUER R. *Phytochemistry* 42(4): 1203-1205, 1996.
13. JAKUPOVIC J., SCHUSTER A., WASSHAUSEN. *Phytochemistry* 30(8): 2785-2787, 1991.
14. GONZALEZ A.G., BARRERA J.B., DIAZ J.G., PEREZ E.M., YANES A.C., RAUTER P., POZO J. *Phytochemistry* 29(1): 321-323, 1990.