

EFFECTOS ANTIOXIDANTES DEL ÁCIDO CLOROGÉNICO Y SU COMPLEJO CON EL CATION OXOVANADIO(IV)

Luciana G. Naso^a, Luis Lezama^b, Teófilo Rojo^b, Ana C. González Baró^a, Patricia A.M. Williams^a, Evelina G. Ferrer^a

^aCentro de Química Inorgánica (CEQUINOR), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, 47 y 115 (1900) La Plata, Argentina.

^bDepartamento de Química Inorgánica, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco, Apdo 644, 48080 Bilbao, España.

e-mail: naso@quimica.unlp.edu.ar

Introducción

El ácido clorogénico (Figura 1) (ácido 3-cafeoil-D-quínico) es un éster entre el ácido quínico y el ácido cafeico y es uno de los componentes polifenólicos mayoritarios presentes en frutas y vegetales¹. Se encuentra mayoritariamente en las semillas de café y en las hojas de tabaco².

Al igual que otros polifenoles dietarios el ácido clorogénico presenta propiedades antioxidantes y también presenta actividad anti-HIV, anticancerígena, antialérgica, entre otras³. Los estudios *in vitro* sugieren que este compuesto elimina radicales generados en fase acuosa, aumenta la resistencia de las LDL a la peroxidación lipídica e inhibe el daño al ADN.

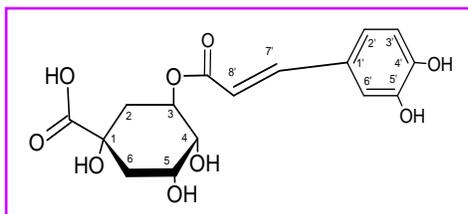


Figura 1. Ácido clorogénico

Parte experimental

Preparación de Na[VO(clorog)(H₂O)₃].4H₂O : Se agregaron ácido clorogénico y una solución acuosa de VOCl₂ (50%) (relación 1:1) a una mezcla metanol/ agua (0,5:3). Se ajustó el pH a un valor de 5 con Na(OH). Se mantuvo la suspensión bajo agitación continua en atmósfera de N₂ durante 15 minutos. Finalmente se precipitó el sólido con alcohol isopropílico, se filtró por succión y el precipitado violeta obtenido se lavó varias veces con el mismo alcohol. Se secó en estufa a 60°C. Anal. Calc. para C₁₆H₂₉O₁₇VNa: C, 33,8 ; H, 5,1 ; V, 9,0; Na, 4,1 %. Exp.: C, 33,5; H, 5,2; V, 9,2; Na, 4,2 %. TGA: se observa la pérdida de 4 moléculas de agua

(20-120 °C) y luego de 3 moléculas de agua de coordinación (120-200 °C). El residuo final obtenido a una temperatura superior a 900°C fue caracterizado por FTIR como NaVO_3 . El espectro de reflectancia difusa muestra un patrón típico de 3 bandas (483, 689 y 764 nm) característico para la coordinación de oxovanadio(IV) con grupos dioles adyacentes. El espectro UV-vis obtenido por disolución en agua del complejo VOclorog ($2,3 \times 10^{-3}$ M) permite observar dos bandas de absorción ubicadas en 555 nm ($3d_{xy} \rightarrow 3d_{x^2-y^2}$); $\epsilon=300,9 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ y 864 nm ($3d_{xy} \rightarrow 3d_{xz}, 3d_{yz}$, $\epsilon=210,2 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Resultados

Espectroscopía de Resonancia Paramagnética (EPR)

El espectro de VOclorog fue registrado en banda X a temperatura ambiente. Los principales parámetros para el hamiltoniano de espín son:

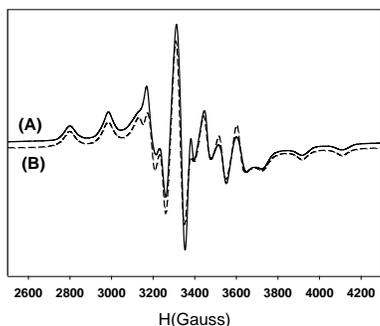
$$g_{\parallel}=1,943; A_{\parallel}=170 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1};$$

$$g_{\perp}=1,981; A_{\perp}=61 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$$

$$(g_{\text{iso}} = 1,968, A_{\text{iso}} = 97,33 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1})$$

Las características del espectro experimental se asocian a la presencia de una especie monomérica de oxovanadio(IV) con simetría axial.

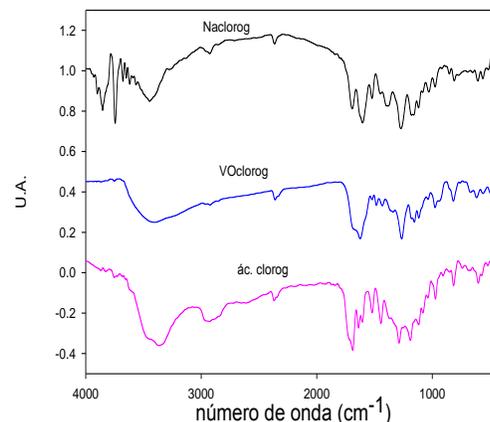
Utilizando la “regla de la aditividad” y suponiendo una coordinación como la planteada por espectroscopía FTIR con dos grupos Ar-O^- ($A_{\parallel}=2 \times 38,6$) y dos moléculas de agua ($A_{\parallel}=2 \times 45,7$) en la esfera de coordinación con sus respectivas contribuciones, se calcula un valor de $A_{\parallel}=168,60 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ que concuerda con el valor experimental proveniente de la simulación.



Espectro de EPR experimental de VOclorog (A) y simulado (B) de una muestra policristalina en banda X a 290K.

Espectro IR

Ácido clorogénico	Naclorog	VOclorog	Asignaciones probables
3364a			Uniones de H de las formas diméricas del ácido
3468h	3448a	3402a	$\nu(\text{OH})_{\text{arilo}}$
2967m	2962d	2967d	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{etileno}}$
1717h			$\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{COOH}}$
1689mf	1690f	1689f	$\nu(\text{C}=\text{O})$
	1597mf	1576h	$\nu(\text{COO}^-)_{\text{as}}$
1638m	1635md	1624f	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{etileno}}$
1606m, 1522m, 1445f	1527f, 1465d	1522md, 1484d, 1433d	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{aromático}}$
1371h			$\nu(\text{C}=\text{C}), \delta(\text{C}-\text{H})$
	1383f	1363m	$\nu(\text{COO}^-)_{\text{s}}$
	1273f	1265mf	$\nu(\text{C}-\text{O})_{\text{fenolato}}$
		945f	$\nu(\text{V}=\text{O})$
907d	925d	921h	$\delta(\text{C}-\text{OH})$
		666md	$\nu(\text{V}-\text{O})_{\text{fenolato}}$



En la sal de sodio las bandas correspondientes al modo de estiramiento antisimétrico y simétrico del grupo carboxilato (COO^-) aparecen en 1597 cm^{-1} y 1383 cm^{-1} y en el complejo en 1576 cm^{-1} y 1363 cm^{-1} . El valor $\Delta\nu (\nu(\text{COO}^-)_{\text{as}} - \nu(\text{COO}^-)_{\text{s}})$ calculado en base a nuestras asignaciones es de 213 cm^{-1} similar al obtenido para la sal de sodio (214 cm^{-1}) lo cual indicaría la presencia del grupo carboxilato en forma iónica.

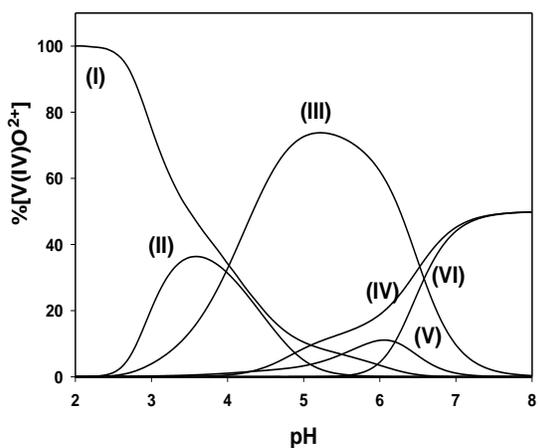
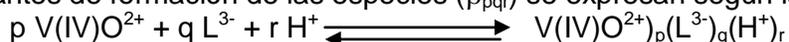
La banda de estiramiento $\nu(\text{C}=\text{O})$ no se modifica luego de la coordinación, esto señala que el grupo $\text{C}=\text{O}$ del éster no participa en la formación del complejo. La nueva banda en 1265 cm^{-1} se asigna al modo de estiramiento $\nu(\text{C}-\text{O})_{\text{fenolato}}$, esto junto a la banda $\nu(\text{V}=\text{O})$ ubicada en 940 cm^{-1} sugiere que la coordinación ocurre a través de grupos OH desprotonados del anillo fenólico presentes en la molécula. También el espectro muestra la presencia de una banda en 666 cm^{-1} asignada al modo de estiramiento V-O fenólico. En base a lo discutido se puede plantear que, posiblemente, en la esfera de coordinación ecuatorial del oxovanadio(IV) se encuentren dos grupos $\text{Ar}-\text{O}^-$ provenientes del ligando junto a 2 de las 3 moléculas de agua identificadas por termogravimetría.

Análisis e identificación de las especies en solución: Diagramas de distribución de especies y espectros de Resonancia Paramagnética Electrónica (EPR)

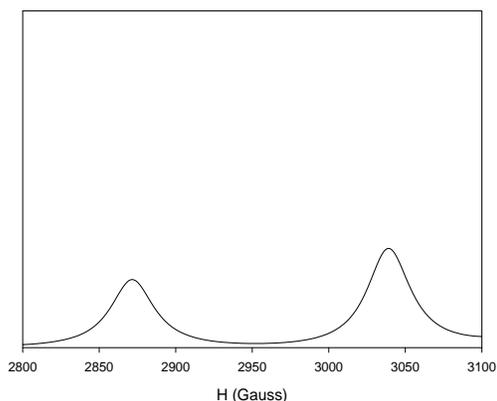
Especies(pqr)	Fórmula	log β
011	HL ²⁻	12,25
012	H ₂ L ⁻	20,60
013	H ₃ L	24,02
110	ML ⁻	16,44
120	ML ₂ ⁻⁴	31,11
122	M(HL) ₂ ⁻²	40,88
10-1	(MH ₁) ⁺	-5,50
10-3	(MH ₃) ⁺	-17,90

Modelo de especiación propuesto para el sistema ternario V(IV)O²⁺/L³⁻/H⁺ y constantes de formación para las diferentes especies.

Las constantes de formación de las especies (β_{pqr}) se expresan según la notación:



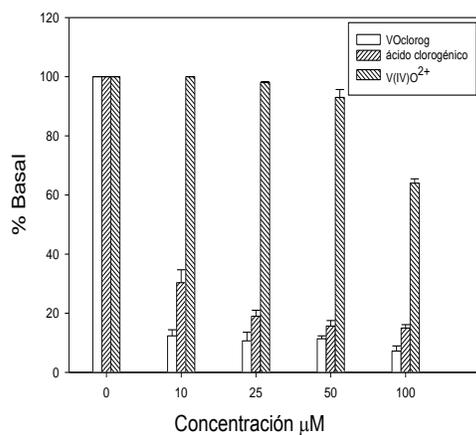
Se observa, para una relación de concentraciones M/L 1:1, la presencia de la especie ML⁻ (III) como mayoritaria en solución en un rango de pH entre 4,2 - 6,2. Esta especie caracterizada por EPR indica una esfera de coordinación que contiene, un ligando que estaría coordinando por medio de dos grupos ArO⁻ y completarían la coordinación dos moléculas de agua en el plano ecuatorial. Esta suposición conlleva a un cálculo de $A_{||} = 169,2 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, dicho valor se correlaciona con el espectro experimental simulado.



Componente paralela en la región a campo bajo para el espectro de EPR en banda X, registrado para una solución acuosa de V(IV)O²⁺/ ácido clorogénico (1:1) a 120 K, al pH de síntesis.

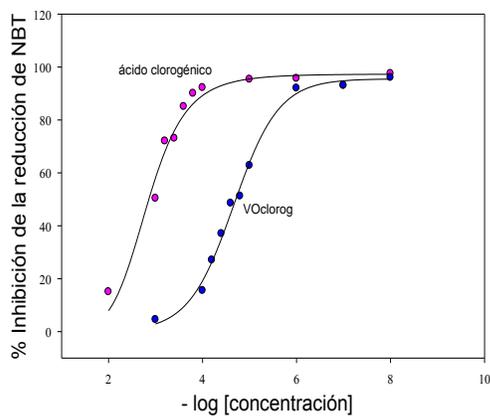
Actividad antioxidante

Capacidad secuestrante del radical DPPH'



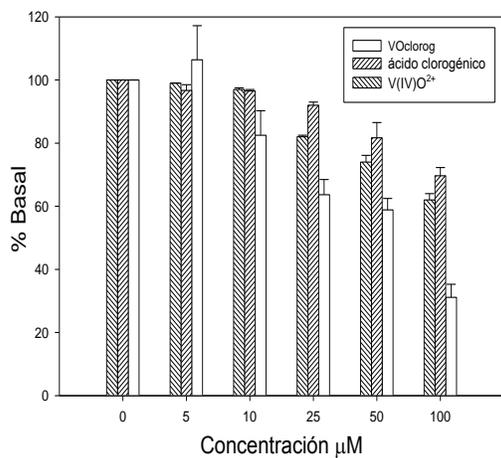
A una concentración de 100 µM el ligando secuestra un 85% del radical DPPH' y el complejo actúa como un agente secuestrante más eficiente (93% a la misma concentración).

Actividad Superóxidodismutasa símil (método no enzimático)



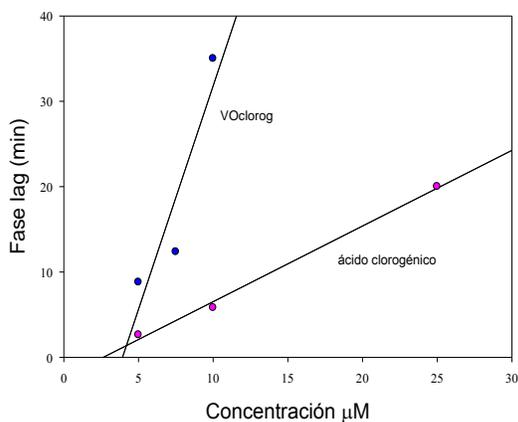
La complejación mejora notablemente la capacidad de secuestrar al anión radical superóxido. La CI₅₀ para VOclorog es 20,46 µM y para el ácido clorogénico CI₅₀: 1035 µM.

Capacidad secuestrante del radical OH·



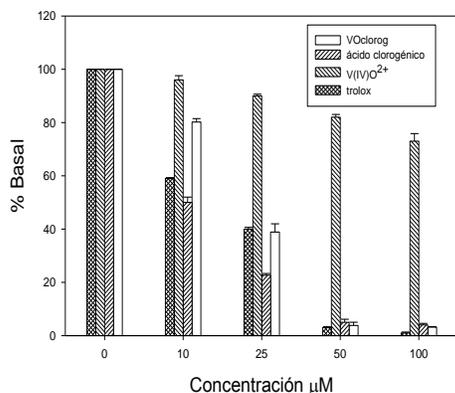
Mientras que el complejo secuestra 70% del radical a 100 μM el ligando secuestra solo un 30%, concluyendo entonces que la complejación mejora la actividad secuestrante del radical OH·.

Capacidad para secuestrar el radical ROO·



La capacidad del complejo de secuestrar radicales ROO· puede ser evidenciada a través de un aumento del tiempo de inducción (fase lag) (35 min) en comparación con el ligando libre (5,8 min).

Técnica ABTS



A altas concentraciones (50 y 100 µM) el ácido clorogénico y su complejo con oxovanadio(IV) se comportan de la misma manera que el trolox, secuestrando casi el 95 % del catión radical ABTS^{•+}.

Conclusiones

El nuevo complejo sintetizado es un buen agente antioxidante frente a los radicales O₂^{•-}, OH[•], ROO[•] en comparación con el ligando libre, en cambio ambos se comportan de manera similar frente al radical DPPH[•] y el catión radical ABTS^{•+}.

Referencias

- ¹ Y. Kono, S. Sashine, T. Yoneyama, Y. Sakamoto, Y. Matsui, H. Shibata, Biosci. Biotechnol. Biochem. (1998) 62:22-27
- ² R.K.Sharma, M.R. Hajaligol, P.A. Martoglio Smith, J.B. Wooten, V. Baliga, Energ. Fuels (2000) 14:1083-1093
- ³ S. Rakshit, L. Mandal, B. Chandra Pal, J. Bagchi, N. Biswas, J. Chaudhuri, A. Acharya Chowdhury, A. Manna, U. Chaudhuri, A. Konar, T. Mukherjee, P. Jaisankar, S. Bandyopadhyay, Biochem. Pharmacol. (2010) 80:1662–1675