



Compuestos fenólicos presentes en las hojas de la especie colombiana *Polygonum segetum* Kunth

[Fenolic compounds in the leaves of *Polygonum segetum* Kunth]

Andrea C. MORALES SANTAMARIA y Antonio J. GUZMAN AVENDAÑO.

Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá Colombia.
Grupo de Investigación en Productos Naturales Vegetales.
E-mail: carito3249@gmail.com , ajguzmana@udistrital.edu.co

Abstract

The flavonoids 5-hydroxy-7,8,4'-trimethoxy isoflavone and 5,3',4'-trihydroxy-7-methoxyflavanon , the tannin derivate Ethyl gallate and lignang homoeogonol 5-(3''-Hydroxypropyl)-7-methoxy-2-(3',4'-dimethoxyphenyl)benzofuran were isolated and purified from *Polygonum segetum* Kunth leaves using column chromatography and thin layer chromatography methods. These substances were identified on the basis of their physical properties (melting point and Rf value), qualitative chemical reactions and spectroscopic techniques UV and NMR (experiments ¹H, ¹³C, ¹H-¹H COSY, HMQC) and spectrometric techniques GC-MS according to their complexity.

Keywords: *Polygonum Segetum* Kunth; fenolic compounds; flavonoids; lignan; tannins

Resumen

El presente estudio se encaminó a determinar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de la especie vegetal: *Polygonum segetum* Kunth, colectada del humedal Juan Amarillo (Bogotá-Colombia). Como resultado se aislaron e identificaron a partir de propiedades físicas y técnicas espectroscópicas de UV, ¹HRMN, COSY, DEPT 135, HMQC y APT, la 5-hidróxi-7,8,4'-trimétoxi isoflavona, el galato de etilo (derivado de taninos) y la 5,3',4'-trihidróxi-7-metóxi flavanona. Además, por análisis GC-MS se identificó el lignano 5-(3,4-dimetóxi-fenil)-7-metóxi-benzofuranpropanol homoeogonol.

Palabras Clave: *Polygonum Segetum* Kunth; compuestos fenólicos; flavonoides; lignanos; taninos.

Recibido | Received: September 16, 2009.

Aceptado en Versión Corregida | Accepted in Corrected Version: July 6, 2010.

Publicado en Línea | Published Online 31 July 2010

Declaración de intereses | Declaration of interests: authors have no competing interests.

Financiación | Funding: Centro de Investigaciones y Desarrollo Científico de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas.

This article must be cited as: Andrea C. Morales Santamaría y Antonio J. Guzmán Avendaño 2010. Compuestos fenólicos presentes en las hojas de la especie colombiana *Polygonum segetum* Kunth Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat 9 (4 o 5):xx – xx. {EPub XX Month 2010}.

*Contactos | Contacts: carito3249@gmail.com, ajguzmana@udistrital.edu.co

INTRODUCCION

Diversos estudios han demostrado el potencial existente en especies pertenecientes a ecosistemas de humedales como fuentes de metabolitos secundarios de interés farmacológico. La especie *Polygonum segetum* Kunth, conocida popularmente como “gualola” o “barbasco rosado”, es considerada una planta invasora y crece en los humedales o en ecosistemas de características similares (García Barriga, 1992). Crea ambientes apropiados para el desarrollo de la vida acuática (Bruneton, 2001). Se le ha usado por las personas de la ciudad de Manizales en forma empírica, para el tratamiento de la *DM II* (Gutiérrez, 2002), es preconiza en las diarreas, catarros crónicos y hemorragias internas, cura la sarna en los perros y sirve de insecticida. (García Barriga, 1992).

Esta especie se encuentra dentro del género de las *Polygonum*, familia de las Polygonaceae cuyos estudios fitoquímicos han mostrado una gran variedad de metabolitos secundarios (Derita *et al.*, 2008).

Contribuyendo al estudio fitoquímico de la especie vegetal *Polygonum segetum* Kunth se investigaron los metabolitos secundarios presentes en las hojas, mediante la aplicación de técnicas de extracción purificación y determinación estructural de los compuestos aislados.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó en cuatro etapas: obtención de extractos y fracciones de diferentes polaridades, caracterización de los principales grupos de metabolitos secundarios, purificación a través de técnicas cromatográficas y elucidación estructural por medio de características físicoquímicas y por métodos espectroscópicos.

La especie se colectó en la ribera del espejo de agua del humedal Juan Amarillo (Bogotá, Colombia), una muestra testigo fue enviada al Herbario Nacional Colombiano del Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, identificándose como *Polygonum segetum* Kunth (ver figura 1), N° de colección 521528.

760g de hojas secas y molidas de *Polygonum segetum* Kunth fueron sometidas a maceración en frío con etanol hasta agotamiento del material vegetal concentrando a presión reducida en Büchi-R-505. Los extractos obtenidos se fraccionaron empleando solventes de polaridad creciente. La purificación de las sustancias se realizó por columna cromatográfica utilizando como fase estacionaria Silica Gel 60 y 60H, con monitoreo mediante cromatografía en capa fina.

Figura 1. Especie Vegetal *Polygonum segetum* Kunth

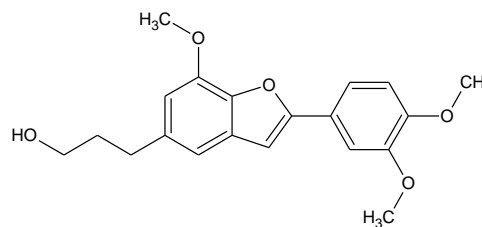


Para la identificación estructural se emplearon métodos Espectroscópicos como: Ultra violeta (UV), equipo Perkin Elmer Lambda 10, Resonancia Magnética Nuclear de hidrógeno ($^1\text{HRMN}$) y carbono 13 ($^{13}\text{CRMN}$) en una y dos dimensiones, equipo Bruker, 400MHz; de igual manera se empleó Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), equipo Agilent 6890 N-HP-5973, con una columna HP-1MS Aligent 30m, en un tiempo de corrida de 30 min, con temperatura de inyector de 50°C, temperatura inicial de columna de 30°C y rampa de 10°C/1min - hasta 400°C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto de alta densidad (etanol) se fraccionó con solventes de polaridad creciente; de la fracción acetato de etilo se obtuvo un sólido marrón el cual se analizó por CG-EM, presentando una serie de señales cuyos valores más representativos son: m/z 344 (M^+), m/z 298 (100%), m/z 244, y m/z 149, luego de ser comparado con la base de datos del equipo, Wiley 7.0 arrojó una coincidencia del 94% que corresponde al compuesto de tipo lignano 5-(3,4-dimetóxilfenil)-7-metóxibenzofuranpropanol (homoeogonol) (ver figura 2), el cual aunque no es un compuesto fenólico se incluye por su importancia farmacológica (Pauletti y Araújo, 2000). Los resultados obtenidos en el análisis por CG-EM son similares a los reportados en otras investigaciones. (Teles *et al.*, 2005)

Figura 2. Homoeogonol.



El extracto diclorometano se fraccionó con solventes de polaridad creciente; de la fracción acetato de etilo se

aislaron y purificaron tres sustancias denominadas DDa03, DDa04 y DDa05.

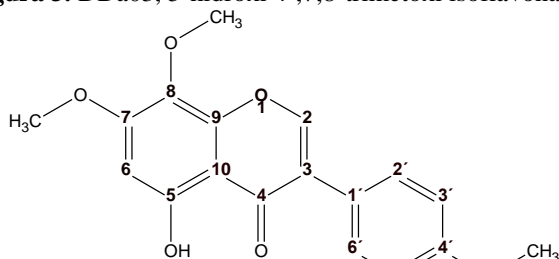
DDa03, (40mg), sólido amarillo, cristalizado en acetona, MP: 172 - 174 °C, soluble en acetona, acetato de etilo y metanol, Rf 0,55 (Si Gel, acetato de etilo-tolueno 7:3), prueba positiva de Shinoda. UV/Vis λ_{max} (MeOH) nm (log ϵ): 276,41 (4,84) 220,25 (5, 21) + NaOMe 310,96 (4,69) 215,88 (5,26) + NaOAc 272,89 (5,29) 228,04 (5,33) + NaOAc/H₃BO₃ 280,28 (5,00) 226,76 (5,32) + H₃BO₃ 290,11 (5,23) 230,14 (5,30) + AlCl₃ 310,66 (4,87) 222,07 (5,14) + AlCl₃/HCl 312,52 (4,90) 224,50 (5,07); ¹HRMN (400 MHz, MeOD) 4'-OCH₃ 3,85 (3H,s), 8-OCH₃ 3,95 (3H,s), 7-OCH₃ 3,97(3H,s), H-6 6,59 (1H,s), H-3' 6,97 (2H,d, *J* = 8,83 Hz), H-5' 7,00 (2H,d, *J* = 8,83 Hz), H-2' 7,50 (2H,d, *J* = 8,82 Hz), H-6' (2H,d, *J* = 8,82 Hz), H-2 8,14 (1H,s), 5-OH 11,94 (1H,s). Los datos obtenidos en los espectros de hidrógeno se asemejan a los hallados para estructuras similares. (Marques *et al.*, 1998)

En el análisis por espectroscopia UV/Vis utilizando los reactivos de desplazamiento usuales (Mabry *et al.*, 1970), se descarta con metóxido de sodio la presencia de OH en C-3 y C-4', con AlCl₃ hay un desplazamiento batocrómico 34,25nm en la banda II y con AlCl₃ / HCl no hay desplazamiento en las bandas, por lo que la formación estable del complejo indica la presencia de OH en C-5.

¹H RMN muestra en δ 7,55 y δ 6,97 un doble de dobles perteneciente al anillo B, con constante de acoplamiento de 8,82 Hz y 8,83 Hz, respectivamente. Permitiendo confirmar que en C-2', C-3', C'-5' y C-6' no existe sustitución, en consecuencia el O-CH₃ se encuentra en posición C-4'.

COSY confirma la correlación perteneciente a las señales δ 7,55 - 7,50 (2H,d, *J* = 8,83 Hz) y δ 7,0 - 6,98 (2H,d, *J* = 8,84 Hz) que corresponden a hidrógenos unidos al anillo B. En la figura 3 se observa la estructura de la sustancia DDa 03.

Figura 3. DDa03, 5-hidróxi 4',7,8-trimetóxi isoflavona



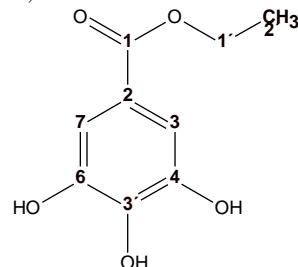
DDa04, (352mg), sólido amarillo, cristalizado en acetona, MP: 56-158 °C, soluble en acetona y metanol, Rf 0,44 (Si Gel, acetato de etilo-tolueno 7:3), prueba positiva de

hidroxámato férrico y cloruro férrico. ¹H RMN (400 MHz, MeOD₄, TMS referencia interna) δ (integración, multiplicidad) H-2' 1,38 (3H, t), H-1' 4,29 (2H, c), H-3 y H-7 7,04 (2H, s), 4-OH, 5-OH y 6-OH 8,546 (1H,s); ¹³C RMN DEPT-135° (100 MHz, MeOD, TMS referencia interna) fase positiva δ : C-2' 13,26 (CH₃), C-3 y C-7 108,58 (CH). Fase negativa C-1' 60,30 (CH₂). Los resultados obtenidos en los espectros de carbono e hidrógeno se asemejan a los encontrados en otras investigaciones. (Jiang *et al.*, 2009)

COSY, muestra la correlación perteneciente a las señales δ 4,29 y δ 1,38 que corresponden a los hidrógenos del C-1' y C-2' respectivamente y explica la multiplicidad de las señales.

HMQC muestra que a δ 7,04 de hidrógeno, se correlaciona con la señal δ 108,58 (C-3 C-7), ratificando la presencia de dos protones aromáticos en la estructura. De acuerdo con los resultados obtenidos la estructura del compuesto aislado (figura 4), corresponde al galato de etilo que es un derivado del ácido gálico.

Figura 4. DDa04, Galato de etilo



DDa05, (220mg), sólido amarillo, cristalizado en acetona, MP: 284-286 °C, soluble en acetato de etilo y acetona, Rf 0,64 (Si Gel, acetato de etilo-metanol 30:70), prueba positiva para Shinoda. UV/Vis λ_{max} (MeOH) nm (log ϵ): 347,77 (4,00) 271,02 (4,33) + NaOMe 395,90 (4,13) 260,01 (4,60) + NaOAc 347,77 (4,00) 274,82 (4,35) + NaOAc/H₃BO₃ 394,93 (4,77) 276,09 (4,44) + H₃BO₃ 394,93 (4,77) 275,62 (4,43) + AlCl₃ 377,55 (4,00) 279,10 (4,38) + AlCl₃/HCl 383,81 (4,36) 279,11 (4,39); ¹H RMN (400 MHz, acetona-*d*₆): H-3 2,78-2,71 (1H, dd, *J* = 3,08 Hz), H-3 3,22-3,12 (1H, dd, *J* = 12,67 Hz), 7-OCH₃ 3,84 (3H,s), H-2 5,44-5,393 (1H, dd, *J* = 3,00 Hz), H-6 6,02 (2H, dd, *J* = 2,28 Hz), H-8 6,05(2-H, dd, *J* = 2,28 Hz) H-6' 6,86 (2H,s, *J* = 8,62 Hz), H-5' 6,87 (2H,s, *J* = 8,62 Hz), H-2' 7,03 (1H,s), 5-OH 12,133 (1H,s). ¹³C RMN ATP (100 MHz, acetona-*d*₆, TMS referencia interna), fase positiva δ : C-3 44,54 (CH₂), C-10 105,44 (C), C-1' 132,34 (C), C-3' 147,07(C), C-4' 147,47 (C), C-9 163,93 (C), C-5 165,15 (C), C-7 168,63 (C), C-4 198,56 (C=O); fase negativa δ : 57,23 (CH₃-O), C-2 81,64 (CH), C-8 95,54 (CH), C-6 96,40 (CH), C-2' 115,68 (CH), C-5' 116,97

(CH), C-6' 120,18 (CH). Los resultados obtenidos en los espectros de hidrogeno y carbono son similares a los encontrados en otros estudios. (Morales *et al.*, 2009)

En el análisis por espectroscopia UV/Vis utilizando los reactivos de desplazamiento usuales (Mabry, 1970), se observa que al adicionar AlCl_3 hay un desplazamiento batocrómico en la banda II y con $\text{AlCl}_3 / \text{HCl}$ el desplazamiento se mantiene, lo que indica la presencia de OH en C-5.

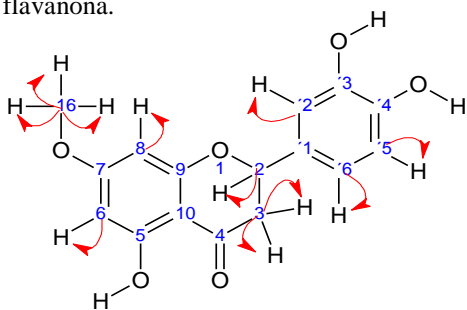
COSY, verifico la ausencia del doble enlace entre C-2 y C-3 por la correlación existente entre las señales de sus hidrógenos δ 5,44-5,39 (C-2) con δ 3,22-3,12 (C-3), con constantes de acoplamiento de 3,00 y 12,67 Hz respectivamente.

El experimento APT revelo la presencia de 16 carbonos de los cuales se muestra en fase positiva la presencia de un carbono SP^3 secundario (C-3) δ 44,543 y ocho carbonos cuaternarios distribuidos entre la región δ 198,56 a δ 105,97; en fase negativa se encuentran las señales de un carbono primario con hibridación Sp^3 (C-16) δ 57,232 y seis carbonos con hibridación Sp^2 aromáticos, entre δ 120,185 a δ 81,648.

En el experimento HMQC (figura 5), se observaron las correlaciones existentes entre las señales δ 3,22-3,12 y δ 2,78-2,71 con C-3 (δ 44,54); también se muestra la correlación entre la señal δ 3,84 de hidrógeno con C-16 (δ 57,23), que confirma la presencia de un metóxilo en el anillo A.

A partir del análisis espectroscópico se puede concluir que la estructura para la sustancia DDa 05 corresponde a la 5-hidróxi-7- metóxi- 3',4'-dihidróxi flavanona.

Figura 5. Correlaciones HMQC de 5,3',4'-tihidróxi-7-metóxi flavanona.



Finalmente, según estudios anteriores dentro de las aplicaciones biológicas de los compuestos hallados se mencionan las siguientes: el galato de etilo presenta actividad antimicrobiana y se ha utilizado como inhibidor de *Mycobacterium tuberculosis* (Johnstone, 1953); el

Homoegonol presenta actividad antifúngica y antibacteriana (Pauletti y Araújo, 2000), además la presencia de flavonoides indica algún tipo de propiedad antioxidante gracias a su estructura.

CONCLUSIONES

Por medio de la caracterización de las propiedades físicas, químicas y el empleo de las técnicas espectroscópicas de UV, CG-EM y RMN uni y bidimensional, se determinó que los compuestos aislados de los extractos líquido-líquido de alta densidad diclorometano fracción acetato de etilo son la flavona 5-hidróxi-7,8,4'-trimetóxi isoflavona, el galato de etilo y la 5,3',4'-trihidróxi-7-metóxi flavanona. Estos metabolitos se reportan por primera vez para el género *Polygonum*.

De la fracción acetato de etilo del extracto líquido-líquido de alta densidad etanol se identifico por análisis CG-EM m/z el 5-benzofuranpropanol, 2-(3,4-dimetoxifenil)-7-metoxi con un porcentaje de coincidencia del 94%.

Actualmente se adelantan los estudios de actividad biológica para los extractos de las hojas de *Polygonum segetum* Kunth, que complementaran los resultados obtenidos en la presente investigación y de esta manera evaluar su potencial farmacológico.

Los resultados obtenidos en esta investigación contribuyen al estudio fitoquímico de la especie *Polygonum segetum* Kunth, constituyéndose como un antecedente para estudios posteriores.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, lugar donde se llevo a cabo el presente estudio.

REFERENCIAS

- Bruneton J 2001. Plantas toxicas. Vegetales peligrosos para el hombre y los animales. Editorial Acribia S.A., Zaragoza, pp. 385
- Derita M, Gattuso S, Zacchino S 2007 Occurrence of polygodial in species of *Polygonum* genus belonging to Persicaria section. *Biochem Syst Ecol.* 36: 55 – 58.
- García Barriga H. 1992. Flora medicinal de Colombia. Botánica médica. Tomo I. Tercer Mundo Editores. Bogotá. Pp 284 – 286.
- Gutierrez F. 2002. Efectos del *Polygonum segetum* sobre la glicemia en ratones normales y con diabetes experimental. *Biosalud* 1: 4 – 9.
- Jiang L, He S, Pan J, Sun C. 2009. Bioassay-guided isolation and EPR-assisted antioxidant evaluation of two

- valuable compounds from mango peels. *Food Chem.* 119: 1285 – 1292.
- Johnstone D. 1953. Bacteriostatic, bactericidal and drug resistance studies of ethyl gallate on mycobacterium tuberculosis. *J Bacteriol.* 66: 320 – 323.
- Mabry T, Markham K, Thomas M. 1970. The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag, Berlin.
- Marques D, Lacerda M, De Carvalho M, Meleira I, Braz-Filho R. 1998. Isoflavonoids and triterpenoids isolated from *Pterodon polygalloeflorus*. *J Braz Chem Soc.* 9: 295 – 301.
- Morales G, Paredes A, Sierra P, Loyola L. 2009. Cytotoxicity scavenging and lipid peroxidation-inhibiting activities of 5,3',4'-trihydroxy-7-methoxyflavanone isolated from *Haplopappus rigidus*. *J. Chil. Chem. Soc.* 54: 105 – 107.
- Pauletti P, Araújo A. 2000. Nor-lignans from the leaves of *Styrax ferrugineus* (Styracaceae) with antibacterial and antifungal activity. *Phytochemistry* 55: 597 – 601.
- Teles H, Hemerly J, Pauletti P, Pandolfi J, Araújo A, Valentini S, Young C, Bolzani V, Silva D. 2005. Cytotoxic lignans from the stems of *Styrax camporum* (Styracaceae). *Nat. Prod. Res.* 19: 319 – 323.
-