

APORTACIONES A LA QUIMIOTAXONOMIA DEL GENERO *SIDERITIS*

I. COMPONENTES DE LA FRACCION VOLATIL DE LA *SIDERITIS LINEARIFOLIA* LAM.

por

LUIS M. CARRERAS

Introducción

El género *Sideritis* constituye un taxon complejo cuya clasificación actual no parece satisfactoria. El descubrimiento de nuevos caracteres clasificatorios podría ser de valor para la necesaria revisión del género. El que dichos caracteres, además de nuevos, se tachen de clasificatorios, implica que habrán de estudiarse comparativamente en todas las especies del grupo. Por otra parte, el hecho que nuestra búsqueda se polarice hacia caracteres nuevos y alejados de los que configuran estructuras visibles, como son los productos del metabolismo secundario de las anteriores especies, hace que la investigación sea forzosamente larga y lenta. Por ello estimamos conveniente ir dando paulatina cuenta, en forma de breves comunicaciones, de los resultados que vayamos obteniendo.

En un estudio como el que aquí iniciamos cabe seguir dos caminos. Abordar una detección de los diversos compuestos, caracterizándolos tan sólo de un modo empírico a través de sus constantes analíticas (posición en los distintos cromatogramas, reacciones de coloración con variados reactivos, fluorescencia al UV, etc.), para luego llevar a cabo la comparación interespecífica de este material no identificado, recurriendo reiteradamente a criterios de ausencia o presencia, hasta saber qué componentes cumplen con las condiciones de «buen carácter». De hecho,

no existe diferencia metodológica entre este modo de seleccionar un carácter y el consistente en utilizar unos rasgos morfológicos, cuyo significado biológico preciso se ignora en tantas ocasiones, sin que por ello sufran menoscabo en su valor taxonómico. El segundo camino sólo difiere del anterior en su primera fase. En él se trata, no ya de detectar compuestos, sino de separarlos e identificarlos químicamente. Es decir, llegar a un conocimiento químico-estructural de los principios existentes, que posteriormente, y como en el caso anterior, habrá que ensayar para ver si alguno de ellos reúne las cualidades exigibles a un carácter taxonómico. Si este conocimiento de la estructura química sólo poseyera un valor anecdótico, no merecería la pena de empeñarse en lograrlo a través de tan laboriosos trámites experimentales. Pero sucede que, en no pocas ocasiones, la estructura química de un compuesto entrañará un considerable interés taxonómico. Baste mencionar al respecto que compuestos tan afines como puedan serlo dos eslabones consecutivos de una misma cadena metabólica (a veces bastará una sola mutación para que se acumulen en exclusiva el uno o el otro en la planta) son capaces de aparecer como totalmente inconexos, si se caracterizan a través del primer método, mientras que por el segundo podrían manifestarse fácilmente su parentesco. El conocimiento de un compuesto que *a posteriori* ha demostrado ser un «buen carácter», ofrece además la ventaja de constituir un punto de partida para el planteo de experiencias de biosíntesis. Y la evaluación de la afinidad entre dos o más especies quedará mejor servida si estudiamos, cuando ello es posible, la biosíntesis de un producto común o semejante, que si nos limitamos a constatar su mera presencia en el vegetal. En ésta, como en las sucesivas notas, apelaremos indistintamente a cualquiera de los métodos indicados, basando la elección, sea en razones de economía, sea en la naturaleza del material estudiado.

Materiales y métodos

Un rasgo típico de muchas especies del género *Sideritis* es la producción de un olor especial que ha sido calificado de hircino, sin duda para hacer resaltar su matiz cálido y animal. Algunas especies carecen de él (*S. stachyoïdes* Wk., *S. hyssobifolia* L.), otras lo presentan atenuado e incluso casi imperceptible durante la mayor parte de su ciclo vegetativo (*S. hirsuta* L., *S. incana* L.), finalmente las hay que los des-

prenden con gran intensidad (*S. linearifolia* Lam., *S. leucantha* Cav., *S. lasiantha* P.).

El aislamiento y posterior caracterización de la sustancia responsable del olor parece ofrecer cierto interés desde nuestro punto de vista. Pensando que, al igual que sucede en tantas otras especies, el aroma de la planta se concentra en el aceite esencial obtenido sometiendo el material a destilación en corriente de vapor y creyendo, al mismo tiempo, valioso a nuestro propósito el investigar la naturaleza de los componentes volátiles de un género totalmente desconocido en este aspecto, se sometieron las sumidades de *S. linearifolia* al arrastre en corriente de vapor. El resultado fue la obtención de un discreto rendimiento de aceite esencial (0,4 por 100), el cual, en contra de nuestras sospechas, posee un olor que en nada recuerda a la nota hircina de la planta originaria. Ello parece indicar que la sustancia responsable del olor es termolábil, y se descompone en las condiciones de la experiencia, o bien que se trata de un compuesto cuya volatilidad es mucho más reducida que el resto de los componentes de la esencia y que pasa a la misma en cantidad tan exigua que su olor queda enmascarado por el de los restantes acompañantes. Queda, además, una tercera posibilidad que, aunque menos frecuente, no debe excluirse sin más pruebas. A saber, que el olor de la sustancia depende de la dilución de la misma y que el carácter hircino solamente lo aprecie el olfato a muy baja concentración del producto. A fin de decidir este extremo, el aceite esencial se diluye al 2 por 100, primero en hexano y después en éter sulfúrico. En ninguna de las diluciones se aprecia, durante el transcurso de su evaporación, el característico olor hircino. Ello permite excluir la tercera posibilidad. Al diluir el aceite esencial con hexano se produce un franco enturbiamiento del sistema (cosa que no sucede al diluir con éter sulfúrico), por ello se procede a extraer las sumidades de *S. linearifolia* por percolación con hexano. De este modo evitamos disolver todo un conjunto de sustancias olorosas que se encuentran en la esencia obtenida por destilación y que podrían ser causantes del enmascaramiento del olor hircino. El percolado hexánico, amarillento, deja al evaporarse un olor de cola francamente hircino. Se concentra el percolado en evaporador rotatorio al vacío (35 mm., Hg) y se encuentra que gran parte del olor ha pasado al destilado incoloro. Este se ensaya por cromatografía en fase gas utilizando diversas temperaturas, flujos de He, en columnas de polímero de sílicona SE30, Italato de dodecilo y Porapak. La diferencia entre los cromatogramas del codestilado hexánico frente

a los del hexano testigo es apreciable, aunque a pesar de trabajar con la sensibilidad máxima de catarómetro (250 mA) y de la del aparato de registro (2,5 mV) los picos diferenciales son tan pequeños que se prestan mal a su caracterización y a las medidas areales. Por ello se procede a concentrar el codestilado hexánico sometándolo a una rectificación en columna de 1 m. con relleno de espirales de Fenske, aislada térmicamente por una doble cámara de vacío metlizada de su superficie externa. Se utiliza una pequeña relación de reflujo (1/10). La rectificación se prosigue hasta la eliminación de todos los homólogos con punto de ebullición inferior al del hexano normal y de una buena parte de este último. Al final queda en el calderín de destilación un volumen próximo a 1/500 del de partida. El concentrado del calderín presenta un olor terpénico que recuerda al del aguarrás. Una gota del concentrado al evaporarse en la mano no permite apreciar en ningún momento el olor hircino. Por otra parte, éste tampoco se encuentra en la fracción destilada. Tal resultado no se debe a una descomposición del principio oloroso, sino a que éste se halla enmascarado en el concentrado hexánico. En efecto, una gota de dicho concentrado, una vez diluida con 1 ml. de n-hexano, desprende, al evaporarse, el típico olor hircino de la *Sideritis linearifolia*. Todo sucede como si la perceptibilidad del olor dependiese aquí de la concentración de la sustancia responsable. El concentrado hexánico da clara reacción de aldehídos con el reactivo de Schiff, sin embargo la concentración del carbonillo no es lo suficientemente grande para que se hayan podido obtener el derivado dimedónico ni la semicarbazona. En los intentos de obtención de dichos derivados, y en el momento de añadir etanol al concentrado hexánico, se produce un precipitado blanco coposo, de cristales birrefringentes con hábito acicular al microscopio de polarización, muy poco solubles en alcohol e insolubles en frío en los ácidos minerales concentrados. Su micropunto de fusión es de 72° C (Kofler). Recogidos por centrifugación, después de varios lavados con etanol, se funden entre dos placas de cloruro sódico y se determina su espectro infrarrojo (ver fig. 1). Este no presenta bandas asignables a otras funciones químicas que las correspondientes a la flexión y deformación de los grupos CH_2 y $-\text{CH}_2-$ (2955 cm^{-1} , 2900 cm^{-1} y 2917 cm^{-1} , 2842 cm^{-1}) y (1467 cm^{-1} , 1458 cm^{-1}), así como (722 cm^{-1} , 712 cm^{-1}) correspondientes a la vibración del esqueleto de una larga cadena ($-\text{CH}_2-$)_n. Dado su punto de fusión procede asignarle la fórmula $\text{C}_{13}\text{H}_{28}$. Se trata, pues, de un alcano de cadena normal. Aunque dada la escasa cantidad del producto sólo un

espectro de masas podría decidir con absoluta seguridad si se trata de un C_{33} o de un C_{32} , el punto de fusión, que puede obtenerse en condiciones de equilibrio, nos induce a decidimos en favor del primero. Debemos señalar que la presencia de homólogos del triacontano no es un hecho raro en la familia de las Labiadas. Hasta ahora se han encontrado en *Mentha* (1), *Monarda* (2), *Phlomis* (2), *Salvia* (3), *Teucrium*

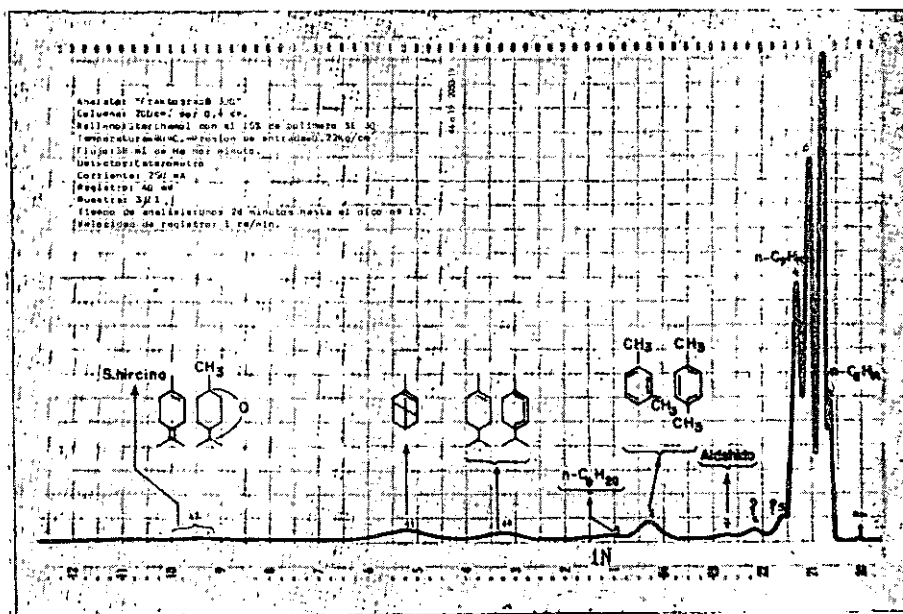


Fig. 1.—Cromatograma del codestilado hexánico de *S. linearifolia* Lam. Fraktograph 300. Columna de 200 x 0.4 cm. Sterchamol con el 15 por 100 de polímero de sílica SE 30. Temperatura de la columna, 80°. Presión de entrada, 0,22 Kg/cm². Flujo de He = 38 ml/min. Detector. Catarómetro. Corriente del puente, 250 mA. Muestra de 3 μl. Velocidad de registro, 1 cm/min. Tiempo de análisis, veintiocho minutos hasta el pico número 12.

(4), e incluso dentro del género *Sideritis* se han hallado hasta en la proporción del 0,1 por 100 en *Sideritis hyssopifolia* L. (4).

Para explorar los restantes componentes del concentrado hexánico se somete éste a cromatografía en fase gas en las condiciones antes enumeradas. En la figura 2 puede verse uno de los cromatogramas obtenidos con el registro a 40 mV. Aunque la separación de los compo-

mentos se realiza mejor, según nuestra experiencia, utilizando ftalato de didecilo, presentamos un cromatograma obtenido con columna de polímero de silicona, en el que alguno de los picos corresponde a dos componentes, debido a dificultades de reproducción de la primera gráfica a causa de su longitud. La caracterización de los picos se ha llevado a cabo operando en variedad de condiciones de flujo y temperatura y comprobando con las correspondientes sustancias testigos, salvo el

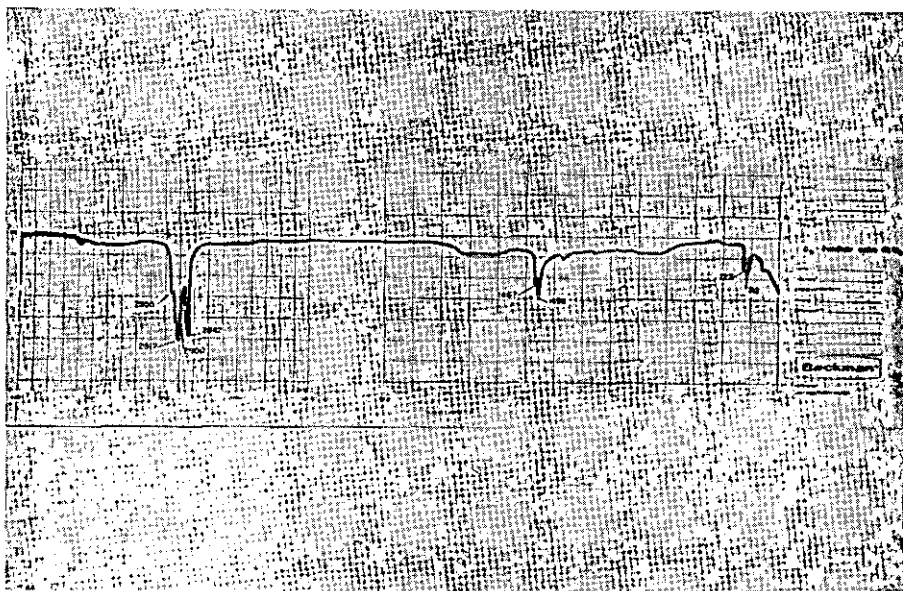


Fig. 2.—Espectro IR del Alcano $C_{33}H_{68}$ de *S. linearifolia* Lam.

caso del metil-4-isopropenil-ciclohexeno, que ha sido caracterizado por espectrografía de masas del correspondiente pico por una entidad privada. Los tres primeros picos del cromatograma corresponden al n-hexano, homólogos ramificados del n-heptano: el pico número 4 es el n-heptano. Ensayos realizados con discos de papel de filtro, impregnados con reactivo de Schiff, a la salida del cromatógrafo hacen asignar al pico número 7 al aldehído antes citado. El m-xileno (o quizás el p-xileno) es el responsable del pico número 8; el pico número 9 corresponde al n-nonano; el número 10 está formado por una mezcla de α -D-li-

moneno y de α -terpineno; el pico número 11 corresponde al β -pineno, y el pico número 12 corresponde a una mezcla de 1-8 cineol y de metil-4-isopropenil-1-cicloexeno. Inmediatamente después de dicho pico se aprecia en el tubo de salida del cromatógrafo de gases una vaharada de olor hircino. La sustancia responsable del mismo se halla en tan pequeña concentración que la débil respuesta del detector no se acusa, en las condiciones de experiencia, en el registro gráfico. Un cálculo de las áreas realizado con los diversos cromatogramas obtenidos, en el supuesto que la respuesta del detector es independiente de la naturaleza de los compuestos detectados (lo cual debe considerarse solamente como una grosera aproximación), permite hallar la relación entre la cantidad de disolvente y la cantidad de sustancia disuelta. De dicho cálculo resulta que la percolación con hexano extrae de la planta alrededor del 1,3 por 100 de materia volátil, cifra muy superior al 0,4 por 100 que es el porcentaje de aceite esencial que se obtiene por destilación en corriente de vapor. Por lo que se refiere a la sustancia responsable del olor hircino, el cálculo areal lleva a la conclusión que constituye tan sólo el 2 por 100 del material de la planta que ha pasado al codestilado hexánico. Ello nos permite asignarle un límite inferior de concentración en *Sideritis lincariifolia*. Su concentración en ella es por lo menos del 0,3 por 1.000. Sin embargo, toda vez que dicho olor hircino parece ir vinculado a una baja concentración de la sustancia, no parece que sea necesario invocar concentraciones muy superiores a las correspondientes al citado límite en planta para explicar el característico olor de estas especies.

En tal eventualidad, un futuro aislamiento y caracterización de la sustancia responsable del olor hircino parece que habrá de implicar la elaboración de cantidades de planta muy superiores a las utilizadas en este trabajo (130 g.).

RESUMEN

Se han caracterizado entre los componentes liposolubles de *Sideritis lincariifolia* Lam. un alcano normal $C_{33}H_{68}$, n-Nonano- Xileno (meta o para), α -D-Limoneno, α -Terpinoleno, β -Pineno, 1-8. Cineol, Metil-4-isopropiliden-1-cicloexeno. Trazas de un aldehído no identificado, pero que no guarda relación con el principio responsable del olor hircino de les especies de este género, el cual tiene un índice de Kowats muy superior. Por otra parte, parece desprenderse de las experiencias que el olor hircino producido por la sustancia anterior sólo es perceptible con

tal matiz cuando dicha sustancia se encuentra en baja concentración. El aceite esencial de la planta carece de tal principio odorífero.

RÉSUMÉ

Se sont caractérisés parmi les composants de *Sideritis linearifolia* Lam. un alcane normal $C_{11}H_{24}$, n-Nonane, Xylene (méta ou para), α -D-Limonène, α -Terpinolène, β -Pinène, 1-S, Cinéol, Méthyl-4-isopropylidène-1-cyclohexène. Traces d'un aldéhyde non identifié, mais qui n'est pas en rapport avec le principe responsable de l'odeur hircine des espèces de ce genre, qui a un indice de Kowats très supérieur. D'autre part, il semble se dégager des expériences que l'odeur hircine produite par la substance antérieure est seulement perceptible dans cette nuance lorsque la substance se trouve en basse concentration. L'huile essentielle de la plante manque de ce principe odoriférant.

SUMMARY

Among *Sideritis linearifolia* Lam. components there have been identified a normal alkane $C_{11}H_{24}$, n-Nonane, Xylene (meta- or para-), α -D-Limonene, α -Terpinolene, β -Pinene, 1-S, Cineole, Methyl-4-isopropylidene-1-cyclohexane. Traces of a non-identified aldehyde which do not have any relationship with the principle responsible for the hircine odour of the species of this genus, which as a much higher Kowat's index. On the other hand it appears to arise from the experiments that the hircine odour produced by the above mentioned substance is only perceptible with such a character when the said substance occurs in a low concentration. The essential oil of the plant lacks such odoriferous principle.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Gordon, M. — 1928 — Amer. J. Pharm., 100: 432.
- (2) Balansard, J. — 1936 — Bull. Sci. Pharmacol., 43: 148.
- (3) Brieskorn, C. H. — 1950 — Pharm. Zentralhalle, 89: 237.
- (4) Le Men, J. & Pourrat, H. — 1952-1953 — Ann. Pharm. Franç., 10: 349; 11: 190. (1953).

Departamento J. C. Mutis
 Instituto Botánico A. J. Cavanilles, C. S. I. C.