

# Componentes químicos del *Pyxine rhodesiaca* Vain ex Lynge

*Diolimar Buitrago y Antonio Morales*

*Instituto de Investigaciones. Facultad de Farmacia. Universidad de Los Andes.  
Mérida-Venezuela*

Recibido: 20-06-00 Aceptado: 06-11-01

## Resumen

*Pyxine rhodesiaca* Vain ex Lynge, fue extraído con éter de petróleo y acetona. Del extracto de éter de petróleo, se obtuvo por cristalización fraccionada un compuesto triterpénico tetracíclico diacetylpyxinol. Del extracto acetónico también por cristalización fraccionada se obtuvo el dépsido atranorina. La cromatografía en columna al vacío del residuo dio triterpeno pentacíclico metilpyxinato.

**Palabras clave:** Dépsidos; líquen; *Pyxine*; triterpenos.

# Chemical components of *pyxine rhodesiaca* Vain ex Lynge

## Abstract

*Pyxine rhodesiaca* Vain ex Lynge was extracted with light petroleum and acetone. From the light petroleum extract, tetracyclic triterpene diacetylpyxinol was obtained by fractional crystallization. The acetonetic extract afforded, also by fractional crystallization, atranorine depside. Vacuum column chromatography of the residues yields pentacyclic triterpene methyl pyxinate.

**Key words:** Depsides; lichen; *Pyxine*; triterpenes.

## Introducción

El género *Pyxine*, pertenece a la familia Pyxinaceae (Fr.) Stiz., del orden Lecanorales (1). Se distribuye preferentemente en las regiones tropicales y subtropicales. En Venezuela se conocen quince especies que se encuentran localizadas en la parte occidental, excepto el *Pyxine subcinerea* Stirt., que se localiza en Lara y Falcón (2,3). Las especies del género *Pyxine* se caracterizan por contener sustancias de naturaleza triterpénica, específicamente de la serie del dammarano y hopano (Figura 1), buena parte de liquexan-

tonas, dépsidos y/o sustancias relacionadas (4, 5, 6). Estudios de compuestos biosintéticamente similares aislados en plantas superiores tales como los derivados glucosilados del dammarano (Figura 2), han mostrado actividad antiviral contra el herpes simplex virus I (7).

Con el propósito de seguir analizando fitoquímicamente las especies de la familia Pyxinaceae (Fr.) Stiz., de los Andes Venezolanos (6, 8), presentamos en este trabajo el estudio de los componentes químicos del *Pyxine rhodesiaca* Vain ex Lynge.

\* Autor para la correspondencia.

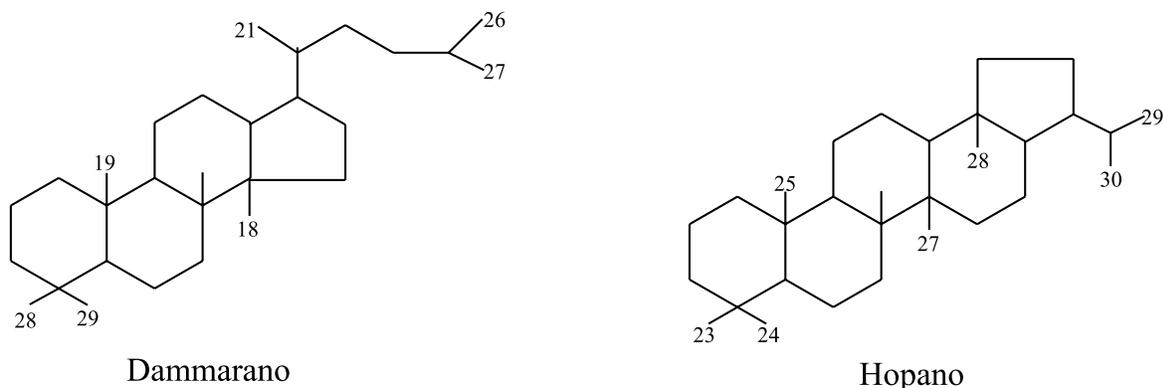


Figura 1. Esqueletos triterpénicos del dammarano y del hopano.

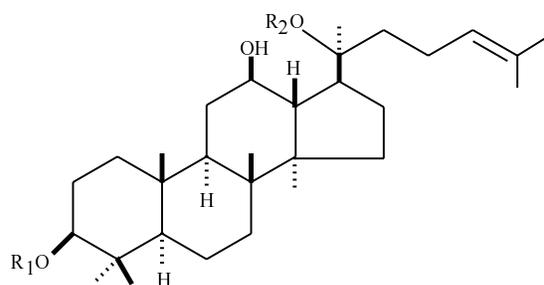
### Materiales y Métodos

Los espectros de RMN,  $H^1$  y  $C^{13}$  se realizaron en los espectrómetros de marca Varian y Brücker a 400 MHz, usando los solventes  $CDCl_3$ ,  $C_5D_5N$  y  $DMSO-d_6$  y como referencia interna TMS. Los espectros de IR se efectuaron en un espectrofotómetro FT, Perkin-Elmer, modelo 1720, en pastillas de KBr. Los espectros de masas fueron tomados en un espectrómetro Hewlett Packard. Los puntos de fusión se determinaron sin corregir, en un aparato Fischer-Johns. La rotación óptica se determinó en un polarímetro digital (Jasco, modelo DIP-370).

El eluyente usado para los análisis de cromatografía de capa fina correspondió a la mezcla de tolueno, acetato de etilo y ácido fórmico (139:83:8) (10) y las placas fueron reveladas con ácido sulfúrico al 10%. En la cromatografía por columna al vacío, se empleó como fase estacionaria la sílica gel S y la sílica gel TLC en proporción 2:4 respectivamente. La fase móvil consistió en diversas mezclas de solventes a diferentes proporciones en un orden creciente de polaridad constituida por éter de petróleo, diclorometano y metanol.

### Resultados y Discusión

Del extracto de éter de petróleo se separó por cristalización fraccionada un compuesto 1, que en el espectro de masas presentó un ion molecular a 560 m/e, que co-



	$R_1$	$R_2$
Ginsenosido - Rb1	$-\beta\text{-glc}_2\text{-}\beta\text{-glc}$	$-\beta\text{-glc}_6\text{-}\beta\text{-glc}$
Chikusetsu-saponina III	$-\beta\text{-glc}_2\text{-}\beta\text{-glc}$ $\beta\text{-xyl}_6$	H

Figura 2. Derivados glucosilados del dammarano con actividad contra el virus de herpes simplex.

responde a la fórmula molecular  $C_{34}H_{56}O_6$ , de un triterpeno tetracyclico con grupos oxigenados algunos de ellos sustituidos, tal como lo señalan los espectros de IR, RMN- $^1H$  y RMN- $^{13}C$ . Hidrólisis alcalina de 1, proporcionó el compuesto 2 (Figura 3) de fórmula molecular  $C_{30}H_{50}O_4$  identificado como el pyxinol, lo que indica que el compuesto original es diacetilado. Al comparar

las propiedades espectroscópicas y las constantes físicas de 1 y 2 con los datos publicados en la literatura (8), se comprueba que el compuesto 1 (Figura 3) es el diacetilpyxinol.

En el extracto acetónico se aisló por cristalización fraccionada, al compuesto 3 cuyo ion molecular determinado por espectrometría de masas es 374 m/e, de fórmula molecular  $C_{19}H_{18}O_8$ . El análisis de sus propiedades espectroscópicas y la comparación de sus constantes físicas con los compuestos reportados en la literatura (9) se le identifica como la atranorina (Figura 3), el cual es un dépsido muy común en los líquenes.

La masa viscosa, obtenida de la unificación de los líquidos sobrenadantes de los extractos de éter de petróleo y acetona, fue sometida a una cromatografía en columna al vacío. De las fracciones eluidas con éter de petróleo/diclorometano (60:40) y (50:50), se aisló el compuesto 4 que presentó en su espectro de masa un ion molecular 488

m/e, para una fórmula molecular  $C_{31}H_{52}O_4$ . Su espectro IR muestra una banda de absorción a  $3507\text{ cm}^{-1}$  (OH) y otra banda intensa a  $1725\text{ cm}^{-1}$  propia de grupos ésteres. En el espectro de RMN- $^1\text{H}$  aparece un singulete a  $\delta 3,82$  para los protones de un metoxilo; un triplete centrado a  $\delta 3,45$  correspondiente a un protón que se encuentra en posición axial unido a un carbono que tiene una función oxigenada y además posee una señal cuartete centrada a  $\delta 2,85$  para un protón del carbono terciario de un anillo pentacíclico que tiene una función isopropílica hidroximetoxicarboxilada. La señal a  $\delta 1,48$  es para tres protones del metilo del agrupamiento isopropílico hidroximetoxicarboxilado y seis singuletes adicionales a:  $\delta 1,24$ ,  $\delta 1,07$ ,  $\delta 1,04$ ,  $\delta 0,97$ ,  $\delta 0,93$  y  $\delta 0,87$  correspondientes a los protones de seis grupos metilos.

En el espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  aparecen treinta y una señales. La señal que aparece a 178,94 ppm, se atribuye al carbonilo de un

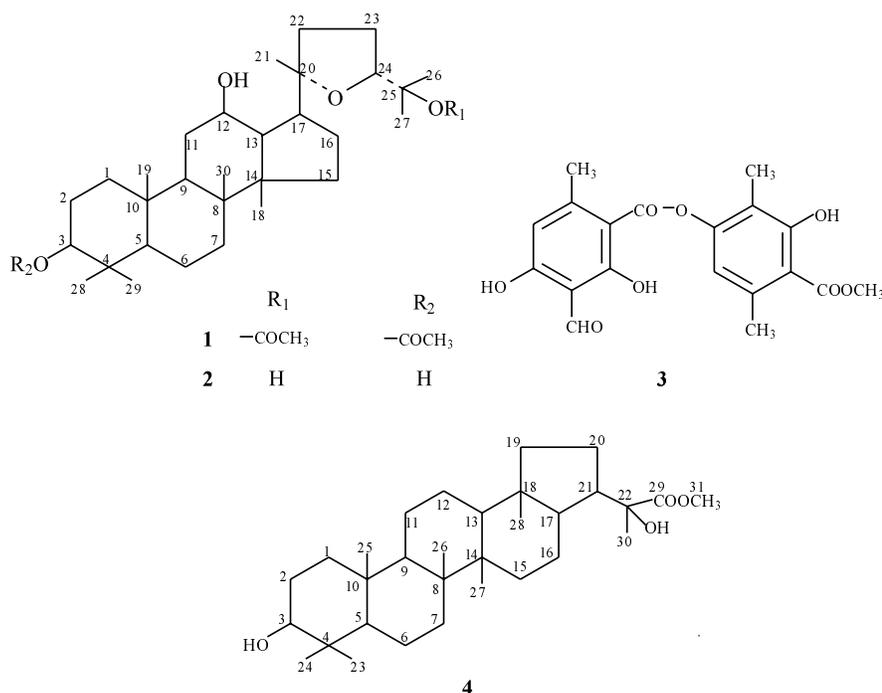


Figura 3. (1) Diacetilpyxinol. (2) Pyxinol. (3) Atranorina. (4) Metilpyxinato.

grupo éster; la señal a 78,17 ppm para un carbono de un grupo alcohólico secundario y otra a 75,66 ppm es asignable al carbono que soporta un grupo alcohólico terciario que forma parte del agrupamiento isopropílico hidroxicarboxilado, que por la presencia de una señal a 52,06 ppm (-OCH<sub>3</sub>), nos sugiere que el grupo carboxílico está metoxilado. Los datos anteriores fueron corroborados por los análisis de RMN bidimensional (HMQC y HMBC).

Por otra parte, la presencia en el espectro de masas de 4 de un fragmento a m/e 385 indica la pérdida de un radical C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>, que confirma la presencia del agrupamiento hidroximetoxicarboxilado. Análisis de las propiedades espectroscópicas y comparación de las constantes físicas con las de la literatura (6) identifican al compuesto 4 (Figura 3) como el metilpyxinato.

### Parte experimental

El *Pyxine rhodesiaca* Vain ex Lynge, fue recolectado en la Finca "Los Topes" (altura ≈ 1300 m.s.n.m), Chiguará, Distrito Sure del Estado Mérida; un voucher se conserva en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Los Andes.

### Extracción

*P. rhodesiaca* Vain ex Lynge, después de separar los materiales extraños, se secó al aire y fue pulverizado (1 Kg). Luego se extrajo en un soxhlet hasta agotamiento, primero con éter de petróleo y posteriormente con acetona.

### Aislamiento y purificación

Del extracto de éter de petróleo se obtuvo por cristalización fraccionada el **Diacetilpyxinol (1)**: Sólido blanco, cristalizado de metanol; p.f. 240-241°C; [α]<sup>20</sup><sub>D</sub> = +8 (c=0,26%, CHCl<sub>3</sub>). IR<sub>V</sub><sup>KBr</sup>, cm<sup>-1</sup> 3408 (OH), 2939, 2363, 1735 (-COO-), 1457, 1366, 1035 RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 4,45 (1H, dd, 3α-H), 4,05 (1H, t, 24-H, J=7,2 cps), 3,43 (1H, m, 12α-H, W1/2= 25 cps), 2,01 y 1,99

(6H, 2s, 2-COCH<sub>3</sub>), 1,50 y 1,44 [6H, 2s, -(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-O-], 1,22 (3H, s, O-C-CH<sub>3</sub>), 0,95 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 0,88 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 0,85 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 0,83 [6H, s, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]. RMN-<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) ppm: 170,82, 170,40, 86,42, 82,76, 81,63, 80,69, 70,16, 55,97, 52,04, 50,22, 48,45, 47,11, 39,65, 38,49, 37,76, 36,96, 32,45, 32,36, 30,16, 28,65, 27,85, 25,59, 24,54, 23,60, 22,47, 22,35, 22,15, 21,19, 18,11, 16,33, 16,31, 15,32, EM m/e (%): 545 (6), 500 (24), 459 (3), 441 (29), 381(59), 375 (1), 357 (1), 297 (12), 249 (29), 189 (75), 185 (86), 125 (100), 121 (35), 95 (16).

**Pyxinol (2)**: 150 mg de diacetilpyxinol (1) se disolvieron en 50 mL de una solución de NaOH al 10% en metanol y se calentó a reflujo por 10 minutos. Se enfrió y posteriormente se evaporó el solvente para dar una sustancia cristalina, recristalizada en metanol, p.f. 217-218°C; [α]<sup>20</sup><sub>D</sub> = +12 (c= 0,26%, CHCl<sub>3</sub>). IR<sub>V</sub><sup>KBr</sup>, cm<sup>-1</sup> 3408 (OH), 2947, 1451, 1382, 1131, 1027, 952. RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 3,84 (1H, t, J=12 cps), 3,48 (1H, m, W1/2= 30 cps), 3,17 (1H, c), 1,27 y 1,26 [6H, 2s, -C(CH<sub>3</sub>)-OH], 1,11 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 0,97 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 0,96 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 0,89 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 0,84 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 0,76 (3H, s, -CH<sub>3</sub>). RMN-<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) ppm: 86,48, 85,39, 78,80, 70,98, 70,08, 55,95, 52,0, 49,37, 47,94, 39,71, 38,93, 37,12, 34,80, 32,60, 31,30, 31,18, 28,57, 27,97, 27,69, 27,59, 27,41, 26,10, 24,98, 18,26, 18,16, 15,35, 15,27, EM m/e (%): 477 M<sup>+</sup>+1, 461 (2), 441 (3), 424 (2), 400 (1), 381(1), 207 (3), 191 (3), 143 (30), 93 (20), 85 (22), 81 (27), 71 (29), 69 (29), 67 (26), 59 (100), 57 (43), 55 (44).

**Atranorina (3)**: Sustancia sólida cristalina obtenida de la cristalización fraccionada con acetona y purificada mediante recristalización con acetato de etilo-acetona; p.f. 192-194°C, IR<sub>V</sub><sup>KBr</sup>, cm<sup>-1</sup> 3407, 2957, 2884, 2360, 1734, 1653, 1577, 1457, 1419, 1304, 1251, 1172, 807. RMN-<sup>1</sup>H (DMSO) δ ppm: 12,43 (1H, s, -OH), 11,64 (1H, s, -OH), 10,57 (1H, s, -OH), 10,22 (1H, s, -CHO), 6,65 (1H, s, -CH aromático), 6,43 (1H, s, -CH aromático), 3,89 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 2,40 (3H, s,

-CH<sub>3</sub>), 2,36 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 2,05 (3H, s, -CH<sub>3</sub>)  
 RMN-<sup>13</sup>C (DMSO) ppm: 193,77, 169,71,  
 164,46, 163,39, 161,53, 157,50, 151,37,  
 148,94, 136,56, 116,22, 115,64, 114,96,  
 110,61, 108,95, 107,81, 52,23, 21,10,  
 9,22, EM m/e (%): 374 M<sup>+</sup> (0,34), 235 (1),  
 196 (51), 179 (13), 178 (11), 165 (30), 164  
 (100), 150 (62), 136 (93), 125 (17), 107  
 (11), 66 (12).

Los líquidos sobrenadantes de los extractos de éter de petróleo y acetona fueron concentrados por destilación al vacío. Los residuos viscosos obtenidos después de la concentración de los líquidos, presentaron en su análisis por cromatografía en capa fina los mismos componentes, por lo que se unificaron para dar una masa viscosa que pesó 10 g.

La masa viscosa cromatografiada en columna al vacío, usando como adsorbente una mezcla de sílica gel S y sílica gel TLC (2:4), proporcionó en la reunión de las fracciones eluidas con éter de petróleo/diclorometano (60:40) y (50:50), el **metilpyxinato (4)**: sólido cristalino recristalizado en metanol; p.f. 268-270°C;  $[\alpha]_D^{20} = +36$  (c=0,28 %, CHCl<sub>3</sub>). IRV<sup>KBr</sup>, cm<sup>-1</sup> 3507, 2941, 2865, 1725, 1451, 1390, 1253, 1184, 1138, 1073, 1045, 978, 738. RMN-<sup>1</sup>H (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) δ: 3,82 (3H, s, -CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,44 (1H, t, -O-CH<sub>3</sub>), 2,85 (1H, c, R-C-H), 2,04 y 1,85 [2CH<sub>2</sub>, 2 m, 2(CH<sub>2</sub>)], 1,48 (3H, s, R-CH<sub>3</sub>), 1,24, 1,07, 1,04, 0,97, 0,93 y 0,87 (6CH<sub>3</sub>, 6s, 6-CH<sub>3</sub>). RMN-<sup>13</sup>C (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) δ ppm: 178,94, 78,17, 55,72, 54,29, 52,06, 50,70, 50,07, 46,89, 44,51, 42,33, 42,10, 41,53, 39,57, 39,30, 37,47, 34,49, 33,72, 28,82, 28,37, 27,56, 25,11, 24,58, 21,41, 20,66, 18,97, 17,45, 17,06, 16,44, 16,33, 16,28. EM m/e (%): 488 (1), 455 (2), 411 (4), 385 (18), 357 (1), 329 (1), 299 (2), 149 (65), 95 (100), 69 (46).

## Agradecimiento

A Ernesto Suárez y a Juan Antonio Gil, del Instituto de Productos Naturales y Agrobiología de la Universidad de La Laguna España, por la realización de los espectros de RMN y de EM de los compuestos. A Francisco Rodríguez Luis y Francisco Macias de la Facultad de Química de la Universidad de Cádiz, por la realización de algunos espectros de RMN. Juan Manuel Amaro-Luis por su valiosa colaboración en la realización de los espectros de RMN.

## Referencias Bibliográficas

1. SWINSCOW T.D., KROG H. *Norw J Botanical* 22: 43-68, 1975.
2. LÓPEZ M. Censo de macrolíquenes venezolanos de los Estados Falcón, Lara, Mérida, Táchira y Trujillo. (Tesis) Universidad de Los Andes. Mérida (Venezuela), pp. 397-398, 1986.
3. LOPEZ M., MORALES A. *Phytologia* 67 (1): 100-103, 1989.
4. HUNECK S. *Phytochemistry* 15: 799-801, 1976.
5. HUNECK S. Fortschritte der Chemie von Flechtenstoffen. In: *Beiträge zur Lichenologie*. HERTEL H., OBERWINKLER F.(eds). J. Cramer (Germany), pp.793-838, 1984.
6. HUNECK S., MORALES A., KALB K. *J Hattori Bot Lab* 62: 331-338, 1987.
7. FUKUSHIMA Y., BASTOW K.F., OHBA T., LEE K.H. *Int J Pharmacog* 33 (1): 2-6, 1995.
8. MORALES A. *Rev Latinoamer Quím* 21 (1): 24-26, 1990.
9. DEVLIN J.P., FALSHAW C.P., OLLIS W.D. *J sChem Soc* (c): 1318-1323, 1971.
10. WHITE F., JAMESs P. *British Lichen Society Bulletin* 57: 1-41, 1985.