

# Flavonoides de *Iresine diffusa*

## Flavonoids from *Iresine diffusa*

ALÍRICA I SUÁREZ<sup>1\*</sup>, CRISTHIAN RAMÍREZ, RODRIGO PALACIOS,  
KATHERINE ROJAS<sup>1</sup>, FRANCO DELLE MONACHE<sup>2</sup>, STEPHEN TILLET<sup>1</sup>

### RESUMEN

La investigación fitoquímica de las hojas y flores de *Iresine diffusa* Humb. & Bonpl. ex Willd, permitió el aislamiento de cuatro metilendioxi flavonoides, incluyendo la coumaronocromona Aervin B (1-4). Las estructuras de los metabolitos aislados fueron determinadas a través de datos espectroscópicos de Resonancia Magnética Nuclear (RMN), Espectroscopia de Infrarrojo (IR), Espectrometría de Masas (EM) y por comparación con datos previamente reportados en la literatura. Todos los compuestos fueron aislados, por primera vez, de la especie *Iresine diffusa*. La contribución quimio-taxonomía de esos compuestos al género es discutida en esta comunicación.

**Palabras clave:** *Iresine diffusa*, Amaranthaceae, coumaronocromona, metilendioxi flavonoides.

### ABSTRACT

The phytochemical investigation of flowers and leaves from *Iresine diffusa* Humb. & Bonpl. ex Willd, led to the isolation of four methylenedioxy flavonoids, including the coumaronochromone Aervin B (1-4). The structures of the isolated metabolites were determined by spectroscopic data of Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Infrared Spectroscopy (IR) and Mass Spectrometry (MS), and by comparison of their spectral data with those reported previously in the literature. All compounds were isolated from *Iresine diffusa* for the first time. The chemotaxonomic significance of these flavonoids is summarized.

**Key words:** *Iresine diffusa*, Amaranthaceae, coumaronochromone, methylenedioxy flavonoids.

### Introducción

*Iresine* es un género de plantas con flores con un gran número de plantas ornamentales en la familia Amaranthaceae. Estas plantas se encuentran en la América tropical, donde hay hasta 35 especies (Eliasson, 1987; Judd y col., 2007), sin embargo, solamente algunos estudios fitoquímicos y farmacológicos de especies de *Iresine*, han sido publicados (Cappaso y De Feo, 2007; Bussmann y Glenn, 2010). Algunas especies son de amplio uso en la medicina tradicional de países americanos, con diferentes propósitos, de ellas la *Iresine herbstii* es una de las especies más estudiadas. En relación a la fitoquímica del género, la evidencia indica la presencia de isoflavonas (Klejdus y col., 2007; Valentová y col., 2011); alcaloides, carbohidratos, saponinas y tioles en la especie *I. herbstii* (Chaudhuri y Sevanan, 2012). *Iresine herbstii* ha sido

validada farmacológicamente mostrando efectos sobre el sistema nervioso central. Efectivamente, los extractos purificados (metabolitos) de estas especies en asociación con otras plantas, producen una significativa reducción en la actividad locomotora, coordinación motora y en el comportamiento estereotipado en ratones, con efectos terapéuticos (agente psicotrópico) en la respuesta del sistema nervioso central, constituyéndose como un recurso natural para tratamientos contra el Parkinson y la Esquizofrenia (Nencini y col., 2006; De Feo y col., 1996). En Brasil se le utiliza como cicatrizante y como antibacteriano (Chaudhuri y Sevanan, 2012; Schmidt y col., 2009) y en la India se le reconocen diversas propiedades farmacológicas (Chaudhuri y col., 2011). En Perú se emplea para tratar hemorragias, inflamaciones de ovario y malaria (Céline y col., 2009); en México, la especie es utilizada por los Mayas para el tratamiento de varias enfer-

<sup>1</sup> Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

<sup>2</sup> Dipartimento di Chimica e Tecnologia delle Sostanze Biologicamente Attive, Università di Roma, Roma, Italia.

\* Email: alirica.suarez@ciens.ucv.ve

medades tales como malaria, fiebre tifoidea y cáncer de próstata (Schmidt y col., 2009); y en Argentina se utiliza como remedio para las picaduras de serpientes (Camargo y col., 2011). En Venezuela, donde se conoce comúnmente como valeriana, es reconocida por sus propiedades sedantes (Capasso y De Feo, 2007). Estudios fitoquímicos previos para esta especie, muestran el aislamiento de esteroides, triterpenos glicosilados y drimenos (Ríos y Berber, 2005).

En la actualidad no existen en nuestro país estudios fitoquímicos ni farmacológicos para la especie *Iresine diffusa*, por ello estudiamos la fitoquímica y la farmacología de esta planta como parte de un proyecto global del estudio de plantas utilizadas en la medicina tradicional venezolana.

## Materiales y métodos

### PROCEDIMIENTO GENERAL

Los puntos de fusión fueron determinados utilizando un instrumento Kofler hot-stage y se reportan sin corregir. Los espectros de Espectroscopia de Infrarrojo (IR), en pastillas de KBr, fueron determinados mediante el uso de un espectrómetro Perkin-Elmer 1320. Los espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  NMR mediante el uso de un  $\text{CDCl}_3$  en un equipo JEOL 270 MHz y en un Bruker 500 MHz, las resonancias están referenciadas con respecto a la señal residual del disolvente utilizado. Los espectros de masa se determinaron empleando un equipo Finnigan Trace Mass Spectrometer. Los procedimientos de aislamiento por cromatografía de columna se evaluaron empleando cromatografía de capa fina sobre placas de aluminio cubiertas con gel de sílice (Merck, Kieselgel 60 F254). En el proceso de revelado se utilizó una lámpara de UV y como reactivo revelador una disolución de p-anisaldehído en metanol (MeOH).

### MATERIAL VEGETAL

Las hojas y flores de *I. diffusa*, se colectaron en San Diego de los Altos en el estado Miranda en junio de 2008, la especie fue autenticada por el botánico Dr. Stephen Tillett. Una muestra representativa de esa colección con el código (MYF26730) se guarda en el Herbario Víctor Manuel Ovalles (MYF) de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela.

### EXTRACCIÓN Y AISLAMIENTO DE LOS COMPUESTOS CARACTERIZADOS

Las hojas y flores, secas y molidas de *I. diffusa* (350 g), se sometieron a extracción por maceración con metanol a temperatura ambiente por 72 horas. Se filtró y se evaporó el solvente a presión reducida,

utilizando un rota-evaporador. Este proceso permitió obtener 12 g del extracto crudo. Este extracto se disolvió en una mezcla  $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$  (50:50), la cual se sometió a un proceso de partición con *n*-hexano, diclorometano y acetato de etilo, sucesivamente. Obteniéndose 1.06 g, 1.42 g, y 1.25 g, respectivamente.

El extracto de diclorometano (1.00 g), se sometió a un proceso cromatográfico en columna abierta, utilizando sílica-gel como soporte y la elución se realizó utilizando un gradiente desde 1-100 de acetato de etilo (AcOEt) en cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ). Se obtuvo 10 fracciones de 50 mL c/u; de las fracciones (F1 + F2), y (F3 + F4) se obtuvo los compuestos puros **3** (27 mg), y **4** (32 mg) respectivamente. Las fracciones F5 y F6 dieron por precipitación un sólido amarillo, el cual se caracterizó como el flavonoide **2** (250 mg). Las fracciones (F7-F10) se combinaron y re-cromatografiaron en una columna de sílica-gel eluida con una mezcla de polaridad creciente entre  $\text{CHCl}_3$ -MeOH, se obtuvo de esa cromatografía 435 mg de Aervin B (**1**). Las estructuras de los compuestos aislados, se establecieron en base al análisis de espectros de RMN en 1 y 2D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT, HMQC, HMBC) y de espectrometría de masas (HRMS) y su posterior comparación con datos previamente descritos en la literatura.

## Resultados y discusión

Los flavonoides **2**, **3** y **4**, los cuales han sido obtenidos previamente de fuentes naturales, se identificaron por sus espectros de RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT) cuyas señales se compararon con datos de la literatura los cuales indican la presencia de: 3,5-dimetoxi, 6,7-metilendioxi-flavona (**2**) (Buschi y col., 1979); 5-metoxi, 6,7-metilendioxi-flavona (**3**) (Ng y Goh, 1990) y 3-hidroxi, 6,7-metilendioxi-flavonol (**4**) (Park y col., 2008) (Tabla I).

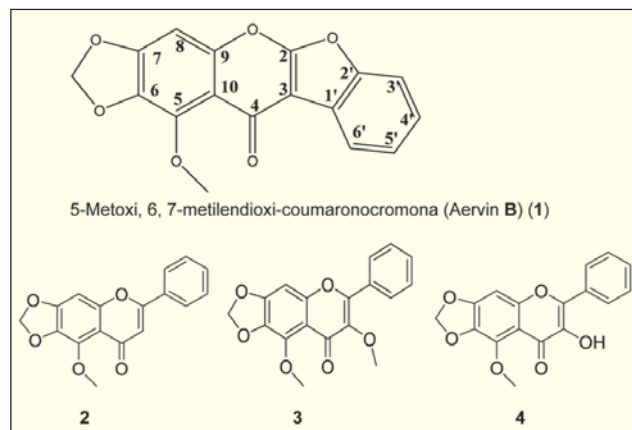
El compuesto **1**, se aisló como un sólido amarillo de punto de fusión (p.f) 258-260 °C. El espectro de masas HR-ESI-EM dio un ion  $\text{M}^+$  con una  $m/z$  310,2578, el cual permitió obtener una fórmula molecular de  $\text{C}_{17}\text{H}_{10}\text{O}_6$ , determinando un número de 13 insaturaciones en la molécula. El espectro de Infrarrojo mostró bandas máximas de absorción para carbonilos  $\alpha,\beta$ -insaturados (1620 and 1600  $\text{cm}^{-1}$ ), para C-H aromáticos (1474  $\text{cm}^{-1}$ ) y para grupo metilendioxi ( $\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$ ) a (918  $\text{cm}^{-1}$ ). El espectro de RMN de protones mostró un singlete para un protón aromático a  $\delta_{\text{H}}$  6,79, un singlete el cual integró para dos protones señaló la presencia del grupo metilendioxi a  $\delta_{\text{H}}$  6,05, se observó igualmente la presencia de un grupo metoxi a un desplazamiento de  $\delta_{\text{H}}$  4,15. Las señales descritas indicaron que la estructura analizada tenía el anillo-A tri-sustituido, observado en los flavonoides

**Tabla I**  
Desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$   
de los flavonoides (2-4)

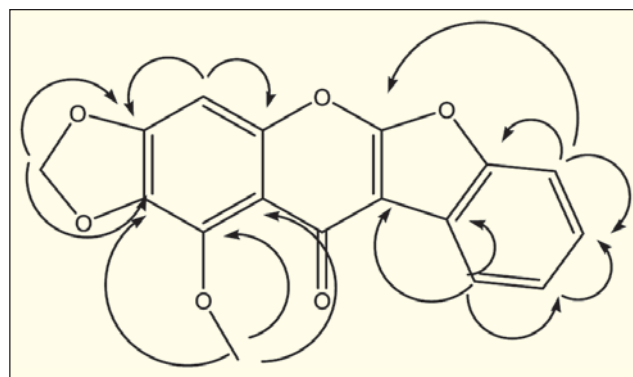
Posición	2 $\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$	3 $\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$	4 $\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$
2	161.0	152.9	147.2
3	108.2	141.4	137.5
4	177.9	174.2	177.7
5	141.3	141.1	141.4
6	134.9	134.7	136.9
7	153.2	153.0	153.1
8	92.9	93.0	92.9
9	154.8	153.9	153.0
10	112.7	113.6	112.5
1'	130.5	130.7	131.1
2'	125.9	128.6	127.6
3'	129.0	128.5	128.5
4'	131.2	130.4	129.8
5'	129.0	128.5	128.5
6'	125.9	128.6	127.6
OCH <sub>2</sub> O	102.2	102.2	101.4
C(5)OCH <sub>3</sub>	61.1	61.2	61.5
OCH <sub>3</sub>	---	60.1	---

previamente identificados (2-4). El complejo patrón de acoplamiento del anillo-B, fue indicativo de cuatro protones mutuamente acoplados en un anillo tipo bencénico di-sustituido en posiciones orto. El análisis comparativo de los espectros de  $^{13}\text{C}$  y DEPT 135, reveló la presencia de un grupo metilo, un metileno, cinco metinos y diez carbonos cuaternarios. El grupo carbonilo a  $\delta$ 173,6, el metilendioxi a  $\delta$  102,6 y el metoxi a  $\delta$  61, 3, se asignaron al igual que todos los carbonos cuaternarios pertenecientes al anillo-A del flavonoide que se analizaba. Con la ayuda de los experimentos COSY y HMQC se determinaron las correlaciones  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  and  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ . Las asignaciones completas de toda la estructura se realizaron en base a  $J^2$ ,  $J^5$  obtenidas del experimento HMBC (Figura 2). Se descartó una posible 2'-hidroxi-isoflavona, por la ausencia de la típica señal de (H-2) del esqueleto de una isoflavona y porque la comparación con estructuras similares, indicaron que las señales del anillo-B en **1**, aparecen a campo más bajo. Las señales cruzadas entre H-6' ( $\delta_{\text{H}}$  8,15) con C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  99,0) y C-2' ( $\delta_{\text{C}}$  149,7), que se observaron en el espectro HMBC, sugirieron una conexión entre C-3, C-1' ( $\delta_{\text{C}}$  123,5), y C-2'. Las correlaciones de H-3' ( $\delta$  7,46) con C-2 (163,8), C-1', y de C-3 y H-4' ( $\delta_{\text{H}}$  7,37) con C-2', y C-1', indica-

ron la conectividad de los anillos C y B a través de un anillo de tipo furano. Esas evidencias confirmaron la estructura de una coumaronocromona (Shou y col., 2009; Wen-Li y col., 2002). Este tipo de estructuras, poco comunes, han sido encontradas particularmente en algunos géneros (*Piscidia*, *Euchresta*, *Lupinus*) de la familia Fabaceae (Tahara y col., 1985; Hashidoko y col., 1986; Mizuno y col., 1989).



**Figura 1. Estructuras de los flavonoides aislados.**



**Figura 2. Correlaciones HMBC de Aervin B.**

La evidencia indica que el compuesto **1**, identificado como 5-methoxy-6, 7-metilendioxi-coumaronocromona, el metabolito mayoritario aislado de flores y hojas de *I. diffusa*, había sido previamente aislado de *Aerva persica*, una especie perteneciente igualmente a la familia Amaranthacea y el cual fue llamado Aervin B (1) (Imran y col., 2009).

Todos los flavonoides aislados, se sometieron a pruebas como antibacterianos, anti-VIH, leishmanicida y de citotoxicidad sobre algunas células de cáncer humano, pero los resultados indicaron solo una moderada actividad en todos los ensayos. Se requieren estudios adicionales para evaluar su posible actividad como sedante.

5-METOXI, 6,7-METILENDIOXI-COUMARONOCROMONA (1)

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  6,79 (1H, s, H-8),

7,46 (1H, dd, J = 1,5; 7,5 Hz, H-3'), 7,37 (2H, m, H-4' and H-5'), 8,15 (1H, m, H-6'), 6,05 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 4,15 (3H, s, 4' OCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 163,8 (C-2), 99,3 (C-3), 173,6 (C-4), 142,6 (C-5), 136,2 (C-6), 152,4 (C-7), 93,8 (C-8), 151,6 (C-9), 112,9 (C-10), 123,5 (C-1'), 149,7 (C-2'), 111,0 (C-3'), 125,2 (C-4'), 125,0 (C-5'), 121,9 (C-6'), 102,6 (O-CH<sub>2</sub>-O), 61,3 (OCH<sub>3</sub>).

## Conclusiones

Se aislaron por primera vez para el género *Iresine* los flavonoides (**1-4**). La evidencia señaló la presencia de flavonoides, incluyendo isoflavonoides en la familia Amaranthaceae (Ahmed y col., 2006; Tundis y col., 2007; Payal y col., 2015; Brochado y col., 2003). El aislamiento de la coumaronocromona Aervin **B** (**1**), es el segundo que se conoce y la especie *I. diffusa*, pertenece a otro género de la misma familia. Compuestos de tipo esteroides, triterpenos (Crabbé y col., 1958, 1961), lactonas sesquiterpénicas y drimenos (Ríos y Berber, 2005), e isoflavonoides, se han identificado también de especies de *Iresine*.

La existencia de la subunidad 5-metoxi-6,7 metilendioxi en los flavonoides aislados, está de acuerdo con el perfil químico de otras especies de *Iresine*, ya que en varias de ellas se han aislado isoflavonoides con un esqueleto similar (Crabbé y col., 1958, Valentová y col., 2011).

Basados en el perfil fitoquímico de *I. diffusa*, se puede concluir que la fitoquímica de la especie se encuentra dentro de la conocida para la familia Amaranthaceae y específicamente relacionada con otras especies del género. Considerando las grandes cantidades obtenidas del compuesto **1**, se puede proponer a Aervin B como un marcador quimiotáxico de la especie *Iresine diffusa*.

## Agradecimientos

Agradecemos el soporte financiero del FONACIT a través de los proyectos PEII-705 and P-2013000385.

## Referencias bibliográficas

Ahmed E, Imram M, Malik A, Ashraf M. 2006. Antioxidant activity with flavonoidal constituents from *Aerva persica*. Arch Pharm Res 29: 343-347.

Brochado CO, de Almeida AP, Barreto BP, Costa LP, Ribeiro LS, da C Pereira RL, Goncalves-Koatz, Costa SS. 2003. Flavonol robinobiosides and rutinosides from *Alternanthera brasiliana* (Amaranthaceae) and their effects on lymphocyte proliferation in vitro. J Braz Chem Soc 14: 449-451

Buschi CA, Pomilio AB, Gros EG. 1979. A new flavone from *Gomphrena martiana* Phytochem. 18: 1249-1250.

Bussman RW, Glenn A. 2010. Medicinal plants used in Northern Peru for reproductive problems and female health. J Ethnobiol Ethnomed 6: 30.

Camargo F, Torres AM, Ricciardi G, Ricciardi A, Dellacasa E. 2011. SDS-PAGE: una herramienta útil en la evaluación preliminar de la actividad alexitérica de extractos vegetales. BLACPMA 10: 429-434.

Capasso A, De Feo V. 2007. In vitro binding receptors study by *Valeriana adscendens*, *Iresine herbstii* and *Brugmansia arborea* extracts. Med Chem 3: 599-604.

Céline V, Pabón A, Deharo E, Albán-Castillo J, Estévez-Yannick LFA, Rojas R, Gamboa D, Sauvain M, Castillo D, Bourdy G. 2009. Medicinal plants from the Yanasha (Peru): Evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extracts. J Ethnopharmacol 123: 413-422.

Crabbé P, Leeming PR, Djerassi C. 1958. Naturally occurring oxygen heterocyclics. III. The Structure of the Isoflavone Tlatlancauyin. J Am Chem. Soc 80: 5258-5263.

Crabbé P, Ringold HJ, Zderic JA. 1961. Stéroïdes CLXVIII: Une Nouvelle Voie D'Accès A L'Acétonide De La 6 $\alpha$ , 9 $\alpha$ -Difluoro-16 $\alpha$ -Hydroxyprednisolone Bull Soc Chim Belg 70: 271-284.

Chaudhuri D, Murugan S, Uma Devi P. 2011. Review on medicinal and pharmacological properties of *Iresine herbstii*, *Crozophora rothleri* and *Ecbolium lineatum*. Afr. J. Tradit. Complement Altern Med 8:124-129.

Chaudhuri D, Sevanan M. 2012. Investigation on phytochemicals and Antibacterial Activity of the Leaf and Stem Extracts of *Iresine herbstii*. Int J Pharm Bio Sci 3: 697-705.

De Feo V, Capasso A, De Simone F, Sorrentino L. 1996. CNS Pharmacological Effects of Aqueous Extract from *Iresine herbstii*. Pharma Biol 34:184-188.

Eliasson H. 1987. Amaranthaceae. Págs. 1-138. En: G. Harling & L. Andersson (eds.). Fl. Ecuador 28.

Hashidoko Y, Tahara S, Mizutani J. 1986. Agri. New complex isoflavones in the roots of yellow lupin *Lupinus luteus* L. Biol Chem 50: 1797-1807.

Imran M, Ibrahim M, Riaz N, Malik A. 2009. Structure determination of Aervins A-D, new coumaronochromone analogues from *Aerva persica*, by 1D and 2D NMR spectroscopy. Mag Reson Chem 47: 532-536.

Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ. 2007. Plant Systematics: A phylogenetic approach. 3rd Edition. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.

Klejdus B, Beneová VL, Kopecký J, Lapík O, Kubá B. 2007. Rapid-resolution HPLC with spectrometric detection for the determination and identification of isoflavones in soy preparations and plant extracts. Anal Bioanal Chem 389: 2277-2285.

Mizuno M, Tanaka T, Tamura KI, Inuma M. 1989. Coumaronochromones from the roots of *Euchresta formosana*. Phytochem 28: 2518-2519.

Nencini C, Cavallo F, Bruni G, Capasso A, De Feo V. 2006. Affinity of *Iresine herbstii* and *Brugmansia arborea* extracts on different cerebral receptors. J Ethnopharmacol 105: 352-357.

Ng AS, Goh WP. 1990. Synthesis and structure of 5-Methoxy-6,7 methylenedioxyflavone. J Nat Prod 53: 747-749.

- Park Y, Moon B-H, Lee E, Hong S, Lee S, Lim Y. 2008. The  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR Data of 19 Methoxyflavonol Derivatives. *Bull Korean Chem Soc* 29: 81-84.
- Payal C, Gurlaganjee K, Davinder K, Gagan S, Amit C, Dhanwan RK. 2015. A review on phytochemistry and biological activities of *Aerva*. *Med Aromat Plants* 4: 2-6.
- Ríos MY, Berber LA. 2005.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  assignments of three new drimenes from *Iresine diffusa* Humb. & Bonpl. ex Willd. *Mag Reson Chem* 43: 339-342.
- Schmidt C, Fronza M, Goettert M, Geller F, Luik S, Flores EMM, Bittencourt CF, Zanetti GD, Heinzmann BM, Laufer S, Merfort I. 2009. Biological studies on Brazilian plants used in wound healing. *J Ethnopharmacol* 122: 523-532.
- Shou QY, Tan Q, Shen ZW. 2009. Hirtellanines A and B, a pair of isomeric isoflavonoid derivatives from *Campylo-*  
*tropis hirtella* and their immunosuppressive activities. *Biorg Med Chem Lett* 19: 3389-3391.
- Tahara S, Moriyama M, Orihara S, Ingham J, Kabawata J, Mizutani J. 1991. Naturally occurring coumaranochroman-4-ones: a new class of isoflavonoids from Lupins and Jamaican Dogwood. *Z Naturforsch* 46: 331-340.
- Tundis R, Loizzo MR, Bonesi M, Menichini GA, Statti GA, Menichini F. 2007. In vitro cytotoxic activity of *Salsola oppositifolia* Desf. (Amaranthaceae) in a panel of tumor cell lines. *Z Naturforsch* 63: 347-354.
- Valentová M, Marek R, Švajdlenka E, Kubínová R, Suchým V. 2011. A new isoflavanone from *Iresine herbstii*. *Fitoterapia* 82: 272-275.
- Wen-Li Lo, Fang-Rong C, Tian-Jye H, Yang-Chang W. 2002. Coumaronochromones and flavanones from *Euchresta formosana* roots. *Phytochem* 60: 839-845.

**Recibido:** 24 de agosto de 2015  
**Aceptado:** 3 de noviembre de 2015