

DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ACIDO ELÁGICO Y SUS DERIVADOS

Sgariglia, Melina A., Soberón, J.Rodolfo, Sampietro, Diego A. y Vattuone, Marta A.

Instituto de Estudios Vegetales "Dr. Antonio R. Sampietro". Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. UNT. Ayacucho 471 (4000) San Miguel de Tucumán. Tucumán.
melinasgariglia@gmail.com

Introducción: La infusión de ritidoma de *Caesalpinia paraguariensis* Burk. (Fabaceae) se sometió a varios procedimientos de fraccionamiento biodirigido, con el fin de purificar compuestos antioxidantes. Se lograron aislar ácido elágico y tres derivados por HPLC-FR con gradiente de elución y detección UV (Sgariglia, M.A. *et al.*, 2008, 2009).

La caracterización química de estos compuestos se llevó a cabo por cromatografía en capa fina bidimensional (CCF-2D), espectroscopía UV-VIS y HPLC con detector de arreglo de diodos acoplado a espectrometría de masas por electrospray [HPLC(DAD)-EM(ESI)].

En este trabajo exponemos en forma compendiada la metodología necesaria para caracterizar este tipo de compuestos, ya que los datos bibliográficos útiles en este sentido se encuentran dispersos, las drogas estándares de derivados de ácido elágico no están disponibles comercialmente y los libros de referencia para investigación fitoquímica no proponen métodos de análisis preliminares.

Metodología

Muestras: M25 y tres derivados purificados por HPLC-FR (M22, M24 y M21).

Cromatografía en capa fina (CCF) en cromatofolio de celulosa de 6,5 x 6,5 cm, desarrollada en dos sistemas de solventes (1º. TBA: *ter*-butanol/ácido acético/agua, 3:1:1; 2º. ác. acético acuoso 15% v/v). Las placas se revelaron bajo lámpara UV de 365 nm, con vapores de NH₃ y reactivos para compuestos fenólicos NP (ácido 2-aminoetilesterdifenilbórico 1% p/v)/PEG (poletilenglicol 4000, 5% p/v) y observación bajo lámpara UV de 365 nm.

Las muestras se disolvieron en metanol (p.a.) a concentraciones entre 10-100 µg/ml. Se realizaron espectros de absorción UV-Vis (210-500 nm en espectrofotómetro de barrido continuo), y se midieron nuevamente luego de agregar reactivos químicos (NaOMe; NaAcO; H₃BO₃; AlCl₃/HCl; Mabry, T.J. *et al.*, 1970) para observar corrimientos o modificaciones de máximos de absorción característicos.

Las muestras (0,5 mg c/u) se analizaron en un HPLC (DAD)-MS (ESI) para confirmar la pureza mediante el espectro UV (DAD) del pico de HPLC correspondiente a cada compuesto purificado, y para obtener la masa molecular de los mismos. Además, fue

posible calcular las composiciones moleculares más probables introduciendo los valores m/z de los iones en un programa de cálculo.

Luego se analizó la coherencia entre los datos obtenidos por los diferentes métodos aplicados para analizar cada compuesto, y se los comparó con los de la literatura.

Resultados

M25 (ác. elágico): Rf (TBA): 0,21-0,42, Rf (ác. acético): 0; se observó una mancha color rosa intenso sobre la placa cromatográfica expuesta a luz UV de 365 nm, ésta cambió a un tono naranja al exponerla a vapores de NH₃ y luego luz UV₃₆₅, y reveló color blanco verdoso brillante luego de pulverizar NP/PEG y exponer la placa a luz UV₃₆₅. Espectros UV: $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH) (nm) (ϵ): 255,5 (39.790), 358,0 (9.182); $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH/ MeONa): 254,5 (18.120), 279,5 (24.220), 356,5 (6.222); $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH/ AcONa): 253,0 (16.701), 276,5 (22.257), 355,0 (6.402); $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH/AcONa-H₃BO₃): 263,5 (35.092), 378,5 (5.980); $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH/AlCl₃-HCl*): 248,0 (19.268), 271,0 (40.015), 385,0 a 368,0* (5.920). EM: [M - H]⁻ m/z 301,14; [M+H]⁺ m/z 303,14; [M+Na]⁺ m/z 325,22. M25 tiene una masa molecular de 302,1480 u y su composición molecular es C₁₄H₆O₈ con 12 insaturaciones.

M22 (ác. 3-O-metilelágico): Rf (TBA): 0,55-0,63, Rf (ác. acético): 0; se observó una mancha color rosa oscuro al exponer la placa a luz UV₃₆₅, ésta no cambió de color al exponer a vapores de NH₃ y tampoco al pulverizar con NP/PEG y observar bajo luz UV₃₆₅. Espectros UV: $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH) (nm) (ϵ): 249,9 nm (25.650), 346sh, 367,2 nm (8.400). EM: [M + H]⁺ m/z 317,0289; [M - H]⁻ m/z 315,0142; [M - Me]⁻ m/z 300,9970. M22 tiene una masa molecular de 316,0141 u y su composición molecular es C₁₅H₈O₈ con 12 insaturaciones.

M24 (ác. 3,3'-O-dimetilelágico): Rf (TBA): 0,65; Rf (ác. acético): 0; se observó una mancha color rosa intenso sobre la placa cromatográfica expuesta a luz UV de 365 nm, ésta cambió a un tono naranja al exponer a vapores de NH₃ y luz UV₃₆₅, y viró a blanco brillante después de pulverizar NP/PEG y exponer a luz UV₃₆₅. Espectros UV: $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH) (nm) (ϵ): 246,9 (30.811), 288 sh, 361 sh, 375,7 (9.360); $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH/ MeONa): 247,0 (23.900), 273sh, 325sh, 415,4 (11.820); $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH/ AcONa): 253,0 (30.100), 302sh, 368sh, 407,2 (8.500); $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH/AcONa-H₃BO₃): 246,9 (30.811), 288 sh, 361 sh, 375,7 (9.360); $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH/AlCl₃): 246,9 (30.811), 288 sh, 364 sh, 373,7 (9.310). EM: [M + H]⁺ m/z 331,0467, [M - H]⁻ m/z 329,0311, [M - Me]⁻ m/z 315,0114. M24 tiene una masa molecular de 330,0311 u y su composición molecular es C₁₆H₁₀O₈ con 12 insaturaciones.

M21 (3,3'-O-dimetilelágico-4-β-D-xilopiranosido): Rf (TBA): 0,20-0,35; Rf (ác. acético): 0,07; se observó una mancha color rosa intenso sobre la placa cromatográfica expuesta a luz UV de 365 nm, cambió a un tono naranja al exponer a vapores de NH₃ y luz UV₃₆₅, y viró a blanco brillante después de pulverizar NP/PEG y exponer a luz UV₃₆₅. Espectros UV: $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH) (nm) (ϵ): 244,9 (21.323), 266 sh, 285 sh, 368,5 (3.376); $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH/ MeONa): 243,0 (17.769), 281,5 (sh, 12.971), 318,0 (sh, 5.510), 407,9 (3.376); $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH/ AcONa): 245,0 (21.323), 287,0 (sh, 11.017), 319,4 (sh, 4.798), 409,3 (2.755); $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH/AcONa-H₃BO₃): 253,0 (30.100), 287,0 (sh, 11.017), 319,0 (sh, 3.554), 368,5 (2.558); $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH/AlCl₃): 244,9 (21.323), 266 sh, 285 sh, 368,5 (3.376). EM: [M + H]⁺ m/z 463,0859, [M+Na]⁺ a m/z 485,0688 y [M- Xil + 2H]⁺ m/z 331,05. M21 tiene una masa molecular de 462,0859 u y su composición molecular es C₂₁H₁₈O₁₂ con 13 insaturaciones.

Conclusiones: la metodología empleada permitió caracterizar químicamente ácido elágico y derivados. Los datos presentados describen varios aspectos del comportamiento químico de este tipo de compuestos y fue posible obtenerlos con baja cantidad de muestra (≈ 1 mg), una variable crítica en el proceso de purificación de productos naturales.

Referencias

- Mabry T.J., Markham, K.R. y Thomas M.B. (1970). Chapter IV en: The Systematic Identification of Flavonoids. Springer-Verlag. New York. págs.: 35-39.
- Sgariglia, M.A., Soberón, J.R., Sampietro, D.A., Quiroga E.N., Vattuone, M.A. (2008). Biocell 32 (2).
- Sgariglia, M.A.; Soberón, J.R.; Sampietro, D.A.; Quiroga, E.N. and Vattuone, M.A. (2009). II Reunión De Biotecnología Aplicada a Plantas Medicinales y Aromáticas. p. 131 (C42). Córdoba (Argentina).