

IDENTIFICACIÓN DE UN FRUCTUOLIGOSACARIDO EN LA ESPECIE *SMALLANTHUS SONCHIFOLIA*

Juan Salinas, Mauricio Peñarrieta, Patricia Mollinedo, Jose Vila

Instituto de Investigaciones en Productos Naturales (IIPN), Carrera de Ciencias Químicas, Universidad Mayor de San Andrés,
Calle Andrés Bello y Calle 27 Cota Cota, Edificio FCPN, 2º piso, La Paz- Bolivia

Keywords: *Smallanthus sonchifolia* oligofructans, mannitol

ABSTRACT

By use of ^1H and ^{13}C NMR the main water-soluble carbohydrate components extracted from *Smallanthus sonchifolia* were identified as oligofructans ($\alpha\text{-D-Glcp-(1}\rightarrow\text{2)-[}\beta\text{-D-Fruf-(2}\rightarrow\text{1)-}\beta\text{-D-Frucf]}_n\text{-}\beta\text{-D-Fruf}$) and mannitol.

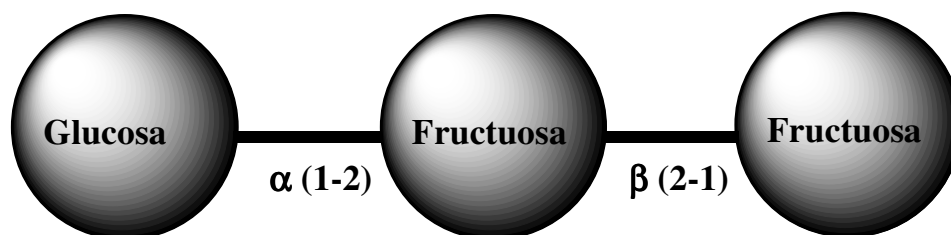
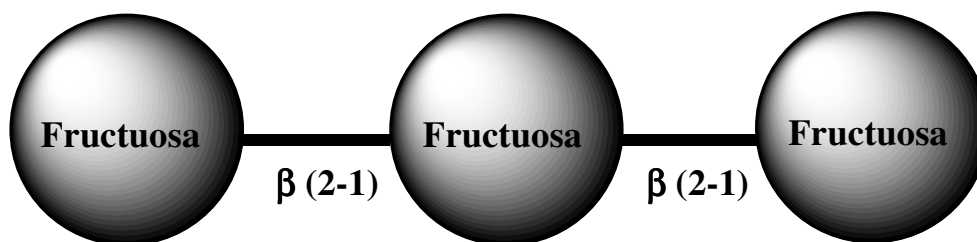
Corresponding author: joselu62@hotmail.com

RESUMEN

En este trabajo se muestra el aislamiento de un fructuooligosacarido ($\alpha\text{-D-Glcp-(1}\rightarrow\text{2)-[}\beta\text{-D-Fruf-(2}\rightarrow\text{1)-}\beta\text{-D-Frucf]}_n\text{-}\beta\text{-D-Fruf}$) y el manitol en forma de mezcla de la especie vegetal *Smallanthus sonchifolia*, las estructuras moleculares fueron realizadas por comparación bibliográfica de RMN- ^{13}C

INTRODUCCION

Smallanthus sonchifolia, denominada comúnmente Yacon, es una planta nativa de la región de los Andes, es herbácea perennal de la familia *Compositae* o *Asteraceae*, familia a la cual pertenece el girasol. Esta planta produce tubérculos largos parecidos al camote o “patata dulce” en apariencia, pero mucho más dulces que estos. Las raíces del *Smallanthus sonchifolia* es dulce y jugosa, esta especie crece en climas fríos como en calientes. Normalmente crece en valles andinos calidos pero puede ser encontrada en altitudes por encima de los 3200 metros sobre el nivel del mar.¹ La mayor parte de la raíz del *Smallanthus* esta compuesta de agua (aproximadamente 70%). Los tubérculos contienen entre 0,3 y 3,7 % de proteína, sin embargo entre 70 y 80% de la materia seca esta constituido principalmente por sacáridos, en particular un grupo de sustancias químicas que se denominan fructuooligosacaridos. Aunque no existe un nombre estándar para estos sacáridos, los tres nombres que se usan con más frecuencia son inulina, oligofructosa y fructuooligosacaridos y estos nombres no son usados de la misma manera en artículos científicos. Para poder entender como utilizar estos términos genéricos es necesario hacer notar que estos compuestos pueden dividirse en dos subgrupos dependiendo del grado de polimerización. Los fructanos con grado de polimerización mayor a 10 son considerados de cadena larga (alto peso molecular), mientras que los fructanos con grado de polimerización menor a 10 son considerados de cadena corta (bajo peso molecular). Basándonos en esa clasificación varios expertos en el campo nombraron como fructuooligosacaridos a los fructanos de cadena corta y los que provienen de la síntesis de la sacarosa, como oligofructosas; a los fructanos de cadena corta que provienen de la hidrólisis parcial de fructanos de cadena larga y como inulina al extracto de agua caliente que contiene fructanos en solución y a los fructanos de cadena larga.² Los fructuooligosacaridos o fructanos son compuestos químicos donde existen 1 o más uniones fructosil-fructosa, es decir, son principalmente polimeros de unidades de fructosa. Los fructanos pueden tener al menos una unión fructosil-fructosa idéntica a la encontrada en sacarosa. La presencia de sacarosa, sin embargo, no es una condición necesaria para que un compuesto sea considerado un fructano; de muchos de los fructanos la cadena empieza con unidades de fructosa (Fig.1 y 2). La estructura de los polimeros de fructanos varían de linear a ramificada, también pueden ser descritos por su grado de polimerización. Este grado se refiere al número de unidades repetidas de fructosa en su estructura.

Fig. 1 Fructano GF_2 Fig. 2 Fructano F_3

Para todos los fructanos de cadena lineal con $\beta (2-1)$ enlaces glucosídicos de fructosil-fructosa, el nombre inulina es un nombre genérico. Este tipo de enlace le da a la inulina su estructura única y propiedades fisiológicas particulares. Gracias a su configuración β la inulina no puede ser hidrolizada por la saliva humana y las pequeñas enzimas digestivas del intestino (aquellas con enlaces α -glucosídicos).² El peso molecular promedio y el grado de polimerización dependen de la fuente de inulina, el tiempo de cosecha y el proceso de producción. La mayor parte de la inulina disponible comercialmente es obtenida de las raíces (150 a 200 mg/g de inulina y 80 a 120 mg/g de oligofructanos). Aunque todavía existe poca información acerca de sus propiedades biológicas, las últimas investigaciones han mostrado que este tipo de moléculas tienen actividad inmunológica, regulación de la flora intestinal y supresora de la tos. Una de sus más recientes utilidades de estas moléculas es que vienen a ser ingredientes para la sustitución de azúcar o grasa. Por estas razones las industrias farmacéuticas han aplicado la inulina en la fabricación de alimentos funcionales y medicinas.^{3,4} También en múltiples experimentos la inulina ha demostrado tener propiedades cancerígenas. Algunos estudios han examinado el efecto de la inulina en lesiones pre-neoplásicas químicamente inducidas o en tumores en el colon de ratones y se observó una reducción en la incidencia del tumor y la metástasis en los tumores celulares implantados.⁵ Además ensayos biológicos de la actividad antitumoral mostraron que los fructanos provocan la inhibición del crecimiento de carcinoma pulmonar de Lewis implantado en ratones.⁶ En este artículo mostramos el aislamiento de un fructuooligosacárido además del manitol, los cuales no se han separado, caracterizando las dos estructuras moleculares por sus desplazamientos químicos de RMN-¹³C, que fueron comparados con los reportes bibliográficos correspondientes.

RESULTADOS, DISCUSION

Los tubérculos de la especie *Smallanthus sonchifolia* fueron sometidos a una extracción sólido-líquida con una mezcla agua:etanol (1:1 vol/vol) en un mezclador por el lapso de 24 horas, posteriormente se realizó la filtración, el filtrado fue concentrado a sequedad en un rotaevaporador. El sólido **M-1** del extracto fue realizado por cristalización fraccionada en etanol, de donde se obtuvo cristales de color blanco, de este sólido se obtuvieron los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C para su análisis espectroscópico. El espectro de RMN-¹H mostrado en la figura 3, presenta señales intensas entre δ 3.30 y δ 4.20 ppm, que son atribuidos a los protones -CHOH- de carbohidratos, también en el espectro se observa el protón anomérico a δ 5.2 ppm.

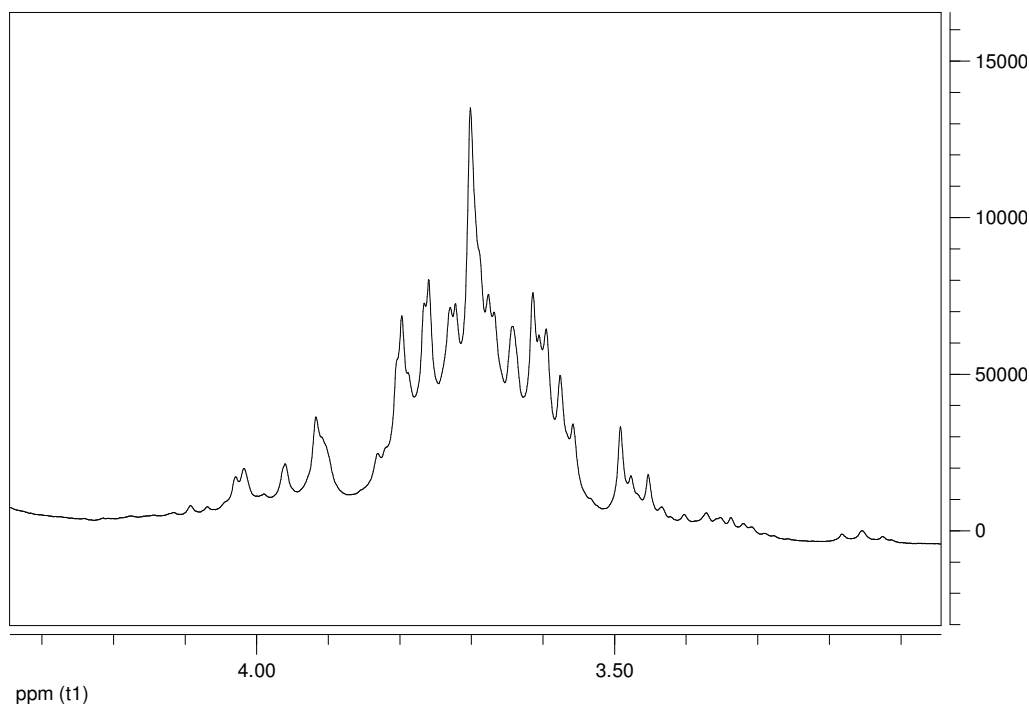


Fig. 3 Espectro de RMN-¹H entre 3.0 y 4.3 ppm del sólido M-1

En el espectro de RMN-¹³C (Fig. 4) se observan señales en el rango de δ 62 ppm y δ 105 ppm características de carbonos oxigenados que corresponden a los carbohidratos, cuyas señales características de los desplazamientos químicos del anillo fructofuranosil y del anillo glucopiranosil del fructuooligosacarido M-1 con respecto al reportado en bibliografía,⁶ que se muestra en la Tabla 1. Además de las señales características que se muestran en la tabla 1, en el espectro de RMN-¹³C también se observan otras señales que corresponderían a los carbonos de diferentes anillos de fructofuranosil que se deben encontrar en la cadena, esto tendría que confirmarse con un espectro de masas. Por otro lado se observan tres señales intensas a δ 65.3, 71.7 y 73.1 ppm que corresponden a la presencia de manitol, de acuerdo a la comparación bibliográfica⁷ de RMN-¹³C. Las asignaciones de los desplazamientos químicos de RMN-¹³C, de los dos compuestos se puede observar en la figura 5.

Tabla 1. Comparación de desplazamientos químicos del sólido M-1 con [6]

	Fructuooligosacarido ⁶		M-1	
	Fructofuranosil	Glucopiranosil	Fructofuranosil	Glucopiranosil
C-1	62.0	93.6	63.9	94.6
C-2	104.3	72.4	104.0	72.2
C-3	78.1	73.8	78.5	73.4
C-4	75.4	70.	75.3	70.1
C-5	82.2	73.9	83.2	74.0
C-6	63.2	61.3	65.7	63.1

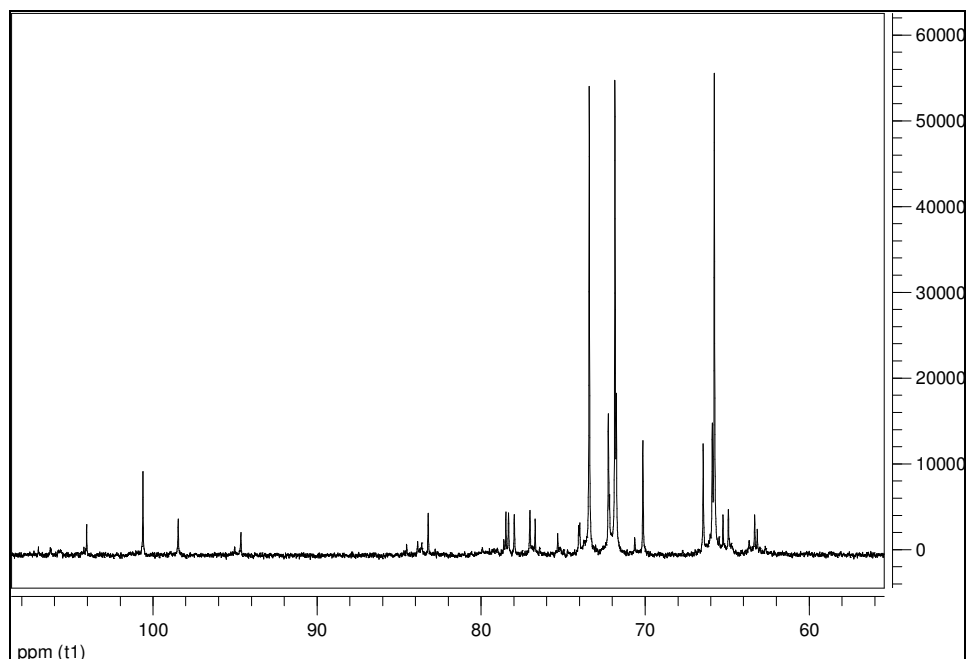


Fig. 4 Espectro de RMN-¹³C entre 60 y 110 ppm del sólido M-I

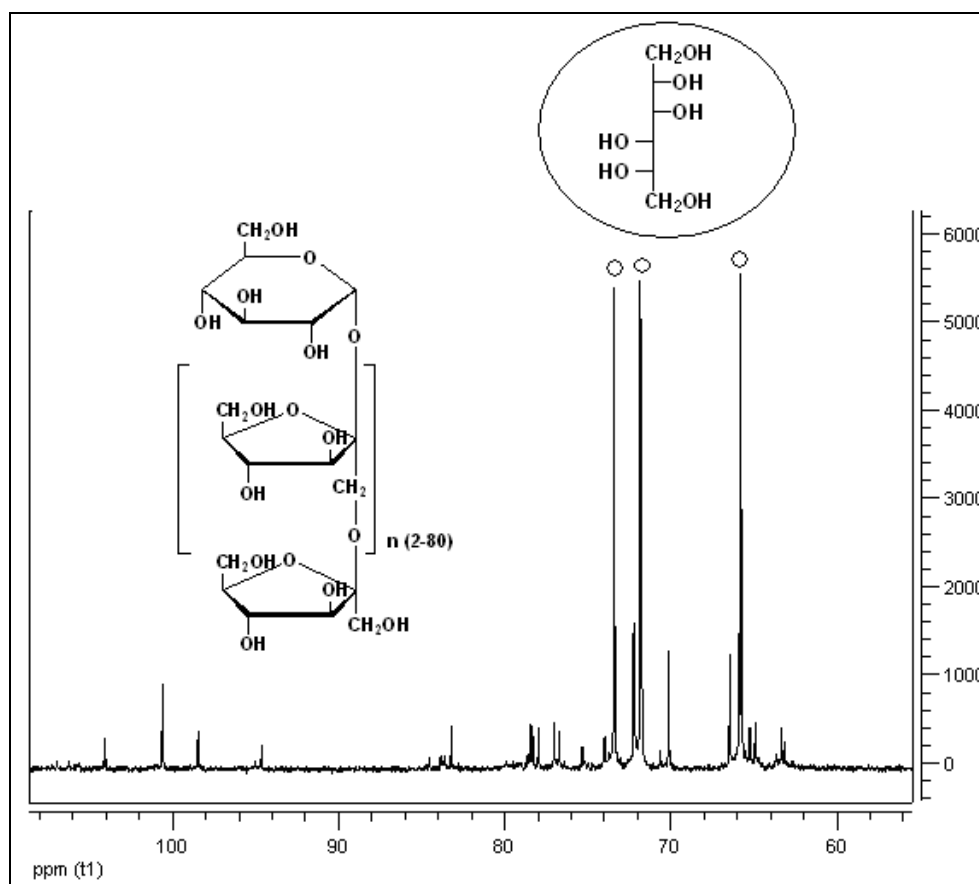


Fig 5. Asignación de señales del manitol y del fructuooligosacarido en el Espectro de RMN-¹³C

SECCION EXPERIMENTAL

Extracción del fructuooligosacárido

Los compuestos fueron extraídos de los tubérculos de la especie *Smallanthus sonchifolia*, a través de una extracción sólida-líquida con agua:etanol (1:1) en un mezclador. La extracción se realizó por el lapso de 24 h, posteriormente se realizó la filtración, el filtrado fue concentrado a sequedad en un rotaevaporador. El extracto se puso en contacto con etanol al 95 % (v/v) a 65 °C, por el lapso de 30 a 35 minutos removiendo continuamente, la solución sobrenadante tomó un color amarillo blanquecino, de donde se obtuvo los cristales de inulina, que posteriormente fue identificado por métodos espectroscópicos. De la muestra obtenida de color blanco, soluble en agua, insoluble en etanol, cloroformo, se obtuvo los espectros de RMN-¹H, RMN-¹³C.

Obtención de espectros

El sólido M-1, fue sometido al análisis espectroscópico de RMN-¹H y RMN-¹³C en un espectrómetro de RMN de 250 MHz., usando como solvente D₂O.

RECONOCIMIENTOS

Los autores agradecen al financiamiento IDH-2010, al Dr. Yonny Flores por la obtención de los espectros de RMN.

REFERENCIAS

- [1] J. Lachman, E.C. Fernandez, M. Orsak. Yacon [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. Et Ende.) H. Robinson] chemical composition and use – a review. Czech University of agriculture in Prague, Czech republic.
- [2] Grez Nelly. Inulin – tipe prebiotics – A review: Part1. Alternative Medicine Review. Volume 13, number 4 2008.
- [3] S.Couri, F. S. Gomez. Determination of inulin content of chicory roots (*Cichorium intybus* L.) cultivated organically in three regions of Rio de Janeiro state. Embrapa Agroindustria de Alimentos.
- [4] Oscar Arango Bedoya, Ginna Paola Cuaran. Extracción, cristalización y caracterización de inulina a partir de yacon (*smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Ende.)) para su utilización en la industria alimentaria y farmacéutica. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Colombia. Volumen 6, Numero 2, 2008.
- [5] Grez Nelly. Inulin – tipe prebiotics – A review: Part2. Alternative Medicine Review. Volume 14, number 1 2009.
- [6] Stephane Cerantola, Nelly Kervarec. NMR characterisation of inulin-type fructooligosaccharides as the major water-soluble carbohydrates from *Matricaria maritima* (L.). Carbohydrate Research 339 (2004) 2445-2449.
- [7] Aldrich library of ¹³C and ¹H, FT NMR Spectra, 1992, 1, 290 B