

OTROS FLAVONOIDES EN LA RESINA DE VARIOS *EUCALYPTUS* ENFERMOS

Luis Fernando Echeverri L. (1)

Jairo Quijano T. (1)

Adolfo Ensuncho M. (2)

RESUMEN

De la resina de *Eucalyptus globulus*, *E. citriodora* y *E. pulverulentus*, se aislaron e identificaron dos dihidroflavonoles y una flavanona. Estos compuestos se encuentran exclusivamente en las resinas de las plantas afectadas por una enfermedad que disminuye considerablemente su desarrollo. Se discute desde un punto de vista quimiotaxonómico la presencia de tales sustancias, así como la posible función en la afección de las plantas.

INTRODUCCION

Continuando con los estudios relacionados con la composición y el posible papel de algunos metabolitos secundarios de algunos *Eucalyptus* enfermos (Echeverri et al., 1985), reportamos en el presente trabajo el aislamiento de una flavanona y de un dihidroflavonol, además del ya descrito 7-metoxiaromadendrin. Se discute el significado quimiotaxonómico de estos compuestos en relación con lo reportado anteriormente para el género *Eucalyptus* y su posible función en la planta.

MATERIALES Y METODOS

Las resinas de las plantas enfermas se recolectaron en la Ciudad Universitaria de la Universidad de Antioquia y los especímenes testigos se encuentran en el Herbario de esta Universidad (HUA): Madrigal 021, *Eucalyptus globulus*, Madrigal 022, *E. citriodora* y Madrigal 023, *E. pulverulentus*.

Se extrajeron 200 g de la resina pulverizada con 2 l de cloroformo caliente; este extracto se concentró a sequedad, produciendo 4 g de un sólido amarillo, al cual se le realizó una cromatografía en columna, empacada con 150 g de Si gel, eluyéndose con 300 ml de benceno puro, 800 ml de una mezcla de benceno-cloroformo (2:1, v/v), 1000 ml de benceno-cloroformo 1:1, 500 ml de cloroformo puro y 200 ml de acetato de etilo.

Se recolectaron fracciones de 50 ml, analizándose su contenido por cromatografía en capa fina sobre Si gel, en el siste-

ma benceno-acetato de etilo-acetona (7:1:1) y revelando las placas con vapores de yodo o con una solución al 10/o de FeCl₃, etanólico.

Las fracciones 2-5 producen, al evaporarlas al vacío, un aceite amarillo, el cual por ¹H RMN, correspondió a un ácido graso, del que no se profundizó más en cuanto a su estructura.

Las fracciones 9-18 producen 80 mg de un sólido blanco de punto de fusión 120° y R_f = 0.75, en el sistema descrito anteriormente, el cual se llamó *Compuesto A*.

Las fracciones 25-36 producen 200 mg de un sólido blanco, de punto de fusión 180° y R_f = 0.70, llamado *Compuesto B*.

Las fracciones 40-50 producen una mezcla de dos compuestos, uno de los cuales es el *Compuesto B*. Esta mezcla se separó por cromatografía preparativa sobre Si gel, de 1 mm de espesor, en el sistema ya descrito. De esta manera se obtienen 1.2 g de un sólido blanco de punto de fusión 169° y R_f = 0.65, llamado *Compuesto C*.

Las fracciones 52-54, producen 20 mg de un sólido blanco de R_f = 0.50, el cual, según el espectro de RMN, parece ser el flavonoide kaempferol, aunque no se tomó su espectro de masas.

Las resinas de las tres especies de *Eucalyptus* enfermos, poseen estos últimos cuatro compuestos, lo cual se com-

(1) Profesores, Depto. de Química, Univ. de Antioquia, Medellín, Colombia.

(2) Estudiante de Química, Univ. de Antioquia, Medellín, Colombia.

probó por cromatografía en capa fina en el sistema descrito y también en el sistema éter de petróleo-acetado de etilo (3:1).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los espectros se tomaron en los siguientes equipos: UV en un Pye Unicam, ^1H RMN en un Varian T60, desplazamiento en valores δ y s: singlete, d: doblete, m: multiplete; espectros de masas en un Finnigan 4000, impacto electrónico, 70 eV, m/e (intensidad relativa).

Los cuatro compuestos dan positiva la prueba de Shinoda, lo que indica un núcleo de flavonoide.

Compuesto A. UV_{MeOH}: 289, 329sh, + NaOAc: no cambia, + AlCl_3 : 310, 329, + NaOMe: 288, 327. ^1H RMN CDCl_3 : 12.60 (s), 1H, 7.35 (d, $J=8.0$ Hz), 2H, 6.90 (d, $J=8.0$ Hz), 2H, 6.20 (varias), 2H, 5.20 (dd, $J=5.0$ y 4.0 Hz), 1H, 3.80 (s), 3H, 2.90 (compleja), 2H. Espectro de masas: 286 (M^+ , 70%), 285 (60), 193 (35), 180 (30), 167 (98), 166 (40), 120 (53), 107 (20), 28 (100).

El espectro de RMN indica la presencia de una flavanona, por las señales a 2.90 y 5.20, que corresponden a los protones C-3 y C-2, y un OH fenólico formando puente de hidrógeno a 12.60. Se aprecia igualmente un sistema tipo AB sobre el anillo B, por las señales a 7.35 y 6.90 y dos protones con acoplamiento meta en 6.20, para las posiciones C-6 y C-8 (Mabry et al., 1970).

La ausencia de desplazamiento en UV con la adición de NaOAc, indica sustitución en C-7, con un grupo $-\text{OCH}_3$, lo cual se corrobora en el espectro de masas por las señales a m/e 166 y 167, de fragmentos que incluyen el anillo A, el oxígeno de la posición 1 y el grupo carbonilo; la señal a 120 incluye todo el anillo B y los carbonos C-2 y C-3. Los datos espectroscópicos anteriores corresponden a la flavanona *sakuranetin*.

Compuesto B. Esta sustancia resultó ser el dihidroflavonol 7-metoxiaromadendrin, cuyas características espectroscópicas y elucidación estructural se reportaron anteriormente (Echeverri et al., 1985).

Compuesto C. UV_{MeOH}: 243, 281, + AlCl_3 : 270. ^1H RMN acetona d_6 : 11.65 (s), 1H, 8.40 (s), 1H, 7.45 (d, $J=8.0$ Hz), 2H, 7.00 (d, $J=8.0$ Hz), 2H, 6.20 (d, $J=1.5$ Hz), 1H, 6.10 (d, $J=1.5$ Hz), 1H, 5.00 y 4.80 (dobletes, $J=10.0$ y 8.0 Hz), 1H, 3.80 (s), 3H. Espectro de masas: 302 (M^+ , 40%), 288 (60), 273 (60), 270 (15), 259 (100), 166 (60), 153 (95), 136 (40), 134 (98), 107 (20).

El espectro de RMN de este compuesto es similar al del compuesto B, sólo que las señales a 5.00 y 4.80 son mucho más definidas, pues allí se aprecia claramente dos dobletes; además los compuestos B y C difieren en sus puntos de fusión y R_f . Ello hace pensar que ambas sustancias son isómeros posicionales, isomería que se comprueba en el espectro de masas, ya que tienen el mismo peso molecular de 302. Sin embargo, se nota una señal diferente e importante de un fragmento de peso 259, que corresponde a la pérdida de un grupo $-\text{COCH}_3$ por el ión molecular; este fragmento es típico de flavonoides sustituidos en la posición C-3 (Mabry et al., 1970). La señal a 153 indica que no hay sustitución en el anillo A y la señal 136 que tampoco existe sustitución en el anillo B, por lo cual el grupo $-\text{OCH}_3$ necesariamente debe situarse en C-3 y el flavonoide corresponde a 3-metoxiaromadendrin, no reportado anteriormente en la literatura (Wollenweber y Dietz, 1981). La estructura de los compuestos aislados e identificados se muestran en la figura 1.

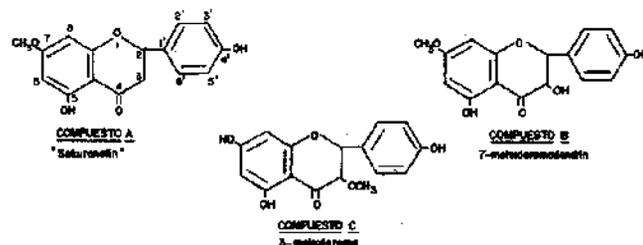


Fig. 1 Estructura de los flavonoides aislados de la resina de *Eucalyptus globulus*, *E. citriodora* y *E. pulverulentus* enfermos.

Los flavonoides han sido particularmente útiles en la bioquímica sistemática, por presentar más ventajas sobre otros metabolitos secundarios (Harborne, 1975). Los flavonoides del género *Eucalyptus* son flavonoles, flavanonas, dihidroflavonoles y proantocianidinas; generalmente sus glicósidos poseen el azúcar a nivel de C-3 (Abd-Alla et al., 1980).

Típico de la familia es la presencia de los flavonoides C-metilados, eucalyptin y 8-demetileucalyptin (Courtney et al., 1983), aunque estos metabolitos C-metilados se han encontrado en otras familias, tales como Ericaceae, Polypodiaceae (Pteridofita), Pinaceae (Gimnosperma) y Didieraceae. En relación con este último aspecto, se ha podido postular que la sustitución en C-8 por un grupo metilo es típica de plantas poco evolucionadas, ya que la sustitución en este carbono es más fácil que en el carbono 6 (Harborne, 1977).

El estudio del contenido de flavonoides sirvió además para determinar la procedencia de algunos *Eucalyptus camaldulensis* originarios de Australia, al encontrarse diferencias en el contenido de flavonoides de los *Eucalyptus* originarios del sur de Australia en relación a los del norte australiano (Abd-Alla et al., 1980). Otro ejemplo de "razas químicas"

basadas en flavonoides, es el caso de *Eucalyptus sideroxy-lon* (Harborne, 1975).

Una revisión de los flavonoides libres que se han reportado en la familia, indica el predominio de los ya mencionados flavonoides C-metilados y en menor grado, dihidroflavonoles y flavanonas y ausencia de chalconas y flavonas (Wollenweber y Dietz, 1981); estos flavonoides libres se encuentran preferiblemente en secreciones resinosas o en la cera de las hojas.

Los dihidroflavonoles (de los cuales se aislaron dos en este trabajo), son típicos de plantas leñosas y poco evolucionadas, debido a que se originan en las primeras etapas de la biosíntesis de los flavonoides (Harborne, 1977), pero la presencia de flavanonas sitúa a la familia en un nivel un poco más evolucionado.

Es de anotar así mismo, la tendencia de los tres compuestos aislados a presentar sustitución a nivel de C-4', lo cual pue-

de ser de importancia quimiotaxonómica para diferenciar los géneros *Angophora* y *Eucalyptus*, que están íntimamente relacionados.

Se ha atribuido a los flavonoides funciones protectoras en las maderas (Mabry y Ulubelen, 1980) específicamente fungicidas; en el caso de las resinas y su alto contenido de flavonoides, esta posibilidad es mucho más factible, puesto que la resina se difunde sobre una gran superficie del tronco. Otra flavona, zeatin, protege de una manera efectiva al maíz, contra el insecto fitófago *Heliothis zea* (Elliger et al., 1980).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Comité Central de Investigaciones de la Universidad de Antioquia y a COLCIENCIAS, la financiación de este trabajo y al Dr. J. J. Castaño (COLTABACO, Medellín), la toma de los espectros de masas.

LITERATURA CITADA

- Abd-Alla, M., S. El-Negoumy, M.E. Lakani y N.A. Saleh. 1980. Flavonoid glycoside and the chemosystematics of *Eucalyptus camaldulensis*. *Phytochem.* 19: 2629.
- Courtney, J. L., E. V. Lassak y G. B. Speirs. 1983. Leaf wax constituents of some Myrtaceous species. *Phytochem.* 22:947.
- Echeverri, F., J. Quijano, C. Uribe y R. Montoya. 1985. Estructura de un metabolito de stress de *Eucalyptus globulus*, *E. citriodora* y *E. pulverulentus*. *Actualidades Biológicas*. Vol. 14, No. 51.
- Elliger, C. et al. 1980. C-glycosylflavones from *Zea mays* that inhibit insect development. *Phytochem.* 19:293.
- Harborne, J. B. 1975. En "The Flavonoids", (Harborne, J. B., T. J. Mabry y H. Mabry eds.), pg 1054-1093. Chapman & Hall, London.
- Harborne, J. B. 1977. Flavonoids and the evolution of the Angiosperms. *Biochem. Syst. Ecol.*, 5:7.
- Mabry, T. J., K. R. Markham y M. B. Thomas. 1970. *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer-Verlag, New York.
- Mabry, T. J. y A. Ulubelen. 1980. Chemistry and utilization of phenylpropanoids including flavonoids, coumarins and lignans. *J. Agric. Food Chem.* 28: 188.
- Wollenweber, W. y V. Dietz. 1981. Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones in plants. *Phytochem.* 20:869.

OTHER FLAVONOIDS IN THE DISEASED *EUCALYPTUS* RESINS

ABSTRACT

Two dihydroflavonols and one flavanone were isolated and identified from the resin of Eucalyptus globulus, E. citriodora and E. tereticornis; all them were found only in diseased plants. Here we discuss their possible function and the chemotaxonomy of the genus and family with respect to their flavonoids.