

Antocianos foliares de *Ilex paraguariensis* St. Hil.

Rafael A. RICCO, Marcelo L. WAGNER, Gustavo C. GIBERTI y Alberto A. GURNI

*Cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica,
Universidad de Buenos Aires, Junín 956, 4° P
(1113) Buenos Aires, Argentina.*

RESUMEN. De hojas frescas de árboles jóvenes de *Ilex paraguariensis*, infectadas por *Giropsylla spegazziniana* Lizzer., se aislaron dos antocianos basados en cianidina: cianidina-3-O-monoglucósido y cianidina-3-O-xilosilglucósido. Ejemplares sanos provenientes del mismo lugar no presentan, en sus hojas, la coloración roja que otorgan estos compuestos. Esta es la primera vez que se detectan antocianos en las hojas de *Ilex paraguariensis*. La infección por *Giropsylla spegazziniana* se traduce en una disminución del rendimiento por hectárea de los yerbales.

SUMMARY. "Leaf Anthocyanins of *Ilex paraguariensis* St. Hil." From fresh leaves of young trees of *Ilex paraguariensis*, infected with *Giropsylla spegazziniana* Lizzer., two anthocyanins based on cyanidin were isolated: cyanidin-3-O-monoglucoside and cyanidin-3-O-xylosylglucoside. Non-infected exemplars from the same place do not show the characteristically red color due to these compounds. This is the first report of anthocyanins in the leaves of *Ilex paraguariensis*. The infection by *Giropsylla spegazziniana* produces a yield reduction in yerba-plantations.

INTRODUCCION

De acuerdo con la bibliografía fitoquímica del género *Ilex*, los antocianos son los responsables del color rojo de los frutos de muchas especies. Se trata principalmente de glicósidos de cianidina y pelargonidina¹⁻⁶. Las referencias acerca de la producción de antocianos en las hojas son escasas y se refieren a las yemas⁶. También en este caso se trata de compuestos derivados de cianidina y pelargonidina.

Se observó que árboles jóvenes de *Ilex paraguariensis* infectados por *Giropsylla spegazziniana* Lizzer., el psílido de la yerba mate⁸, presentaban hojas con coloración rojiza. Si bien se trata de hojas ya adultas, éstas se encuentran en

PALABRAS CLAVE: *Ilex paraguariensis*, Antocianos foliares, Cianidina-3-O-monoglucósido, cianidina-3-O-xilosilglucósido, *Giropsylla spegazziniana*.

KEY WORDS: *Ilex paraguariensis*, Leave anthocyanins, cyanidin-3-O-monoglucoside, cyanidin-3-O-xylosylglucoside, *Giropsylla spegazziniana*.

la proximidad del ápice de las ramas infectadas. Dicha infección se caracteriza por la deformación de las yemas y de las hojas, las que adquieren aspecto de agallas.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Se extrajeron hojas de árboles jóvenes provenientes de las ruinas de la reducción jesuítica Santa María la Mayor, provincia de Misiones, Argentina, colectados por A.A. Gurni y determinados por G.C. Giberti.

Ejemplares testigo se incluyen en el herbario del Museo de Farmacobotánica "Juan A. Domínguez" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Métodos

Las hojas frescas (2 g) de los ejemplares estudiados fueron extraídas con HCl 1% en metanol, a 1 °C y en oscuridad. Los extractos obtenidos se concentraron a presión reducida a muy baja temperatura ⁹.

El concentrado fue purificado parcialmente por cromatografía descendente sobre papel Whatman 3MM utilizando como solvente de corrida BAA (*n*-butanol: ácido acético: agua, 4:1:5, fase superior) ⁹.

Se obtuvo una banda rojo-violácea intensa que corresponde a los antocianos. Una porción de ella se expuso a vapores de amoníaco observándose el viraje de su color al azul. La banda se eluyó en HCl 0,05% en metanol.

Se concentró el extracto y se realizó una cromatografía descendente sobre papel Whatman 3MM, utilizando como solvente ácido acético - HCl 12N - agua (15:3:82). Se resolvió en dos bandas, que fueron eluidas en HCl 0.01% en metanol para su estudio espectroscópico, para la determinación de Rf en distintos solventes y para el estudio de los productos de hidrólisis ⁹.

Estudios espectroscópicos

Se realizaron las mediciones con un espectrofotómetro Hewlett Packard con arreglo de diodos 8452A.

Se obtuvieron los espectros en HCl 0,01% en metanol ¹⁰.

Determinación de Rf en distintos solventes

Para los glicósidos se utilizaron BAA, HCl 1% en metanol y HOAc-HCl 12N - agua (15:3:82) ¹⁰. Se utilizó como referencia una mezcla de cianidina-3-O-glucósido, cianidina- 3-O-rhamnoglucósido, pelargonidina-3-O-glucósido y pelargonidina-3-O-rhamnoglucósido.

Estudio de los productos de hidrólisis

A 1 ml de solución de cada una de las sustancias se agregaron 5 ml de HCl 2N y se mantuvieron durante una hora a 100 °C. Las antocianidinas liberadas se extrajeron con alcohol amílico y la fase acuosa restante se evaporó a sequedad para el estudio de los azúcares ¹¹.

La fracción amílca se evaporó a sequedad, se redisolvió en HCl 0,01% en metanol para el análisis espectroscópico en ese solvente y con agregado de solución de tricloruro de aluminio 5% en metanol. La fracción amílca redisuelta también se utilizó para la medida de Rf en ácido fórmico - HCl 12N - agua, (9:2:3) y Forestal (ácido acético - HCl 12N - agua, 30:3:10), frente a patrones de cianidina y de pelargonidina en placa delgada de celulosa.

Los azúcares se determinaron por cromatografía ascendente en placa fina de celulosa utilizando como solvente de corrida isopropanol- agua (4:1) ¹², frente a testigos de arabinosa, galactosa, glucosa, rhamnosa y xilosa. Se utilizó como revelador el reactivo constituido por anilina-difenilamina-acetona-ácido fosfórico 80% (4 ml: 4g: 200 ml: 30 ml). Los cromatogramas se llevaron a estufa a 100 °C durante 5 minutos ¹³.

RESULTADOS

Los datos obtenidos de la medición de Rf en distintos solventes, de la medida de los espectros UV-visible y de los productos de hidrólisis de los compuestos se consignan en la siguiente tabla.

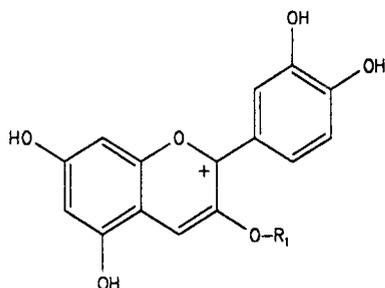
Sustancia	Rf. x 100			λ_{max} (nm)	Aglicón	Azúcares
	BAA	HCl 1%	HOAc/HCl			
Compuesto 1	40	5	26	278; 528	Cianidina	Glucosa
Compuesto 2	37	23	49	278; 528	Cianidina	Glucosa Xilosa

En ambos compuestos el aglicón es cianidina, cuyo Rf x 100 en solvente Forestal es 53 y en ácido fórmico - HCl 12 N - agua (9:2:3) es 35. Los espectros UV-visible muestran máximos a 278 nm, 534 nm y 552 nm (AlCl₃).

El compuesto 1 fue determinado como cianidina-3-O-monoglucósido. Es el antociano que se encuentra en mayor proporción. Este antociano está presente en varias especies del género *Ilex* ³⁻⁶. Se ha informado su presencia en frutos de *Ilex paraguariensis*.

El compuesto 2 fue determinado como cianidina-3-O-xilosilglucósido. Su concentración es sumamente baja. En el género *Ilex* este antociano es el más distribuido. Ha sido hallado en frutos de muchas especies, entre ellas *Ilex paraguariensis* ¹⁻⁶.

Estructura de los antocianos



Referencias:

R₁ = H → Cianidina

R₁ = Glucosa → Cianidina - 3-O-glucósido

R₁ = Glucosa-xilosa → Cianidina-3-O-xilosilglucósido

DISCUSION

Los resultados obtenidos dan evidencia de la existencia de una ruta metabólica que lleva a la producción de antocianos en las hojas de los ejemplares analizados de *Ilex paraguariensis* St. Hill., los que, como se indicara, estaban infectados por el psílido de la yerba mate.

Este es el primer informe de la aparición de estos metabolitos en hojas de esta especie.

Se pudo comprobar que en ejemplares sanos, los cuales crecen junto a los infectados, sus hojas no presentan el color rojizo que otorgan los antocianos. En el estudio fitoquímico llevado a cabo sobre estos ejemplares no se detectó la presencia de dichos compuestos.

Para poder asociar la producción de antocianos con la infección, se hace necesario el estudio de un mayor número de ejemplares, tanto infectados como no infectados. Estos deberían provenir de diferentes localidades, con el objeto de descartar algún condicionamiento propio del ambiente en el cual se desarrollan. De esta manera, se podrá establecer qué tan constante es la aparición de estos compuestos en la especie vegetal en estudio e inferir si se relaciona con la presencia de *Giropsylla spegazzintana*.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ishikura, N. (1971) *Botanical Magazine*. Tokyo. **84** : 113-7
2. Ishikura, N. (1971) *Experientia* **27**: 1006
3. Ishikura, N. (1971) *Phytochemistry* **10**: 2513-7
4. Ishikura, N. (1975) *Phytochemistry* **14**: 743-5
5. Ishikura, N. & K. Sugahara (1979) *Botanical Magazine*, Tokyo. **92**: 157-61
6. Santamour, F. S. (1973) *Phytochemistry* **12**: 611-5
7. Yoshitama, K., M. Ozaku, M. Jujii, & K. Hayashi (1972) *Botanical Magazine*. Tokyo. **85**: 303-6
8. de Coll, O. R. & E. Saini (1992) *Publicación N° 1, Montecarlo, E.E.A., INTA*: 47
9. Taylor, R. J. (1984) *Bull. Torrey Bot. Club*. **111**: 462-8
10. Harborne, J. B. (1967) "*Comparative Biochemistry of the Flavonoids*". Academic Press, London
11. Gumi, A. A. (1979) "*Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades*". Hamburg, pág. 11
12. Smith, I. (1969) *Chromatographic and Electrophoretic Techniques*, Vol. 1, 3a. Ed. William Heineman Medical Books Ltd., London
13. Hansen, S. A. (1975) *Chromatog*. **107**: 224-6