

Rasgos estructurales relevantes del polisacárido presente en la goma de *Pereskia guamacho*

Omaira Gutiérrez de Gotera^{1,*}, Omaira Áñez de Servodio¹, Gladys León de Pinto¹,
Ninoska Silva¹ y J. Manuel Igartuburu²

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

²Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz,
Apartado 40. 11510 Puerto Real, Cádiz, España.

Recibido: 08-04-08 Aceptado 30-10-09

Resumen

Se estudiaron los rasgos estructurales del polisacárido aislado del exudado gomoso de *Pereskia guamacho* por combinación de métodos químicos y espectroscopia de RMN-¹³C. Los productos degradados, obtenidos por hidrólisis ácida y degradación de Smith de la goma original, permitieron determinar que el esqueleto central del polisacárido es un heteropolímero complejo, constituido por ramnosa, galactosa y ácidos urónicos. Estos azúcares ácidos están representados predominantemente por el ácido 4-O- α -D-galacturónico y los 4-O-metil derivados del ácido α -D-glucurónico y α -D-galacturónico. Esta atípica estructura central del polisacárido de la goma de *P. guamacho* contrasta con el homopolímero, tipo β -D-(1 \rightarrow 3)galactano que se ha reportado para muchas gomas. Las cadenas laterales están constituidas por residuos de galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa y ácido glucurónico.

Palabras clave: exudado gomoso, *Pereskia guamacho*, estudio estructural, RMN-¹³C.

Relevant structural features of the polysaccharide present in *Pereskia guamacho* gum exudate

Abstract

Structural features of the polysaccharide isolated from *Pereskia guamacho* gum exudate were studied, by a combination of chemical methods with ¹³C-NMR spectroscopy. Degraded products obtained by acid hydrolysis and Smith-degradation of the original gum led to determine that the structural backbone of the polysaccharide is a complex heteropolymer, constituted by rhamnose, galactose and uronic acids. These sugar acids are represented mainly by 4-O- α -D-galacturonic acid and the 4-O-methyl derivatives of α -D-glucuronic acid and α -D-galacturonic acid. This atypical backbone of *P. guamacho* polysaccharide gum contrasts with the homopolysaccharide type β -D-(1 \rightarrow 3)galactan reported for many gums. The side-chains are constituted by galactose, arabinose, rhamnose, xylose and glucuronic acid.

Key words: gum exudate, *Pereskia guamacho*, structural study, ¹³C-NMR spectroscopy.

*Autor para la correspondencia: gut_omaira@latinmail.com

Introducción

Pereskia es un género extenso que comprende aproximadamente 16 especies de cactus primitivos. En Venezuela están presentes las especies *P. grandifolia*, *P. aculeata* y *P. guamacho*. Se han reportado algunos rasgos estructurales del heteropolisacárido aislado de las hojas de *P. aculeata* (1) y los estudios fisiocológicos de *P. guamacho* han permitido conocer su mecanismo de fotosíntesis (2).

La especie *Pereskia guamacho*, típica cactácea, caracterizada por su aspecto de árbol con hojas carnosas y espinas largas, es originaria de América tropical. Se localiza desde México hasta el norte de Sudamérica y se encuentra frecuentemente en las regiones costeras áridas del norte de Venezuela (3). Sus hojas son utilizadas como infusión en el tratamiento de cálculos renales, conjuntivitis y problemas hepáticos (4).

Esta planta conocida vulgarmente como guamacho, guamache, suspiro, supire y supí, produce un exudado gomoso de color ámbar claro, el cual se emplea como medicina casera para combatir enfermedades de las vías respiratorias (4).

Las propiedades espesantes y emulsificantes de las gomas o hidrocoloides han sido aprovechadas en la industria alimentaria, farmacéutica, cosmética, textil y vitícola; estas aplicaciones han incentivado el estudio de gomas de plantas nativas y altamente diseminadas en el país, con la posibilidad de usarlas como sustituto de muchos aditivos usados tradicionalmente (5, 6).

Se han reportado datos fisicoquímicos interesantes de la goma de *P. guamacho* como porcentaje de humedad, viscosidad, contenido de ceniza, acidez, composición de azúcares, entre otros (7). La presente investigación se refiere a los hallazgos estructurales relevantes del polisacárido aislado de la goma de *P. guamacho* por combinación de métodos químicos y espectroscopía de RMN-¹³C.

Materiales y métodos

Origen y purificación de la muestra

La estimulación de la producción de la goma se hizo mediante cortes a nivel del tallo y ramas de árboles de la especie *Pereskia guamacho*, ubicados en el Jardín Botánico de Maracaibo, estado Zulia, durante la época no lluviosa (enero a marzo 2007). La colección de la goma (104,5 g) se efectuó dos semanas después de la estimulación.

La goma cruda (50g) se disolvió en agua destilada (2L) con agitación suave por 24 h; la solución se filtró y se dializó en tubos de celofán (Spectra/por, Fisher Scientific) contra agua circulante por 48 h; y finalmente la goma pura se obtuvo por liofilización en un equipo Labconco Freeze-Dryer (48 h).

Métodos analíticos

El porcentaje de humedad se obtuvo por pérdida de peso de las muestras liofilizadas (100-200 mg), en una estufa a 105°C, por 18 h aproximadamente. La composición de azúcares neutros se determinó usando cromatografía de papel y el método de fenol-ácido sulfúrico (8). La cromatografía fue realizada en papel Wathman N° 1 y en 3MM en tres sistemas de solventes (v/v): (a) ácido acético, acetato de etilo, ácido fórmico, agua (8:18:3:9); (b) benceno, 1-butanol, piridina, agua (1:5:3:3), capa superior; (c) 1-butanol, etanol, HCl 0.1 M (1:10:5). Este último sistema de solvente permitió la identificación de los ácidos urónicos. El contenido de acidez fue determinado por volumetría de neutralización con hidróxido de sodio, utilizando soluciones acuosas de la goma (100 mg/25 mL) exhaustivamente electrodiálizadas. La rotación específica de la solución acuosa de la goma se midió a 25°C usando un polarímetro Perkin-Elmer 343.

Preparación de los productos degradados: gomas degradadas A y B

La goma degradada A (2,04 g) se preparó por hidrólisis ácida suave (5 mM H₂SO₄,

100°C, 96 h) de la goma purificada (6,18 g). La solución se neutralizó y dializó en agua destilada (24 h) y luego contra agua de chorro (48 h). Se tomaron varias alícuotas (2,5-5,0 mL) a diferentes tiempos de hidrólisis (2-96 h) las cuales se neutralizaron y dializaron en agua destilada (40 mL) por 24h y se analizaron por cromatografía de papel. La goma degradada B (0,33 g) se obtuvo a partir de la goma degradada A (8,32 g) por oxidación drástica con NaIO_4 0,5M, reducción con borohidruro de sodio e hidrólisis ácida.

Métodos espectroscópicos

Los espectros de RMN- ^{13}C se obtuvieron en un espectrómetro BRUKER AM-300. Las señales espectrales (6000-7000) fueron acumuladas durante la noche a 37°C y con completo desacoplamiento de protón. El ancho espectral fue 4000 Hz (200 ppm) y se usó el 1,4-dioxano como sustancia de referencia interna. Las muestras (150-200 mg) se disolvieron en óxido de deuterio (0,5 mL).

Resultados y discusión

El polisacárido de la goma de *Pereskia guamacho* contiene galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa (en menor proporción) y ácidos urónicos (tabla 1). El contenido de acidez (26%) es comparable al reportado para gomas de *Combretum* (9) y *Swietenia* (10); pero mayor que el correspondiente a muchas gomas de *Acacia* (11); y menor que el observado en exudados gomosos de *Laguncularia* (12) y *Cercidium* (13). Los áci-

dos urónicos están representados por ácido galacturónico, ácido glucurónico y sus 4-O-metil derivados. La presencia de ácido galacturónico es poco frecuente; sin embargo, se ha evidenciado en gomas de *Combretum* (9), *Spondias* (14) y *Sterculia* (15).

La existencia de xilosa en la estructura de la goma en estudio es un rasgo atípico en este tipo de polisacáridos; sin embargo, se ha reportado en otras gomas de *Grevillea* (16), *Cercidium praecox* (13) y *Acacia tortuosa* (17). Es interesante destacar el alto valor de rotación específica (+139°) de la goma original; este carácter dextrorrotatorio ha sido reportado para gomas de *Acacia*, serie *Gummiferae* (18).

La goma degradada A, obtenida por hidrólisis ácida suave de la goma original (33%), contiene ácidos urónicos y galactosa como constituyentes mayoritarios (tabla 1); también están presentes aunque en menor proporción: ramnosa, arabinosa y xilosa. El contenido de ácidos urónicos es relativamente mayor que el de la goma original, debido a la resistencia de los enlaces uronosil a las condiciones de hidrólisis ácida suave (10, 19). La disminución del contenido de arabinosa es el resultado de la vulnerabilidad de sus enlaces en medio ácido. La relación galactosa/ramnosa y galactosa/ácidos urónicos no varió en comparación con el polímero original. El carácter dextrógiro de este polisacárido se mantiene muy alto (+112°), lo cual sugiere un predominio de α -D-monosacáridos en la estructura.

Tabla 1
Datos analíticos de la goma de *Pereskia guamacho* y de sus productos degradados

Polímero	Rend (%) ^a	[α]D	Composición de azúcares (%)						
			Gal	Ara	Xil	Ram	AU	Gal/Ram	Gal/AU
Goma original	73	+139	50	11	2	11	26	5	2
Goma degradada A	33	+112	50	4	1	8	37	6	1.4
Goma degradada B	4	-	38	trazas	-	41	21	1	2

^a Se obtuvo por purificación de la goma cruda. Gal: Galactosa. Ara: Arabinosa. Xil: Xilosa. Ram: Ramnosa. AU: ácidos urónicos.

El monitoreo de diferentes alícuotas, por cromatografía, durante el progreso de la hidrólisis ácida de la goma original (preparación de la goma degradada A) permitió conocer los monosacáridos removidos de la estructura original. Los residuos de arabinosa se eliminaron con relativa facilidad (4-20 h). La vulnerabilidad de estos residuos (furanosa y piranosa) en medio ácido, se ha observado en otras estructuras de polisacáridos (10, 19). Posteriormente, después de 26 h, se removieron residuos de ácido glucurónico y ramnosa. La eliminación de los azúcares mencionados en el proceso de preparación de la goma degradada A sugiere la vulnerabilidad de sus enlaces a las condiciones de reacción y su posible ubicación como residuos terminales de las ramificaciones estructurales de la goma.

La goma degradada B (4,0%), preparada por oxidación drástica con peryodato a partir de la goma degradada A, representa el núcleo estructural de la goma de *P. guamacho* y corresponde a un heteropolímero (tabla 1). Este núcleo atípico ha sido reportado para gomas de *Cercidium praecox* (13), *Sterculia apetala* (15), *Laguncularia racemosa* (20) y *Cedrela odorata* (21) pero contrasta con los homopolisacáridos presentes en la mayoría de las gomas estudiadas (10, 19, 22).

La interpretación de los espectros de RMN-¹³C de la goma original y de sus productos degradados se hizo con base en los datos químicos y los desplazamientos químicos de los compuestos modelos relevantes (tablas 2 y 3).

Tabla 2
Comparación de la región anomérica del espectro de RMN-¹³C de la goma original de *Pereskia guamacho* y de sus productos degradados

Polímero	Ac. Gal	Ac-4-O-metil ^a	Ram ^b	Gal ^b	Ac. Gluc	Ara
Goma original	97,06	99,95 100,62	102,81	102,81	104,08	109,20
Goma degradada A	97,01	100,09 98,29	103,11 100,59	103,11	105,69	109,24
Goma degradada B	96,76	99,20 97,97	103,75	103,75	-	-

^a Este residuo puede corresponder al Ácido 4-O-metil- α -D-glucurónico o Ácido 4-O-metil- α -D-galacturónico. ^b Los desplazamientos químicos de galactosa y ramnosa aparecen solapados. Las referencias se incluyen en el texto.

Tabla 3
Desplazamientos químicos de RMN-¹³C atribuidas al ácido 4-O- α -D-galacturónico presente en el polisacárido de la goma de *Pereskia guamacho*

Polímero	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
Ácido 4-O- α -D-Galp ^a	98,53	69,62	71,34	77,92	72,49	175,39
Goma original	97,06	70,07	71,29	77,69	72,15	-
Goma degradada A	97,01	69,99 98,29	71,24	77,68	72,19	174,83
Goma degradada B	96,76	69,88 97,97	71,03	77,33	72,51	176,78

^a (27).

La goma original, constituida por galactosa, ramnosa, arabinosa, xilosa y ácidos urónicos, muestra un espectro muy complejo (figura 1) lo cual se explica por el número de diferentes azúcares involucrados en su estructura. La complejidad espectral no permite hacer la asignación inequívoca de todas sus señales. Se observan las señales inequívocas a campo alto correspondientes al grupo metilo de la ramnosa (16,51 ppm) (23) y los grupos metoxilo de los 4-O-metil-derivados de los ácidos urónicos (57,56; 59,94 ppm) (24). Se observan además bien definidas las resonancias atribuidas al C-6 libre (61,30; 64,12 ppm) (25) y C-6 enlazado de galactosa (66,55 ppm) (26). Es muy arriesgado hacer asignaciones en la región donde resuenan los carbonos secundarios hidroxilados del anillo (68-80 ppm); sin embargo las señales que aparecen a campo más bajo podrían ser asignadas al C-3 enlazado de galactosa en dos ambientes químicos (82,14; 82,47 ppm) (25).

La región anomérica comprendida en el intervalo de desplazamientos químicos entre 96 y 110 ppm sugiere la presencia de varios tipos de enlace, asignables probablemente a: ácido α -D-galacturónico (97,06 ppm) (27), C-1 de los 4-O-metil-derivados de los ácidos urónicos en varios ambientes químicos (99,45; 99,95; 100,62 ppm) (24). Se destaca una señal muy intensa donde aparecen solapadas las resonancias del C-1 de β -D-galactosa y α -L-ramnosa (102,81 ppm) (23,25). Se observan también el C-1 de residuos de ácido β -D-glucurónico (104,08 ppm) (28) y α -L-arabinofuranosa (109,2 ppm) (26) a campos más bajos.

La goma degradada A, tiene una estructura tan compleja como la que exhibe la goma original, por lo tanto es de esperar la complejidad de su espectro (figura 2). Las señales discutidas en el espectro de la goma original (figura 1) aparecen en ese espectro. Se confirma la presencia del grupo metilo de la ramnosa en dos ambientes (16,44; 16,91

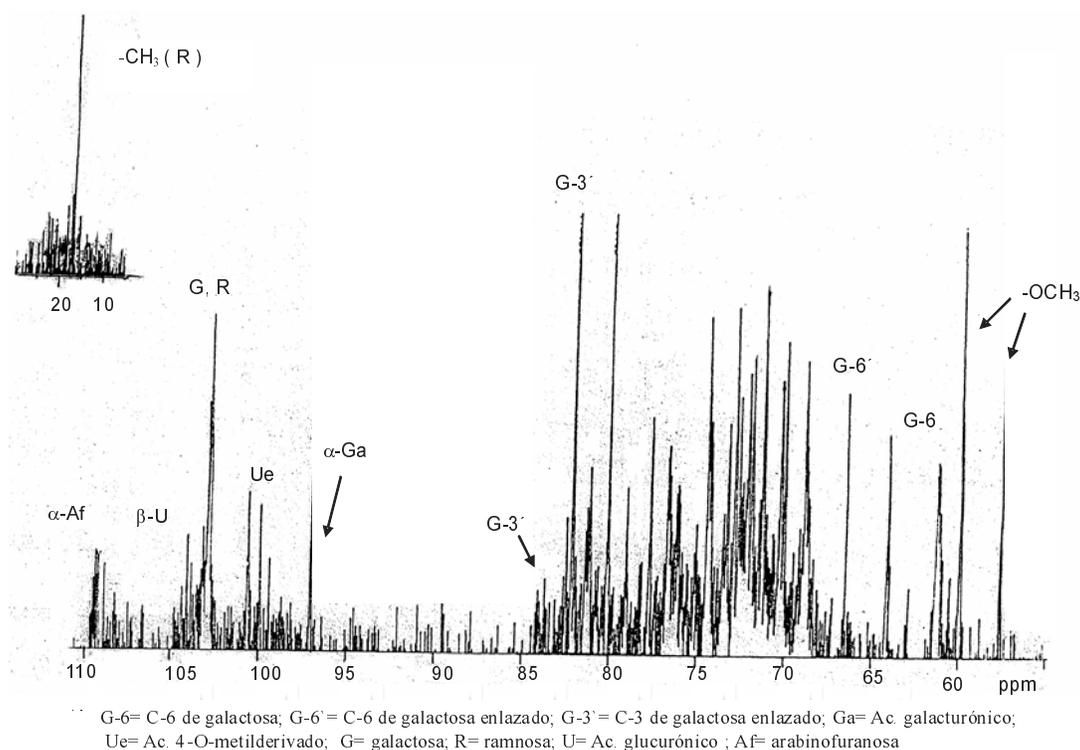


Figura 1. Espectro de RMN- ^{13}C de la goma original de *Pereskia guamacho*.

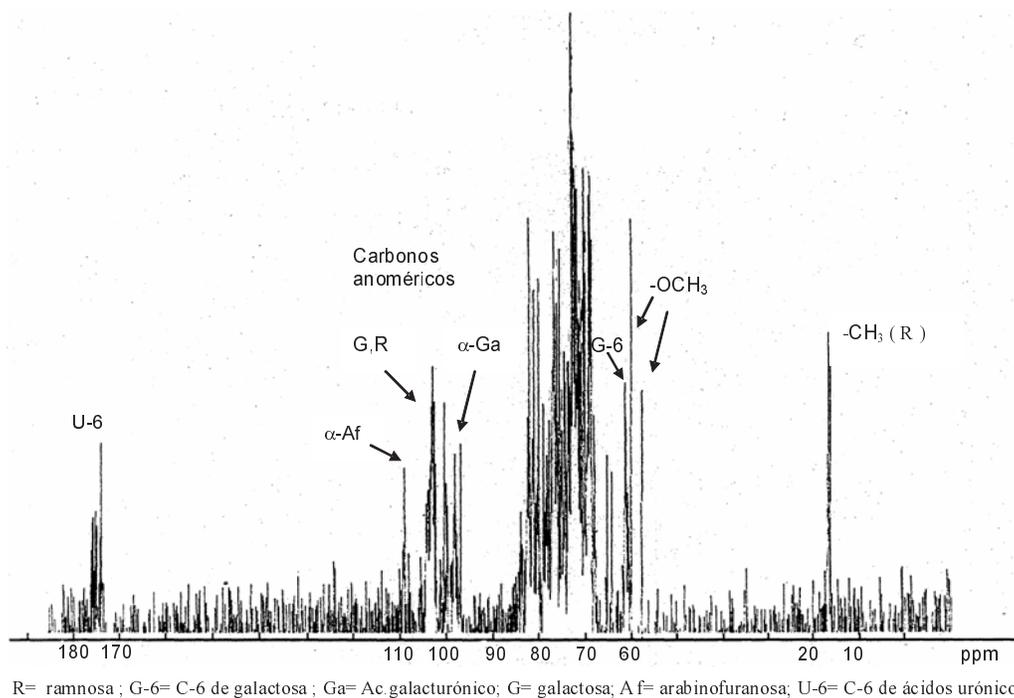


Figura 2. Espectro de RMN- ^{13}C de la goma degradada A de *Pereskia guamacho*.

ppm) (23), dos señales debido a los grupos metoxilo de 4-O-metil-derivados de los ácidos urónicos (57,50; 59,89 ppm) (24), y las resonancias atribuidas al C-6 libre (61,19 ppm) (25) y el C-6 enlazado de la galactosa (65,17; 67,85 ppm) (26). La región anomérica contiene al menos cinco tipos de enlace. Se observan las señales asignables al ácido α -D-galacturónico en dos ambientes (97,01; 98,29 ppm) (27) y 4-O-metil-derivados de los ácidos urónicos (100,09; 100,59 ppm) (24). El C-1 de β -D-galactosa y α -L-ramnosa aparecen solapados (103,11 ppm). La señal debida al ácido β -D-glucurónico aparece con muy baja intensidad (105,69 ppm) (28) y además se observa la resonancia de α -L-arabinofuranosa (109,24 ppm) (26). A campo muy bajo, aparece la señal debida al C-6 de los ácidos urónicos en múltiples ambientes (174,83-176,96 ppm) (28) siendo la de mayor intensidad la que resuena a 174,83 ppm.

El espectro de la goma degradada B es más sencillo, como es de esperar, y permite

hacer asignaciones inequívocas (figura 3). Se observan las resonancias debido al grupo metilo de la ramnosa (de alta intensidad) (16,61 ppm) (23), así como también, el grupo metoxilo del ácido 4-O-metil- α -D-galacturónico en dos ambientes (56,15; 59,95 ppm) (26). Aparecen las señales asignables al C-6 libre también en dos ambientes (60,78; 62,57 ppm) (25). El intervalo de los carbonos hidroxilados del anillo (65-75 ppm) es muy complejo debido a que los desplazamientos químicos de galactosa y ramnosa se superponen; sin embargo, a campo más bajo se observa la señal ya descrita en los espectros anteriores correspondiente al C-3 de β -D-galactosa enlazada (81,77 ppm) (25).

La región anomérica es más sencilla debido a que se ha removido de la estructura la arabinosa y el ácido β -D-glucurónico. Existen en la estructura tres señales intensas asignables inequívocamente al C-1 del ácido α -D-galacturónico en dos ambientes diferentes (96,76; 97,97 ppm) (27) y otra debido al solapamiento de las resonancias de

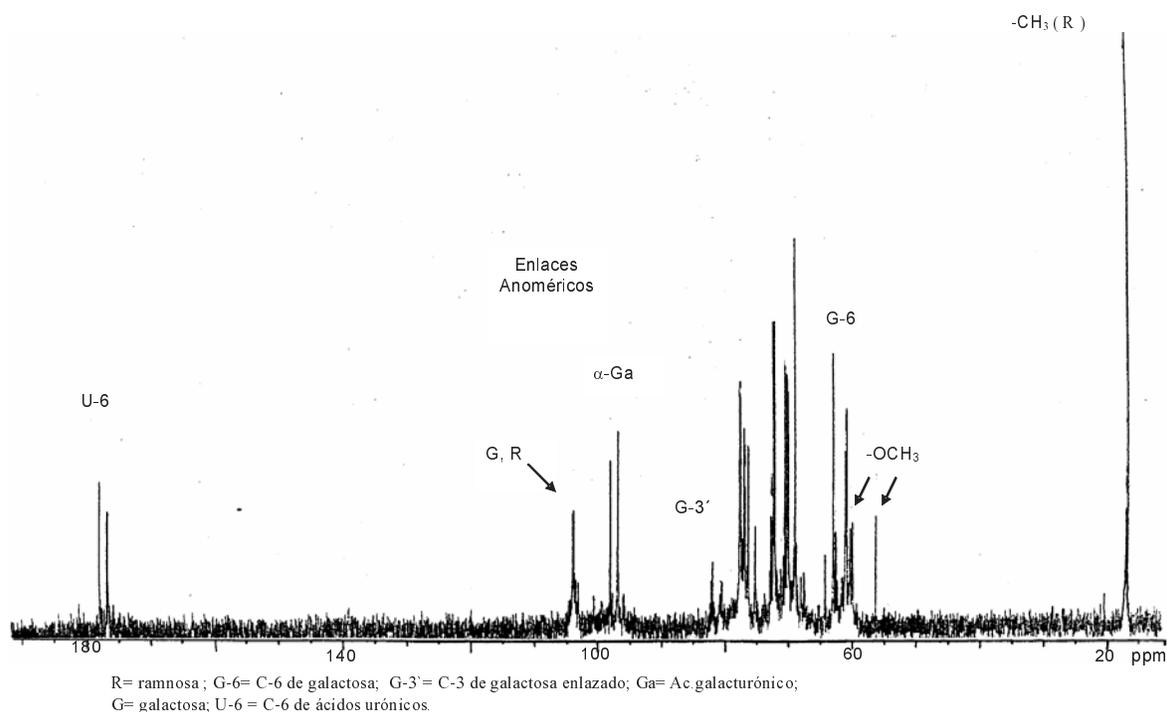


Figura 3. Espectro de RMN-¹³C de la goma degradada B de *Pereskia guamacho*.

α -L-ramnopiranososa y β -D-galactopiranososa (103,75 ppm) (23, 25). Las señales de muy baja intensidad (99,2; 100,5 ppm) confirman la presencia de ácido 4-O-metil α -D-galacturónico en dos ambientes. Las asignaciones descritas para el ácido α -D-galacturónico permitieron completar otras asignaciones de este residuo con la ayuda del compuesto modelo adecuado (tabla 3) (27). A campo bajo está bien definido el C-6 de los ácidos urónicos (176,68; 177,95 ppm) constituyentes de la estructura (24, 27), que sugieren la presencia de dos tipos de C-6.

Se han publicado muchas ventajas de la espectroscopia bidimensional; sin embargo, este estudio demuestra las bondades de la RMN-¹³C en la dilucidación de estructuras de polisacáridos de gran complejidad.

Conclusiones

La estructura central del polisacárido aislado de la goma de *Pereskia guamacho* es un heteropolímero constituido por ramno-

sa, galactosa y ácidos urónicos, representados principalmente por el ácido 4-O- α -D-galacturónico y los 4-O-metil derivados del ácido α -D-glucurónico y α -D-galacturónico. La técnica de RMN-¹³C utilizada es muy valiosa en el estudio estructural de polisacáridos complejos; sin embargo, la aplicación de la espectroscopia bidimensional permitirá ahondar aún más en el conocimiento de la estructura del polímero.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) por el soporte financiero.

Referencias bibliográficas

1. SIERAKOWSKI M.R., GORIN P.A.J., REICHER F., CORREA J.B.C. *Phytochemistry* 26(6): 1709-171. 1987.
2. DIAZ, M. Estudios fitoecológicos de cuatro especies de cactáceas en condiciones natu-

- rales (Para obtener el título de Magister Scientiarum en Biología Mención Ecología) IVIC. Caracas (Venezuela). 1983.
3. ARGENTI P., ESPINOZA, F. **Fonaiap-Ceniap, Serie B**. Maracay, (Venezuela). 5-20. 1993.
 4. SETHI P., KULKARNI P. **Food and Nutrition Bulletin** 16(3):224-23. 1995.
 5. ANDERSON D.M.W., WANG W. **Food Hydrocolloids** 5: 297-306. 1991.
 6. GUARDA A., ROSELL C.M., BENEDITO C., GATOLLO M.J. **Food Hydrocolloids** 18: 241-247. 2004.
 7. PINTO G.L., MONCADA N., MARTINEZ M., GOTERA O., RIVAS C., OCANDO E. **Biochemical Systematics and Ecology** 22(3): 291-295. 1994.
 8. DUBOIS M., GILLES K.A., HAMILTON J.K., REBERTS P.A., SMITH F. **Analytical Chemistry** 28: 350-355. 1956.
 9. ANDERSON D.M.W., MORRISON N.A. **Food additives and contaminants** 7(2): 181-18. 1990.
 10. PINTO G.L., MARTINEZ M., TROCONIS N.G., ROJAS A.C., LEAL E. **Anales de Química** 88: 157-161. 1992.
 11. ANDERSON D.M.W., FARQUHAR J.G.H. **Phytochemistry** 18: 609- 610. 1979.
 12. PINTO G.L., NAVA M., MARTINEZ M., RIVAS C. **Biochemical Systematics and Ecology** 21: 463-466. 1993.
 13. PINTO G.L., RODRIGUEZ O., MARTINEZ M., RIVAS C. **Biochemical Systematics and Ecology** 21: 297-300. 1993.
 14. BASU S.,RAO C.V.N. **Carbohydrate Research** 94: 215-224. 1981.
 15. LARRAZABAL M., MARTINEZ M., SANABRIA I., PINTO G.L., HERRERA J. **Food Hydrocolloids** 20(6): 908-913. 2006.
 16. ANDERSON D.M.W., PINTO G.L. **Carbohydrate Polymers** 2:19-24. 1982.
 17. PINTO G.L., MARTINEZ M., BOLAÑO L.M., RIVAS C., OCANDO E. **Phytochemistry** 47: 53-56. 1998.
 18. ANDERSON D.M.W., DEA I.C.M. **Phytochemistry** 8: 167-176. 1969.
 19. PINTO G.L., ALVAREZ S., MARTINEZ M., ROJAS A., LEAL E. **Carbohydrate Research** 239:257-265. 1993.
 20. LEÓN DE PINTO G., GUTIÉRREZ O., MARTÍNEZ M., OCANDO E., RIVAS C. **Carbohydrate Polymers** 35: 205-213. 1998.
 21. GONZALEZ T.N., MARTINEZ M. PINTO G.L., BAHSAS A. **Ciencia** 9 (2): 285-293. 2001.
 22. GUTIERREZ O., MARTINEZ M., SANABRIA L., PINTO G.L., IGARTUBURU J. M. **Food Hydrocolloids** 19: 37-43. 2005
 23. AGRAWAL P.K. **Phytochemistry** 31(10): 3307:3330. 1992.
 24. UTILLE J.P., KOVAC P., SAURIOL F., PERLIN A.S. **Carbohydrate Research** 154: 251-258. 1986.
 25. BOCK K., PEDERSEN C. **Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry** 41: 27-63. 1983.
 26. CARTIER N., CHAMBAT G., JOSELEAU J.P. **Carbohydrate Research** 168:275-283. 1987.
 27. CUI W.W., ESKIN M.N.A., BILIADERIS C.G., MARAT K. **Carbohydrate Research** 292:173-183. 1996.
 28. HAMER G.K., PERLIN A.S. **Carbohydrate Research** 49:37-48. 1976.