

Estudio químico y espectroscópico del polisacárido de la goma de *Cedrela odorata*

Nola González de Troconis¹, Maritza Martínez¹, Gladys León de Pinto^{1*}
y Alí Bahsas²

¹Centro de Investigaciones en Química de los Productos Naturales,
Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia,
Apartado 526. Maracaibo, Venezuela.

²Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear, Departamento de Química,
Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Apartado 5101. Mérida, Venezuela.

Recibido: 25-07-00 Aceptado: 17-04-01

Resumen

El polisacárido, aislado de la goma de *Cedrela odorata*, contiene galactosa, arabinosa, ramnosa, ácido glucurónico y su derivado 4-O-metilo. La preparación de una serie de productos degradados, obtenidos por procesos de hidrólisis ácida y degradación de Smith, permitió conocer los rasgos estructurales interesantes del polisacárido estudiado. Las evidencias químicas y espectroscópicas indicaron que el núcleo de la estructura es un heteropolisacárido constituido por residuos de 3-O- -D-galactosa, 4-O- -L-ramnosa y ácidos urónicos. Las cadenas laterales de arabinosa son de una longitud no mayor de tres unidades.

Palabras clave: *Cedrela odorata*; Meliaceae; estudio estructural; exudado gomoso;

Chemical and spectroscopic study of the polysaccharide from *Cedrela odorata* gum

Abstract

The polysaccharide, isolated from *Cedrela odorata* gum, contains galactose, arabinose, rhamnose, glucuronic acid and its 4-O-methyl derivative. The preparation of a series of degraded products, obtained by acid hydrolysis process and Smith degradation led to know interesting structural features of the studied polysaccharide. Chemical and spectroscopic evidence indicated that the backbone of the structure is an heteropolysaccharide, constituted of 3-O- -D-galactose, 4-O- -L-rhamnose and uronic acid residues. Side-chains of arabinose are up to three units long.

Key words: *Cedrela odorata*; gum exudates; Meliaceae; structural study.

Introducción

Se ha demostrado la capacidad de producir goma de especies diseminadas en Venezuela (1). Se han publicado característi-

cas fisicoquímicas y los rasgos estructurales de algunas de las gomas, entre las que se destacan aquéllas provenientes de *Enterolobium cyclocarpum* (2, 3) *Cercidium praecox*

* Autor para la correspondencia. E-mail: gleon@luz.ve.

(4, 5), *Laguncularia racemosa* (6, 7), *Acacia macracantha* (8) y *Acacia tortuosa* (9).

Cedrela odorata, Meliaceae, árbol diseminado en las zonas bajas del Oriente y Occidente de Venezuela, Sur América, produce goma clara con características fisicoquímicas interesantes (10). El presente trabajo se refiere al estudio químico y espectroscópico del polisacárido aislado de esta goma.

Materiales y Métodos

Origen y purificación de la muestra

La goma se colectó, después de practicar heridas a nivel del tronco, en tres especímenes de *Cedrela odorata*, ubicados en la Costa Oriental del Lago de Maracaibo, Edo. Zulia, Venezuela, por las Profesoras Gladys León de Pinto y Carmen Clamens. La especie fue debidamente identificada por la Lic. Carmen Clamens, especialista en taxonomía, de la Universidad del Zulia.

La goma cruda se purificó y examinó por los métodos usuales (11).

Métodos generales

Los sistemas de solventes usados en cromatografía de papel fueron (v/v): a) ácido acético, acetato de etilo, ácido fórmico, agua (3:18:1:4); b) benceno, butan-1-ol, piridina, agua (1:5:3:3, parte superior); c) etanol, ácido fosfórico 0,1 N, butan-1-ol (10:5:1); y d) butan-1-ol, etanol, agua (4:1:5), parte superior. Antes de usar el solvente (c) los papeles se sumergieron en solución 0,3 M de ortofosfato de sodio dihidrogenado y se secaron al aire. Las muestras se concentraron en volumen, previo a su análisis cromatográfico. La rotación óptica de las gomas (0,7-1% en agua) se determinó, a temperatura ambiente, en un polarímetro Atago Polax-D. La cuantificación de los azúcares neutros se efectuó por el método fenol-sulfúrico (12) y los ácidos urónicos se determinaron por volumetría de neutralización, previa electrodiálisis exhaustiva del polímero.

Información espectral

La espectroscopía de infrarrojo se llevó a cabo en un espectrofotómetro Shimadzu de doble haz. Se usó bromuro de potasio como base para la preparación de la pastilla.

Los espectros de r.m.n de Carbono-13 unidimensionales se registraron en un AM-300 Bruker con el sistema de transformada de Fourier. Las condiciones experimentales utilizadas se describieron previamente (3). Las muestras (100 mg) se disolvieron en óxido de deuterio (1 mL) y se añadieron unas gotas de 1,4-dioxano como standard interno.

Los espectros Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT 135), Heteronuclear Multiple Quantum Coherence (HMQC) y Heteronuclear Multiple Bond Correlation (HMBC) se corrieron en un espectrómetro Bruker Avance DRX-400.

Componentes neutros y acídicos

La separación de dichos componentes se llevó a cabo por cromatografía de columna; previa hidrólisis de la goma con H_2SO_4 1 N x 8h, se usó una columna (41 x 2,6 cm) de resina de Duolite A-4 en la forma de formiato. La elución con agua y luego con ácido fórmico (5%), permitió obtener las fracciones neutras y acídicas, respectivamente. Los detalles experimentales se describieron previamente (11).

Preparación y análisis de la goma degradada A

La goma purificada (2,4 g) se hidrolizó con ácido sulfúrico 5mM (130 mL) por 96 horas a 100°C. El hidrolizado se trató como se describió previamente (11). El producto seco (0,8 g) se obtuvo por liofilización. Se tomaron alícuotas durante el progreso de la reacción. El dializado en agua destilada de las alícuotas y la goma degradada A se estudiaron por métodos hidrolíticos y cromatografía de papel.

Preparación y examen de la goma degradada B

La goma degradada A (1g) se disolvió en agua (29,4 mL) y se añadió la solución de metaperyodato de sodio 0,5 M (29,4 mL). La reacción se llevó a cabo en las condiciones descritas anteriormente (3,8). La goma degradada B se estudió por hidrólisis ácida y por cromatografía (papel y HPLC).

Estudios de degradación de Smith

La goma original se sometió a tres degradaciones sucesivas. Se prepararon los polisacáridos I, II y III con los rendimientos señalados (16,7, 14,0 y 8,5 %). La preparación de dichos polisacáridos se repitió para verificar el rendimiento y disponer de suficiente muestra para su análisis. Las condiciones experimentales, fueron similares a las descritas previamente (3,5).

Resultados y Discusión

El estudio analítico de la goma original mostró que está constituida por galactosa, arabinosa, ramnosa y ácidos urónicos, Tabla 1. La viscosidad intrínseca es mayor que la reportada para muchas gomas de las especies de *Acacia* (13-15), *Parkia* (16), pero menor que la correspondiente a *Grevillea* (17). El contenido de nitrógeno es bajo (0,12 %), comparable al reportado para la goma de *Enterolobium cyclocarpum* (2), pero mucho menor que aquéllos valores de algunas gomas de *Acacia* (14). El valor de la rotación específica (14,3°), positiva y baja, es una evidencia del posible predominio de los residuos de -D-galactosa y de -L-arabinosa (7). La acidez de la goma (25%) es comparable a la reportada para otros exudados gomosos (3,8). El ácido glucurónico y su éter, responsables de la acidez, deben tener un significativo grado de neutralización como lo evidencia el porcentaje, relativamente alto, de cenizas (6%), Tabla 1.

La goma degradada A, obtenida por hidrólisis ácida suave, tiene un contenido de arabinosa menor que el de la goma original,

Tabla 2, debido a que dichos residuos son susceptibles al medio ácido. Por otra parte, la proporción relativa de los ácidos urónicos se incrementó. Se ha descrito la resistencia de los enlaces uronosil a las condiciones usadas para la preparación de este polímero (9). El análisis cromatográfico de diferentes alícuotas, realizado a diferentes intervalos de tiempo (0-57 horas), durante la preparación del polímero evidenció la labilidad de los residuos de arabinosa, cuya separación se produjo a las 2 horas del proceso; en contraste, con la eliminación de galactosa que comenzó a las 57 horas; no se observó remoción de ramnosa.

La goma degradada B, núcleo de la estructura, obtenida por degradación de Smith en condiciones drásticas, es un heteropolímero constituido por galactosa, ramnosa y ácido glucurónico; los azúcares neutros están en la relación 3:1. El bajo rendi-

Tabla 1
Datos analíticos de la goma de *Cedrela odorata*

Humedad, %	16,6
Ceniza, %	6,0
Nitrógeno ^a , %	0,12
Proteínas ^a , % (N x 6.25)	0,75
Calcio ^a , %	0,17
Magnesio ^a , %	0,05
D, en agua ^a , grados	14,3
Viscosidad intrínseca ^a , mL/g	50
Peso equivalente ^a , g	707
Ácidos Urónicos, %anhídridos ^{a,b}	25
Composición de Azúcares, después de la hidrólisis, % galactosa	
Galactosa	32
Arabinosa	25
Ramnosa	18

^aCorregido por humedad. ^bToda la acidez se debe a los ácidos urónicos.

Tabla 2
Composición de azúcares de los diferentes polímeros de *C. odorata*

Polímero	Azúcares				
	Gal	Ara	Ram	U.A	Gal/Ram
Goma original	32	25	18	25	2/1
Goma degradada A	37	4	26	33	1/1
Polisacárido I	32	10	23	35	1/1
Polisacárido II	53	5	19	23	3/1
Polisacárido III	69	-	22	9	3/1

U.A.= ácidos urónicos.

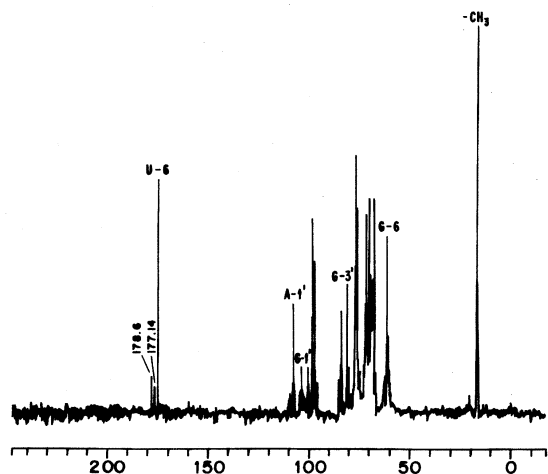


Figura 1. ^{13}C -NMR unidimensional de la goma original de *C. odorata*. U= ácidos urónicos, A'= -arabinosa, G=Galactosa, ' = comprometido en el enlace glicosídico.

miento del polímero no permitió la cuantificación de los ácidos urónicos; por lo tanto, no se pudo calcular la composición de azúcares.

Los polisacáridos I, II, y III, obtenidos por degradación de Smith sucesivas, presentan una composición química, Tabla 2, que evidencia un aumento relativo de los contenidos de galactosa y una disminución de los residuos de ácidos urónicos y arabinosa con el progreso de la degradación. La ausencia de residuos de arabinosa en el po-

lisacárido III sugiere que la longitud máxima de sus cadenas no es mayor que tres residuos. La poca variabilidad de los contenidos de ramnosa en los tres polisacáridos obtenidos y la idéntica relación galactosa/ramnosa en los polisacáridos II y III son posibles indicadores de su ubicación interna en la estructura. La presencia de ácidos urónicos en el polisacárido III y en la goma degradada B, demuestra la dificultad para la eliminación de dichos residuos (9).

El espectro i.r. de la goma original muestra las vibraciones de tensión y flexión características de los grupos funcionales OH, $-\text{CH}_2$, COO^- , $\text{C}=\text{O}$ y $\text{C}-\text{O}$ presentes en la estructura del polisacárido ácido.

La interpretación del espectro unidimensional de ^{13}C -NMR del polisacárido original, aislado de la goma de *C. odorata*, Figura 1, Tabla 3, se hizo con la ayuda de compuestos modelos adecuados, los cuales se seleccionaron con base en los resultados químicos y estudios previos sobre polisacáridos de plantas (3, 5, 7). Se asignan inequívocamente algunas señales del espectro; las señales que aparecen a campo bajo, (174,92; 177,14; 178,6 ppm) son asignables al C-6 de los ácidos urónicos; la región anómérica contiene las resonancias atribuibles a los carbonos anoméricos de los residuos 3-O- -L-arabinofuranosos (107,57 ppm) (3); 3-O- -D-galactosa (103,47; 104,16 ppm) y ácido 4-O-metil- -D-glucurónico

Tabla 3

Datos espectrales^a relevantes de los azúcares de la goma original y del polisacárido I de *C. odorata*

Tipo de enlace	Polímero	C. glicón	C. aglicón
— 3) Galp(1— ^b	A	103,47	81,02
	B	104,16 104,30	81,94
—3 -L-Araf (1— ^b	A	107,57	83,98
	B	107,10	-
-D-GlucpA (1— ^c	A	104,16 ^d	-
	B	104,30	-
4-OMe-Aglc(1— ^c	A	99,2	no se diferencia
	B	100,24	82,2
-Aglc(1— ^e	A	98,40	-
	B	no se diferencia	.

^aRelativos a la señal del 1,4 dioxano (δ 66.67 ppm). ^bLeón de Pinto *et al.*, 1986. ^cLeón de Pinto *et al.*, 1994. ^dLa señal del ácido glucurónico está superpuesta con uno de los ambientes del C-1 de la Gal. ^e León de Pinto *et al.*, 1996. Se observan señales inequívocas (ppm) del -COOH (179.0;176.34) grupos de acetilo (174.67; 20.44) y -CH₃ de ramnosa (16.68 ppm). A= goma original. B= polisacárido I.

(99,31 ppm) (5). La resonancia del ácido - glucurónico debe aparecer solapada con la correspondiente a galactosa. Se observa además la señal del carbono de los residuos -D-galactosa comprometido en el enlace glicosídico (81,02 ppm) y del C-3 enlazado de -L-arabinofuranosa (83,97 ppm) (3). Se di-

ferencia inequívocamente la señal del metilo de ramnosa a campo alto (16,67 ppm) (7).

En el espectro del polisacárido I, Figura 2, se observan las mismas señales descritas para goma original; a campo bajo, se resuelven mejor las señales atribuibles al C-6 de los ácidos urónicos; aquella que aparece

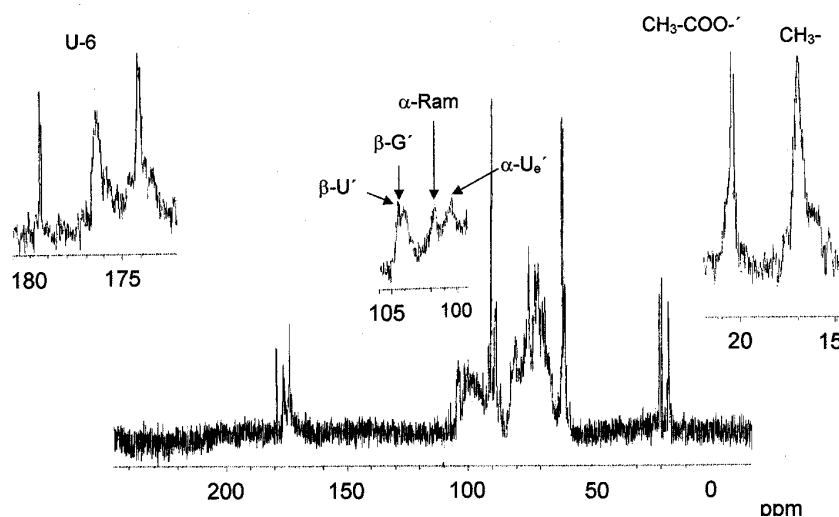


Figura 2. ¹³C-NMR unidimensional del polisacárido I de la goma de *C. odorata*. U= ácidos urónicos, G=Galactosa, ' = comprometido en el enlace glicosídico.

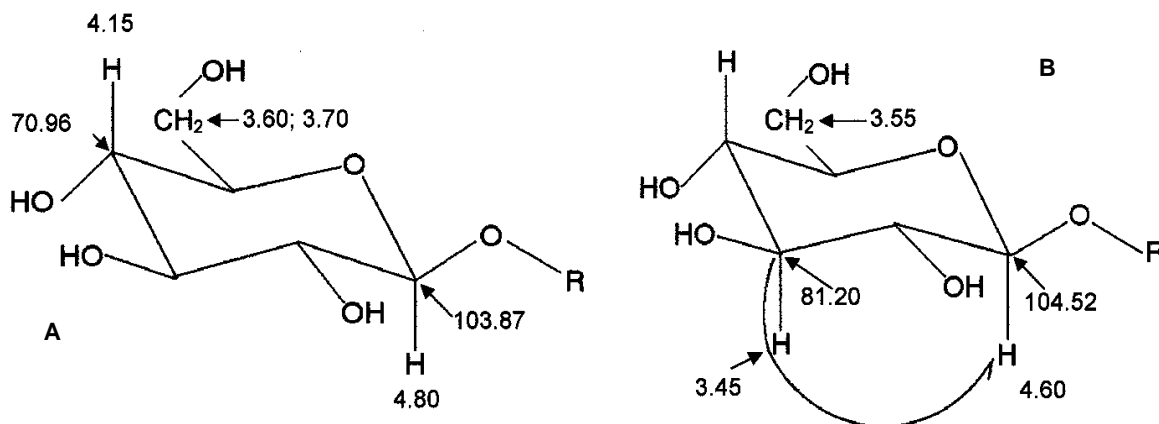


Figura 3. Asignaciones espectrales relevantes de los residuos de galactosa presentes en la goma original de *C. odorata*.

a 179,47 ppm se relaciona, probablemente, con residuos de ácido -D-glucurónico cuyo grupo -COOH se encuentren neutralizados por metales (7); mientras que la señal que aparece a 174,07 ppm se corresponde con la que aparece a campo alto (20,44 ppm). y pueden atribuirse a grupos acetilo (7). No hay evidencia de residuos de 6-O-galactosa.

La información espectral, descrita anteriormente, se complementó con la aplicación de las técnicas DEPT 135, HMBC y HMQC. Los resultados obtenidos clarifican varios aspectos estructurales del polisacárido en investigación. Se observan varios sistemas bien definidos, como la señal del C-1 de galactosa (103,87 ppm) (3) asociada a un protón (4,80 ppm) en el HMQC. Por otra parte, el HMBC revela que dicho carbono anomérico se correlaciona a cuatro enlaces (poco intensos) con los protones de una función alcohol primaria, cuyos desplazamientos son muy cercanos (3,60, 3,70 ppm) y con otro protón a (4,15 ppm), Figura 3A; este último en el HMQC se observa está unido directamente al carbono que aparece a (70,96 ppm). Estos resultados corroboran la asignación del C-4 (70,96 ppm) de los residuos de 3-O-galactosa presentes en la estructura. Se observa además, otro tipo de residuo de 3-O-galactosa cuyo carbono anomérico aparece a 104,52 ppm y está unido directamente a un protón (4,60 ppm), el

cual, por HMBC, interacciona a cuatro enlaces con los protones (3,55 ppm) de una función alcohol primaria y a su vez interacciona a tres enlaces con el C que aparece a 81,2 ppm de los residuos de 3-O-galactosa, Figura 3B. La existencia de los protones anoméricos a 4,60 ppm y 4,80 ppm indican que la configuración de los enlaces en la galactosa son . Estos resultados han sido observados por otros autores (18).

Los espectros unidimensional y bidimensional muestran la señal inequívoca del metilo de la ramnosa (17,42 ppm); en el HMQC se observa la señal a 101,29 ppm correspondiente al C-1 de ramnosa y el protón (5,10 ppm) unido a este carbono, Figura 4A. Se observan además tres tipos de protones metílicos (1,2, 1,3 y 1,4 ppm), lo cual indica la existencia de tres tipos de ramnosa en la estructura investigada; el HMBC demostró que los protones metílicos (1,2 ppm) interaccionan con los carbonos C-5 (69,32 ppm) y C-4 (72,2 ppm), Figura 4B; estos son, probablemente, residuos terminales. El otro tipo de ramnosa con los protones metílicos (1,3 ppm) se interrelacionan, a tres enlaces, con C-4 (82,38 ppm) y, a cuatro enlaces, con C-3 (71,5 ppm), Figura 4C. Por otra parte, el otro tipo de ramnosa con los protones metílicos (1,4 ppm) está interactuando, a dos enlaces, con el C-5 (69,04 ppm) y C-4 (82,38 ppm), Figura 4D. Estas evidencias están de acuer-

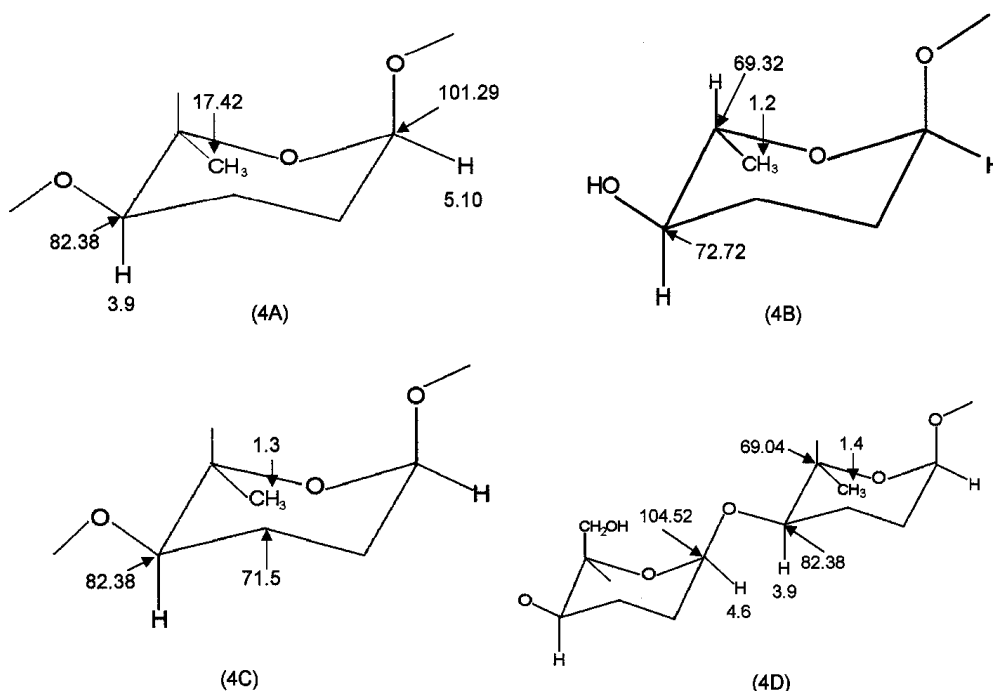


Figura 4. Asignaciones espectrales relevantes de los residuos de ramosa presentes en la goma original de *C. odorata*.

do con la presencia de residuos de ramosa 4-O-enlazados.

El carbono involucrado en el enlace glicosídico (82,38 ppm) está interaccionando, a tres enlaces, con un protón (4,60 ppm), Figura 4D, el cual, como se describió anteriormente, está unido al carbono anomérico (104,52 ppm), asignable a residuos de 3-O-galactosa; la configuración de esta ramosa 4-O-enlazada es, probablemente porque el C anomérico (101,29 ppm) tienen asociado un protón a campo relativamente bajo (5,10 ppm) (18), Figura 4A.

Se observan evidencias interesantes para los ácidos urónicos, representados por el ácido -D-glucurónico, ácido -D-glucurónico y el ácido 4-O-metil- -D-glucurónico. El carbono anomérico del ácido -D-glucurónico (104,52 ppm) está asociado con el protón (4,60 ppm), el cual por HMBC interactúa, a cuatro enlaces, con un grupo carboxilato y además con un carbono (76,80 ppm), a tres enlaces, asignable al C-3 o al

C-5, Figura 5A. El carbono anomérico (98,71 ppm) del ácido -D-glucurónico, Figura. 5B, está asociado con el protón (5,28 ppm), el cual interacciona, a tres enlaces, con un carbono (76,80 ppm), asignable al C-3 o al C-5; esta evidencia confirma lo descrito en el espectro unidimensional del polisacárido I. Por otra parte, en el espectro unidimensional de la goma original aparece la señal del metoxilo (60,4 ppm) y de C-1 (99,2 ppm) del ácido 4-O-metil- -D-glucurónico; Figura 1; en el HMQC se observa que el C-1 está unido al protón que aparece a 4,95 ppm; el carbono portador del metoxilo (82,88 ppm) se relaciona con el con el protón (3,47 ppm). En el HMBC este protón (3,47ppm) se correlaciona, a tres enlaces, con el carbono del grupo metoxilo (60,40ppm), Figura 5C.

Las evidencias químicas y espectroscópicas indican que el núcleo del exudado gomoso de *C. odorata* corresponde a un ramogalactan ácido constituido por residuos

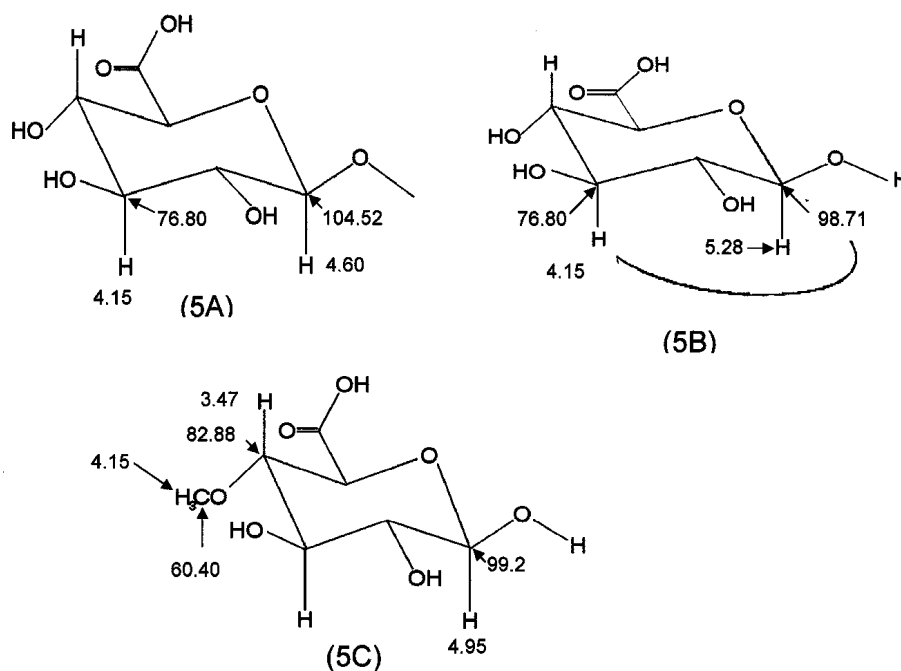


Figura 5. Asignaciones espectrales relevantes de los residuos de ácidos urónicos presentes en la goma *C. odorata*.

3-O- -D-galactosa, 4-O- -L-ramnosa y ácidos urónicos. Las ramificaciones del esqueleto central están representados por cadenas de arabinosa de una longitud no mayor de tres residuos. Existen evidencias de la existencia de residuos terminales de ramnosa y ácidos urónicos.

Este trabajo demuestra que el concurso de los espectros uni- y bidimensionales pueden proporcionar resultados valiosos para la dilucidación estructural de los polisacáridos derivados de plantas.

Agradecimiento

Los autores expresan su agradecimiento al CONDES, La Universidad del Zulia, Venezuela por el financiamiento recibido para los diferentes proyectos de investigación sobre "polisacáridos derivados de plantas" (exudados gomosos); los cuales han nutrido la química de carbohidratos y han contribuido a establecer criterios para el uso racional de estos polímeros a mediano plazo.

Referencias Bibliográficas

1. CLAMENS C., RINCÓN F., VERA A., SANABRIA L., LEÓN DE PINTO G. *Food Hydrocolloids* en prensa 2000.
2. LEÓN DE PINTO G., LUDOVIC DE CORREDOR A. *Acta Científica Venezolana* 37: 92-93, 1986.
3. LEÓN DE PINTO G., MARTÍNEZ M., LUDOVIC DE CORREDOR A., RIVAS C., ANDOCANDO E. *Phytochemistry*:1311-1315, 1994.
4. LEÓN DE PINTO G., RODRÍGUEZ O., MARTÍNEZ M., RIVAS C. *Biochem Syst & Ecol* 21: 297-300, 1993.
5. LEÓN DE PINTO G., MARTÍNEZ M., RIVAS C. *Carbohydr Res* 260: 17-25, 1994.
6. LEÓN DE PINTO G., NAVA M., MARTÍNEZ M., RIVAS C. *Biochem Syst & Ecol* 21: 463-466, 1993.
7. LEÓN DE PINTO, G., GUTIÉRREZ DE GOTERA O., MARTÍNEZ M., OCANDO E., RIVAS C. *Carbohydr Polym* 35: 20-213, 1998.

8. MARTÍNEZ M., LEÓN DE PINTO G., RIVAS C., OCANDO E. ***Carbohydr Polym*** 29: 247-252, 1996.
9. LEÓN DE PINTO G., MARTÍNEZ M., BOLAÑO DE L. M., RIVAS C., OCANDO E. ***Phytochemistry*** 42: 53-56, 1998.
10. LEÓN DE PINTO G., GONZÁLEZ DE TROCÓNIS N., MARTÍNEZ M., CLAMENS C., VERA A., RIVAS C., OCANDO E. ***Ciencia*** 4: 47-52, 1996.
11. ANDERSON D.M.W., BELL P.C. ***Carbohydr Res*** 57: 215-221, 1977.
12. DUBOIS M., GILLES, K.A., HAMILTON J. K., REBERS R. A., SMITH F. ***Anal chem*** 28: 350-355, 1956.
13. MARTINEZ M., LEON DE PINTO G., RIVAS C. ***Phytochemistry*** 31: 535-536, 1992.
14. LEÓN DE PINTO G., MARTÍNEZ M., ORTEGA S., VILLAVICENCIO N., BORJAS L. ***Biochem Syst & Ecol*** 21: 19-24, 1982.
15. ANDERSON D.M.W., BRIDGEMAN M.M.E., LEÓN DE PINTO G. ***Phytochemistry*** 23: 575-577, 1984.
16. ANDERSON D.M.W., LEÓN DE PINTO G. ***Carbohydr Polym*** 21: 795-797, 1993.
17. ANDERSON D.M.W., LEÓN DE PINTO G. ***Phytochemistry*** 24: 77-79, 1985.
18. VOGT D.C., STEPHEN A.M., JACKSON G.E. ***Carbohydr Res*** 206: 333-339, 1990.