

DITERPENOS, TRITERPENOS Y FLAVONAS DEL EUPATORIUM JHANII (*)

POR

A. G. GONZALEZ, J. M. ARTEAGA, B. M. FRAGA
y M. G. HERNANDEZ

Departamento de Química Orgánica y Bioquímica.
Universidad de La Laguna. Instituto de Productos Naturales Orgánicos,
C.S.I.C., Tenerife

Recibido el 6 de junio de 1978

RESUMEN.—Del *Eupatorium jhanii*, se obtuvo un nuevo diterpeno, el ácido jhánico, y se determinó su estructura como III. También se aislaron las conocidas sustancias terpénicas acetato de lupeol, lupenona, lupeol, β -sitosterol y el ácido hardwickiico, y las flavonas salvigenina, 3-O-metil-eupatorina y eupatorina.

SUMMARY.—From *Eupatorium jhanii* we have obtained a new diterpene, jhanic acid, determining its structure as III. We have also isolated the known terpene substances lupeol acetate, lupenone, lupeol, β -sitosterol and hardwickiic acid, and the flavones salvigenin, 3-O-methyl-eupatorin and eupatorin.

INTRODUCCION

Dentro de la familia de las Compuestas el género *Eupatorium* se caracteriza por contener lactonas sesquiterpénicas con actividad antitumoral (1) (2). También se han aislado de especies de este género, sustancias de tipo flavonoide (3). En anteriores publicaciones nosotros hemos dado cuenta del aislamiento a partir del *Eupatorium jhanii* de cinco nuevos diterpenos con esqueleto de óxido de labdano (4) y de una nueva lactona terpénica (5). En esta comunicación presentamos los resultados finales obtenidos en el estudio de esta especie. A efectos de descripción utilizaremos el orden diterpenos, triperpenos y flavonas.

Del *Eupatorium jhanii* hemos obtenido dos ácidos diterpénicos que fueron separados en forma de sus metil ester. El primero de ellos es un producto aceitoso de fórmula empírica $C_{21}H_{30}O_3$ (M^+ 330) $[\alpha]_D^{25} - 99$, que presenta en el IR bandas a 1.500 y 875 cm^{-1} que son características de un anillo furánico β -sustituido. Esta asignación se confirma en el espectro de RMN en el que se observan señales a 7,40 (2H, m) y 6,35 (1H, m) típicas de dicho agrupamiento. Este espectro muestra además la presencia en la molécula de un protón vinílico a bajo campo, dos metilos angulares y de un metilo terciario. El espectro de RMN de ^{13}C confirma los anteriores asertos; así las resonancias a 143,7, 138,4, 125,6 y 110,9 son características del anillo furánico.

Revisada la bibliografía química se encontró que nuestro ácido podía tratarse del ácido *hardwickiico* (1), (6), (7), (8). Comparación de los datos espectrales con aquellos obtenidos del metil ester de una muestra auténtica establecieron su identidad.

El segundo de los ácidos aislados como metil ester es también un diterpeno de fórmula empírica $C_{21}H_{30}O_3$. En su espectro infrarrojo se observan las absorciones características de un anillo furánico, de dobles enlaces y del grupo ester. El espectro de RMN protónica muestra señales asignables a un furano, a dos dobles enlaces, uno endocíclico y otro exocíclico, a un metilo sobre un doble enlace y a un metilo angular.

El espectro de RMN de ^{13}C (tabla I) presenta señales características de un ciclo furánico, tres singuletes que corresponden a carbonos cuaternarios, dos de los cuales forman parte de dos dobles enlaces, dos dobletes debidos a carbonos terciarios, uno de ellos originado por un carbono olefínico, y ocho tripletes metilénicos, uno de los cuales pertenece a un doble enlace exocíclico. Asimismo se observan las señales correspondientes a un grupo carbonílico y a un agrupamiento $^-OCH_3$.

No se ha encontrado descrito en la literatura ningún producto con las características anteriormente señaladas para esta sustancia, por lo que debe tratarse de un nuevo diterpeno, al que se le denominó *ácido jhánico*. Teniendo en cuenta las consideraciones expuestas anteriormente se le asignó la estructura III. El doble enlace metilénico debe

(*) Parte 40 en la serie "Química de las Compuestas". Para parte 39 ver: A. G. González y B. García Marrero, Estos ANALES, 74, 1121 (1978).

estar en C-10 y no en C-8 por consideraciones biogénicas, pues es más probable que este último que no ha intervenido en la ciclación retenga la misma forma y configuración que el precursor *trans*-geranil-geraniol.

El compuesto XIV relacionado biogénicamente con el ácido jhánico, ha sido aislado por Bohlmann y col. del *Hebeclinium macrophyllum*, una especie que pertenece también a la tribu *Eupatorieae* (Compuesta).

Sustancias con estructura semejante, pero de tipo sesquiterpénico, como son el *trans*- γ -monociclofarnesol (XV) y el ácido presiccanochroménico (XVI) han sido aislados del hongo *Helminthosporium siccans* D.

Por reducción del metil éster del ácido jhánico (IV) con hidruro de aluminio y litio se obtuvo el alcohol V que por oxidación con el clorocromato de piridina condujo al aldehído VI. Por reducción de Huang-Minlon de este último se llegó al compuesto VII. El espectro de RMN protónica de VII presenta las señales correspondientes al grupo gem-dimetilo a 0,84 y 0,92, y el doble enlace exocíclico a 4,76 y 4,56 δ . Estas son las mismas posiciones de resonancia que presenta el *trans*- γ -monociclofarnesol (XV) para dichos agrupamientos.

En la tabla I damos las asignaciones provisionales de las posiciones de resonancia de los carbonos en el espectro de RMN del metil éster del ácido jhánico. Estas se han establecido teniendo en cuenta los desplazamientos químicos, la multiplicidad observada y la comparación con los espectros de otras sustancias de estructura establecida.

TABLA I

δ_c del metil éster del ácido jhánico (ppm desde el TMS)

Carbono	Desplazamientos	Multiplicidad
1	28,6 a	t
2	24,3 a	t
3	37,9	t
4	49,4	s
5	48,2	d
6	34,4 b	t
7	34,1 b	t
8	135,9	s
9	124,0	d
10	147,7	s
11	25,7 a	t
12	25,2 a	t
13	124,2	s
14	110,5	d
15	138,5	d
16	143,2	d
17	16,0	c
18	19,1	c
19	177,8	s
20	109,3	t

a y b, estas asignaciones pueden ser intercambiadas.

Los triterpenos obtenidos de esta especie pertenecen a la serie del lupeno. En los espectros de RMN se puede apreciar la presencia del doble enlace metilénico y del grupo metilo sobre este enlace. Por comparación con muestras auténticas se identificaron como el acetato de

lupeol, la lupenona y el lupeol. Cuando se realizaron los espectros de RMN de las muestras triterpénicas brutas, según fueron obtenidas de las columnas cromatográficas, se puede apreciar también la existencia en muy pequeña cantidad de los correspondientes triterpenos amirénicos.

Todas las flavonas aisladas presentan en RMN el protón hidroxílico del C-5 asociado con el grupo carbonílico de la γ -pirona. También se observa la presencia en el anillo A de dos grupos metoxilo en las posiciones 6 y 7. Así tenemos que de su estudio espectral se deduce que solo se diferencian entre ellas en el sustituyente en el C-3'. Por comparación con los espectros obtenidos de muestras auténticas se identificaron como la salvigenina (XI) (12), la 3'-O-metil-eupatorina (XII) (3) y la eupatorina (XIII) (3). Estas flavonas han sido también aisladas anteriormente de especies del género *Eupatorium* (13).

PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión se determinaron en un bloque de Kofler, y están sin corregir. Las cristalizaciones se realizaron en metanol mientras no se indique lo contrario. Las actividades ópticas se midieron en CHCl_3 en un polarímetro Perkin-Elmer 141. Los espectros se realizaron en los siguientes aparatos: IR en un 257, los UV en EtOH en un 402 y los de RMN protónica en CDCl_3 en un R-12B y en un R-32, todos ellos de Perkin-Elmer; los de RMN de C^{13} en un Varian CFT-20 y los de masas en un Hewlett Packard 5930-A, dotado de inyección directa. Todos los absorbentes cromatográficos utilizados fueron productos Merck. El revelador para la cromatografía en capa fina fue una mezcla de H_2SO_4 -AcOH- H_2O (4-80-16). Para la cromatografía preparativa en columna se utilizó gel de sílice 0,2-0,5 mm y para aquellas en columna seca gel de sílice de 0,05-0,2 mm.

El *Eupatorium jhanii* Robinson fue recogido en junio en "El Delgadito", estado de Mérida (Venezuela). Se extrajo con EtOH en un *soxhlet* y el extracto se concentró a sequedad a vacío, dando un líquido siruposo de color verde oscuro. Este extracto se percoló sobre gel de sílice utilizando como eluyente acetato de etilo, eliminándose así glucósidos y algunos colorantes.

Las fracciones obtenidas en el percolado anterior se reunieron y se concentraron a sequedad, dando un peso de 400 gr. Por cromatografía en gel de sílice y empleando como eluyentes éter de petróleo, benceno, acetato de etilo y mezclas de estos disolventes se logró dividir el extracto anterior en grupos de sustancias. Estas a su vez se recromatografiaron en columna seca, obteniéndose los siguientes productos en orden de elución: acetato de lupeol, lupenona, acetato de jhanol (4), jhanilactona (5), lupeol monoacetato de jhanidiol (4), jhanol (4), β -sitosterol, una mezcla de los ácidos jhánico y hardwickiico, y jhanidiol (4). Las fracciones que contenían los ácidos fueron metiladas con diazometano y cromatografiadas en columna seca de gel de sílice utilizando como eluyente éter de petróleo-benceno (50%).

Las flavonas se aislaron en el orden siguiente: salvigenina, 3'-O-metil-eupatorina y eupatorina se obtuvieron por cristalización de las fracciones de la cromatografía general que las contenían.

Los productos acetato de lupeol, lupenona, lupeol y β -sitosterol se identificaron por sus datos espectrales y comparación con muestras auténticas.

Metil éster del ácido hardwickiico (III).—Se obtuvo como un aceite, $[\alpha]_D^{25}$ 93 (c, 0,98).

IR ν film. 1720, 1630, 1500, 1240, 1200, 1170, 1080, 1070, máx.

1040, 1030, 875, 760 cm^{-1} . RMN (60 Mc) δ 7,40 (2H, m), 6,65 (1H, t), 6,35 (1H, m), 7,72 (3H, s), 1,28 (3H, s), 0,82 (3H, d, J=6 Hz), 0,75 (3H, s). EM m/e 330 (M^+), 315, 314, 283, 271, 235, 203, 175.

Metil éster del ácido jhánico (IVO).—Aceite, $[\alpha]_D^{25}$ 18 (c, 0,84).

IR ν film. 3080, 1730, 1650, 1505, 1380, 1240, 900, 880 y 780 máx.

cm^{-1} . RMN (60 Mc) δ 7,32 (2H, m, 15 y 16-H), 6,32 (1H, m, 14-H), 5,17 (1H, H-9), 4,85 y 4,65 (cada uno 1H, s. ancho, 20

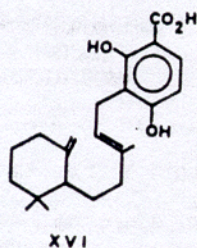
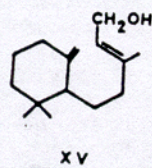
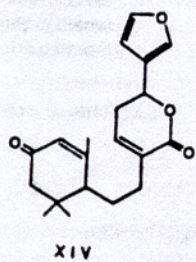
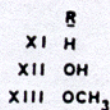
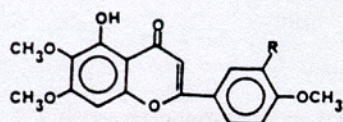
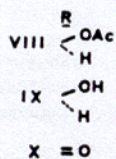
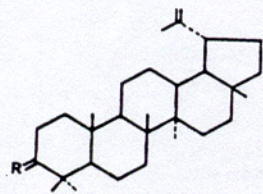
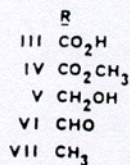
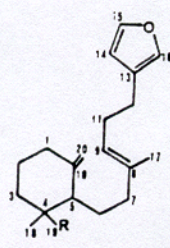
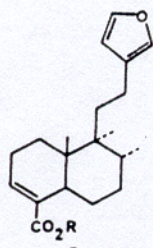
H₂), 3,68 (3H, s, -OMe), 1,57 (3H, s. ancho, 17-H₃) y 1,05 (3H, s, 19-H₃). EM m/e, 330, 315, 312, 300, 299, 271, 253, 221.

Reducción del metil ester del ácido jhánico.—El metil ester (380 mg) en éter seco (50 ml) se trató con AlLiH₄ (200 mg) a reflujo durante 3 horas. El exceso de reactivo se destruyó añadiéndole cuidadosamente agua. Se trató la mezcla con ClH 3N y se extrajo con éter de la forma usual. Se obtuvo así el alcohol V (240 mg).

RMN (60 Mc) δ 7,32 (2H, m, 15 y 16-H), 6,32 (1H, m, 14-H), 5,19 (1H, t, H-9), 4,80 y 4,60 (cada uno 1H, s. ancho, 20-H₂), 3,54 y 3,40 (cada uno 1H, dd, 18-H₂), 1,62 (3H, s. ancho, 17-H₃) y 0,85 (3H, s, 19-H₃). EM m/e 302, 287, 271, 252, 189, 162 y 147.

Oxidación del alcohol V con el reactivo de Corey.—El alcohol (370 mg) en diclorometano (3 ml) se trató con el clorocromato de piridina (400 mg) disuelto en diclorometano (7 ml). Se dejó a la temperatura ambiente y con agitación durante 1 hora. Transcurrido este tiempo se le añadió éter sulfúrico seco y se percoló a través de una columna de celita. De esta forma se obtuvo el aldehído VI (110 mg) y el producto de partida (40 mg).

RMN (60 Mc) δ 9,47 (1H, s, 19-H), 7,32 (2H, m, 15 y 16-H), 6,32 (1H, m, 14-H), 5,18 (1H, t, H-9), 4,87 y 4,70 (cada uno 1H, s. ancho, 20-H₂), 1,60 (3H, s. ancho, 17-H₃) y 0,85 (3H, s, 19-H₃). EM m/e 300, 285, 271, 253, 189, 147.



Reducción de Huang-Minlon del aldehído VI.—El aldehído (90 mg) en dietilenglicol (5 ml) se le añadió hidracina (5 ml) y se reflujo durante 2 horas. A continuación se le añadió KOH (210 mg) y se reflujo durante 15 minutos más. Se eliminó el agua y el exceso de hidracina por destilación a 200° y luego se continuó el reflujo durante 2 horas más. Se dejó enfriar, se destiló a pH 4 y se extrajo con éter de la forma usual. Se obtuvo así el producto VII (70 mg).

IR ν 3060, 1640, 1500, 1380, 1370, 890, 870 y 780 cm⁻¹. RMN (60 Mc) δ 7,32 (2H, m, 15 y 16-H), 6,33 (1H, m, H-14), 5,18 (1H, t, H-9), 4,76 y 4,56 (cada uno 1H, s. ancho, 20-H₂), 1,60 (3H, s. ancho, 17-H₃) y 0,84 (3H, s, 19-H₃). EM m/e 286, 271 y 177.

Salvigenina (5-hidroxi-6,7,4'-trimetoxi-flavona) (XI).—P.F.

194-195 (Lit. 190-191) (12). IR ν Cl₃CH 2940, 2840, 1650, 1580, 1490, máx.

1450, 1360, 1300, 1260, 1180, 1130, 1030, 980, 910 y 840 cm⁻¹. UV λ_{máx.} 334, 282 nm. RMN (90 Mc) δ 12,78 (1H, s), 7,87 y 7,02 (cada uno 2H, d, J = 9 Hz), 6,60 (1H, s), 6,56 (1H, s), 3,97, 3,92 y 3,89 (cada uno 3H, s).

3'-O-metil-eupatorina (5-hidroxi-6,7,3',4'-tetrametoxi-flavona)

(XII).—P.F. 192-194° (Lit. 190-191) (3). IR ν CHCl₃ 3000, 2970, máx.

2940, 2840, 1650, 1610, 1590, 1510, 1490, 1460, 1430, 1360, 1330, 1300, 1270, 1200, 1180, 1150, 1130, 1050, 1030, 1010, 990, 950, 850 y 820 cm⁻¹. RMN δ 12,73 (1H, s), 7,38 (1H, s), 7,54 y 7,00 (cada uno 1H, d, J = 9 Hz), 6,62 (1H, s), 6,53 (1H, s), 3,98 (6H, s) y 3,94 (3H, s).

Eupatorina (3',5-dihidroxi-6,7,4'-trimetoxi-flavona)

(XIII).—P.F. 189-191° (Lit. 196-198°) (3). IR ν CHCl₃ 3540, máx.

2940, 2840, 1650, 1610, 1590, 1510, 1490, 1460, 1440, 1370, 1330, 1290, 1270, 1130, 1040, 1030, 1010, 980, 960, 890 y 850 cm⁻¹. RMN (90 Mc) δ 12,70 (1H, s), 7,43 (1H, s), 7,38 y 6,90 (cada uno 1H, d, J = 9 Hz), 7,97 (6H, s) y 7,94 (3H, s).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al doctor A. Morales, Universidad de Mérida (Venezuela) el envío del material que se estudió y su interés en este trabajo y al doctor D. Billet (Museo de Historia Natural, París) el envío de los espectros del ácido hardwickiico.

BIBLIOGRAFIA

- HERZ, W. y SHARMA, R. P.; *Tetrahedron* **41**, 1025 (1976).
- TALAPATRA, S. R., BHAR, D. S. y TALAPATRA, B.; *Australian J. Chem.* **27**, 1137 (1974).
- KUPCHAN, S. M., SIGEL, W., KNOX, J. R. y UDAYAMURTHY, M. S.; *J. Org. Chem.* **34**, 1460 (1969).
- GONZALEZ, A. G., ARTEAGA, J. M., BRETON, J. L. y FRAGA, B. M.; *Phytochem.* **16**, 107 (1977).
- GONZALEZ, A. G., ARTEAGA, J. M., FRAGA, B. M. y HERNANDEZ, M. G.; *Experientia* **34**, 554 (1978).
- MISRA, R., PANDEY, R. C. y SUKH DEV.; *Tetrahedron Lett.* 3751 (1964).
- Ibid. 2681 (1968).
- FERGURSON, G., MARSH, W. C., McCRINDLE, R. y NATAMURA, E.; *Chem. Comm.* 299 (1975).
- NOZOE, S. y SUZUKI, K. T.; *Tetrahedron Lett.* 2457 (1969).
- Ibid. *Chem. Comm.* 527 (1971).
- BOHLMANN, F. y GREUZ, M.; *Chem. Ber.* **110**, 1321 (1977).
- BOLLENWEBER, E. y WASSUM, M.; *Tetrahedron Lett.* 797 (1972).
- ARENE, E. O., PETTIT, G. R. y ODE, R. H.; *Lloydia* **41**, 186 (1978) y referencias allí citadas.