

IDENTIFICACIÓN DE UNA NUEVA ANTOCIANA ACILADA OBTENIDA DE *IPOMOEA CAIRICA*

Andrew G. Mercader y Alicia B. Pomilio

Ibimol (ex PRALIB) (CONICET, UBA), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, C1113AAD Buenos Aires, Argentina. pomilio@ffyb.uba.ar; mercaderandrew@gmail.com

Introducción

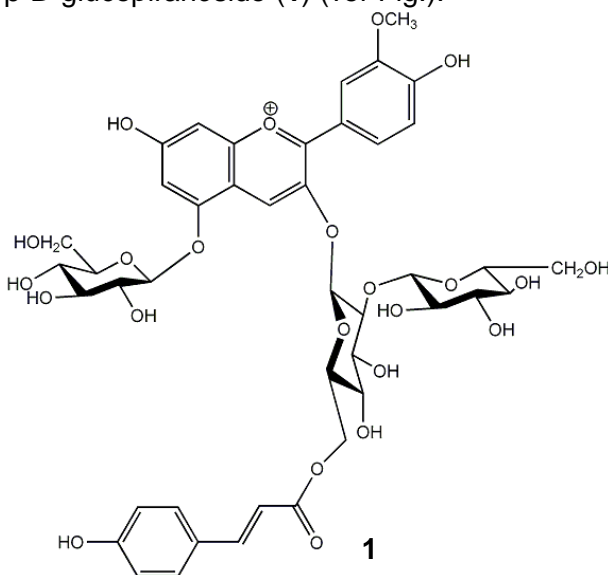
Ipomoea cairica (L.) Sweet es una planta trepadora argentina de gran difusión en nuestro país, que pertenece a la familia de las Convolvuláceas^[1]. Esta familia si bien está evolutivamente vinculada a las Solanáceas, ha sido poco estudiada desde el punto de vista químico. No obstante, varias de las especies pertenecientes a las Convolvuláceas son de uso comercial^[2].

En un estudio preliminar que realizáramos sobre las antocianinas de *Ipomoea cairica*, la presencia de compuestos acilados despertó nuestro interés. Estos compuestos son termolábiles, sensibles a la presencia de luz y de oxígeno y al pH, en particular debido a la unidad estructural de catión flavilio (ion oxonio). Es por ello que las etapas de extracción y purificación requieren cuidados extremos, que incluyen el uso de atmósfera de nitrógeno (o argón) y protección de la luz.

Se hace necesario controlar el contenido de antocianinas durante cada una de las etapas requeridas para alcanzar la máxima pureza de cada compuesto para poder elucidar su estructura química.

Las antocianinas aciladas obtenidas en la etapa previa mostraron actividad antioxidante, antimutagenicidad y acción hipoglucemiante.

En este trabajo nos referiremos a la extracción, purificación y elucidación estructural de una de estas antocianinas, que se describe aquí por primera vez, y cuya estructura corresponde a peonidina-3-O-(2-O-(4-O-(*E*)-cafeoil- β -D-glucopiranosil)- β -D-glucopiranosido)-5-O- β -D-glucopiranosido (**1**) (ver Fig.).



Materiales y Métodos

Material vegetal: Las plantas de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet fueron identificadas por especialistas taxónomos, guardando material de herbario que incluía flores.

Extracción y aislamiento de la antocianina: Las flores se extrajeron por inmersión en HCl/MeOH 0,01% y 0,1%, así como también con ácido acético/MeOH. Los cromatogramas de los extractos crudos obtenidos con distintos medios fueron comparados respecto al rendimiento y degradación.

La separación de las antocianinas se realizó mediante HPLC preparativo. La purificación cuidadosa con detección a 310 nm condujo al compuesto **1**.

La determinación estructural se realizó por métodos químicos y análisis espectroscópico.

Hidrólisis: Se llevaron a cabo hidrólisis ácida y alcalina. La hidrólisis ácida permitió determinar la aglicona, los azúcares y la presencia de un derivado del ácido cinámico.

La hidrólisis alcalina se realizó en NaOH 2N; los componentes de la mezcla de reacción se identificaron por HPLC analítica.

Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC): Se utilizaron Solvente A (H_3PO_4 1,5% en H_2O) y Solvente B (H_3PO_4 1,5%, CH_3COOH 20%, MeCN 25% en H_2O) para cromatografía analítica y Solvente A (CH_3COOH 15% en H_2O) a 520 nm con detector de arreglo de diodos y Solvente B (CH_3COOH 15%, MeCN 30% en H_2O) para HPLC preparativa a 310 nm.

Análisis espectroscópicos: Los espectros UV-Vis se registraron en un espectrofotómetro en 0,01% de HCl-MeOH. La prueba de desplazamiento batocrómico se llevó a cabo mediante la adición de $AlCl_3$ -MeOH al 5%.

Los espectros de 1H -RMN y ^{13}C -RMN se midieron en un espectrómetro Bruker 700 (Universidad de Heidelberg) en $DMSO-d_6$:TFA- d_1 = 9:1 con tetrametilsilano (TMS) como estándar interno.

Resultados y Discusión

El extracto crudo contenía varias antocianinas según análisis por HPLC, por lo que fue necesario realizar sucesivas cromatografías para la separación y purificación. Las antocianinas obtenidas resultaron ser derivados de cianidina y peonidina, siendo de interés una de ellas, que no había sido descrita anteriormente. Por hidrólisis ácida se obtuvieron: peonidina y glucosa y en el hidrolizado se obtuvo ácido cafeico. Por hidrólisis alcalina, la antociana dio peonidina 3-O-soforósido-5-O-glucósido.

En los espectros UV-Vis, la absorción alrededor de 315 nm confirmó la presencia del residuo cafeoiló en la molécula. Los máximos de absorción ($\lambda_{vis.m\acute{a}x}$) de **1** no mostraron desplazamiento batocrómico por adición de $AlCl_3$ (debido a la ausencia de catecol y a que las posiciones 3 y 5 de la aglicona estarían ocupadas). Se estimó que el número de acilos correspondía a uno en base a los valores de $E_{acilo.m\acute{a}x}/E_{vis.m\acute{a}x}$ (absorbancia a $\lambda_{acilo.m\acute{a}x}$ /absorbancia a $\lambda_{vis.m\acute{a}x}$) de 0,49.

La estructura completa se estableció por análisis de los espectros ^{13}C - y 1H -RMN, con experimentos 2D. Las señales a campos bajos (δ_H 6 -9) correspondieron a la aglicona y al ácido cafeico. Se pudo determinar la presencia de peonidina por las señales características correspondientes al núcleo benzopirilio y al anillo B aromático 1,3,4-trisustituido. La señal adicional a campos altos se debió al metoxilo (δ_H 3,90; δ_C 56,20 ppm). La presencia de la unidad de *trans*(*E*)-cafeoiló en el espectro se confirmó con el núcleo aromático 1,3,4-trisustituido teniendo las señales de protones (*E*)-olefínicos con una constante de acoplamiento grande ($J_{\alpha,\beta}$ = 16 Hz). A campos altos (δ_H 3-6), los espectros mostraron también que las 3 unidades de azúcar de la molécula correspondían

a glucosa con la configuración β -D-glucopiranosilo, debido a las resonancias a un campo menor (δ_H 4,78-5,68) de todos los protones anoméricos y los valores J grandes (J = 7,2-9,4 Hz) de los protones anoméricos y los protones del anillo. Al comparar los espectros de la antociana acilada con la no acilada y con la aglicona se pudo apreciar las posiciones de glicosidación y la de acilación. También se determinó la unión interglicosídica como $\beta(1\rightarrow2)$. Los espectros NOESY y HMBC dieron más datos directos sobre la presencia de la unión β -D-Glu_b(1 \rightarrow 2)Glu_a del sofrósido.

Se confirmaron las relaciones de conexión entre una aglicona, tres azúcares y el grupo acilo por mediciones NOESY y HMBC. Además, los distintos picos de correlación entre G_a-4H y las señales de carbono del carbonilo del acilo (δ_C 166,5) proporcionaron prueba decisiva de que el grupo acilante estaba unido en G_a-4OH.

En conclusión, el compuesto **1** fue inequívocamente determinado como peonidina-3-O-(2-O-(4-O-(E)-cafeoil- β -D-glucopiranosil)- β -D-glucopiranosido)-5-O- β -D-glucopiranosido, mediante métodos químicos y análisis de datos espectroscópicos. No había sido descrito con anterioridad.

Se realizaron estudios de estabilidad del compuesto acilado y sin acilar.

Agradecimientos

Se agradece a: IBIMOL (ex PRALIB) (CONICET, UBA); e INIFTA (CONICET, UNLP).

Referencias

- [1] Stefanovic S., Austin D.F., Olmstead R.G. Classification of Convolvulaceae: a phylogenetic approach. *Syst. Bot.* 28, 791-806 (2003).
- [2] Eich E. *Solanaceae and Convolvulaceae - Secondary Metabolites: Biosynthesis, Chemotaxonomy, Biological and Economical Significance*. Springer: Berlin, Heidelberg, 2008.