

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN  
FUNDACION E INSTITUTO MIGUEL LILLO

LILLOA  
TOMO XXXIII: 3

P. SEELIGMANN - UN C-GLICOSIDO EN CUATRO ESPECIES DE *ARACHIS*.

(págs. 61-68 - 2 figs.)

TUCUMAN  
REPUBLICA ARGENTINA  
1970

# UN C-GLICOSIDO EN CUATRO ESPECIES DE *ARACHIS*

por PETER SEELIGMANN

## SUMMARY

**A C-glycoside in four species of *Arachis*.**- A flavone-C-glycoside was detected in four species of the genus *Arachis*. Due to the limited distribution of these compounds among different and definite groups of taxa, their significance as chemotaxonomic markers has been proved in several instances. The presence of this C-glycoside, which almost certainly is vitexin, in only four species of *Arachis*, a genus with about 30 species, seems to support that fact. *A. benthamii* and *A. aquidauana* are closely related and belong to the same section as *A. guaranitica*. The fourth species, *A. martii* differs from the rest, is quite difficult to place into any of the existing sections and might well be the only representative of a new section in *Arachis*.

En el transcurso de un estudio quimiosistemático de los flavonoides de 26 especies del género *Arachis* (Leguminosae), incluyendo el maní comestible (*A. hypogaea*), se encontró un C-glicósido (1) en cuatro de ellas.

La estructura de los C-glicósidos, establecida en época relativamente reciente (2,3) y caracterizada por la unión directa (C-C) del azúcar con la aglicona, ha suscitado el interés de químicos y biólogos y, en particular, de los investigadores dedicados a la quimiosistemática botánica.

La formación de la ligadura que une a la molécula de hidrato de carbono con la aglicona implica un mayor consumo de energía que la unión glicosídica normal y es evidentemente el resultado de una vía metabólica que difiere de la biosíntesis de los glicósidos comunes u O-glicósidos, por lo menos en la etapa de unión de ambas especies químicas entre sí.

Si bien existe, desde hace tiempo, suficiente evidencia de que en los O-glicósidos, las moléculas de hidrato de carbono se unen a la aglicona del flavonoide después que la síntesis de ésta se ha completado (4, 5, 6), no parece ocurrir lo

mismo en los C-glicósidos. Mediante la inoculación de precursores biosintéticos marcados del esqueleto  $C_6-C_3-C_6$ , Wallace y Alston (7,8) lograron obtener pruebas en favor de la hipótesis que postula la unión entre hidrato de carbono y flavonoi de en una etapa intermedia de la biosíntesis de este último.

Mientras que la distribución de O-glicósidos de flavonoides en el reino vegetal es cuali y cuantitativamente muy amplia y variada, la presencia de C-glicósidos parece ser mucho más limitada. Es cierto que la búsqueda de estos compuestos se ha intensificado recién a principios de esta década, pero aún así existen buenas razones para afirmar que sólo ciertas especies de determinadas familias botánicas tienen la capacidad de sintetizarlos, capacidad en varios casos ligada notablemente a afinidades filogenéticas de los taxa que la poseen (9). Sería interesante, aun que difícil, establecer si los C-glicósidos deben ser considerados como moléculas biológicamente más primitivas o más evolucionadas que los O-glicósidos, puesto que se los ha encontrado no sólo en 20 familias de Angiospermas, sino también en Criptógamas (musgos y helechos). Sin embargo, no fueron detectados hasta ahora en Gimnospermas (11).

El C-glicósido mencionado fue encontrado en las siguientes especies: *Arachis martii* Handro, *A. guaranitica* Hassl., *A. benthamii* Handro y *A. aquidauana* Krap. cuyos cromatogramas aparecen en la fig. 1, indicándose la posición del compuesto como una mancha punteada.

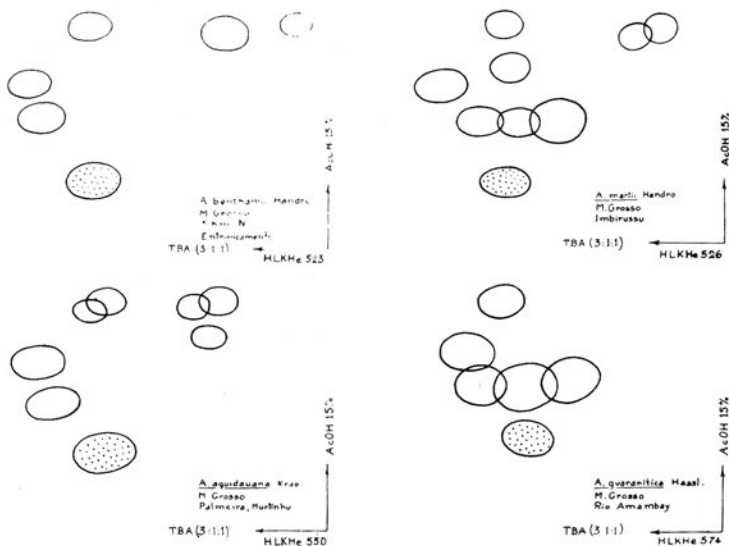


Figura 1

**Descripción de los métodos empleados.** Salvo modificaciones menores, se siguió la técnica propuesta por Alston y Turner (12). Para cada ensayo se utilizó 1 g de hojas secadas a  $\pm 50^{\circ}\text{C}$ , cortadas en trocitos y suspendidos en 10 ml de metanol al 80 %. Se extrajo durante 48 hs. a temperatura ambiente. El extracto metílico filtrado fue utilizado directamente para la cromatografía. Se usó papel Whatman 3MM (hojas enteras) y se procedió por el método descendente y bidi mensional. Para la primera fase se empleó butanol terciario, ácido acético y agua (\*) (3:1:1 v/v/v) y, para la segunda fase, ácido acético al 15 % (\*\*), tardan do las corridas de 24 a 26 hs. y de 5 a 6 hs. respectivamente.

La observación de los perfiles cromatográficos se efectuó con luz UV (tipo luz de Wood). En general, los O- y C-glicósidos aparecen como manchas oscuras, cuyo color cambia con vapores de amoníaco al amarillo-verdoso o amarillo-par dusco, excepto los 7-O-glicósidos de flavonoles que aparecen como manchas ama rillas como sus agliconas, pero con un  $R_f$  en ácido acético marcadamente más al to. Algunos C-glicósidos suelen tener en ambas fases un  $R_f$  muy similar a ciertos O-glicósidos (11). Sin embargo, es fácil distinguir los primeros por su propiedad de ser sumamente resistentes a la hidrólisis ácida (13).

Para comprobar la presencia de C-glicósidos se siguió en general los funda mentos de las técnicas de Harborne (14), procediéndose a hidrolizar en un primer grupo de ensayos el extracto total. Una alícuota del extracto metílico filtrado se redujo a sequedad, empleando un evaporador rotatorio a presión reducida. El residuo se redisolvió en 1 ml de metanol al 50 %, se transfirió el extracto a un tu bito al que se agregó HCl 4N en metanol al 50 %. Se tapó bien y se colocó en estu fa a  $100^{\circ}\text{C}$  durante 6 hs. Transcurrido este tiempo, solamente los C-glicósidos habían resistido la hidrólisis. Se cromatografió el extracto hidrolizado, siguiendo el procedimiento descrito más arriba y se obtuvieron cromatogramas que sola mente presentaban dos manchas amarillas cuyo  $R_f$  corresponde a las algiconas quercetina y kaempferol y una sola mancha oscura ( $R_f$  en TBA: 0.44; en AcOH 15%: 0.25). En otro grupo de ensayos se obtuvieron diez cromatogramas con extractos sin hidrolizar, se recortó en cada cromatograma la mancha cuyo  $R_f$  correspondía a la única mancha oscura de los cromatogramas de extractos hidro lizados y se eluyó con metanol al 80 %. El extracto eluido se redujo a sequedad a presión reducida, se redisolvió con metanol al 50 % y se procedió a la hidróli sis como se ha descrito más arriba. Se recromatografió una fracción del extracto hidrolizado, obteniéndose cromatogramas con una sola mancha con idéntico  $R_f$

---

(\*) "TBA".

(\*\*) "AcOH 15 %".

en ambas fases que en los ensayos anteriores y coincidente con los obtenidos para el C-glicósido vitexina (8-glucosil-apigenina) en estos solventes (fig. 2) (15). Finalmente se cromatografió otra fracción del extracto hidrolizado por el método ascendente mono-dimensional, utilizando el solvente "Forestal" constituido por ácido acético, ácido clorhídrico y agua (30: 3: 10) (16), obteniéndose un  $R_f$  (0.81) muy similar al de la vitexina para este solvente (17).

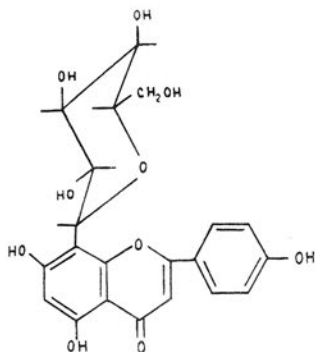


Figura 2

**Discusión de los resultados.** En cuatro especies de *Arachis* se encontró un C-glicósido que por su posición cromatográfica en los sistemas de solventes utilizados parece corresponder a la vitexina (fig. 2). Por los estudios sistemáticos y citogenéticos que está efectuando A. Krapovickas (18), coautor de un estudio quimiosistemático del género *Arachis*, se sabe que *A. benthamii* y *A. aquidauana* son especies cercanas y pertenecen a la misma sección que *A. guaranitica*. *A. martii* es la única especie que no guarda relación con las restantes y no es posible ubicarla en forma inequívoca en ninguna de las secciones establecidas para el género, es decir que podría por sí misma representar una sección nueva. Si bien la presencia del C-glicósido era constante en catorce representantes de una población de *A. benthamii* y en un representante de dos poblaciones distintas de *A. aquidauana*, para el análisis de *A. martii* y *A. guaranitica* se disponía solamente de un representante por especie. Indudablemente será necesario examinar un mayor número de ejemplares, especialmente de estas dos últimas especies. No obstante, dada la estructura particular de los C-glicósidos, su distribución limitada y su circunscripción a grupos taxonómicos que suelen estar filogenéticamente relacionados, es lícito asumir desde ya que la presencia de vitexina en sólo cuatro especies entre 26 del género, posee en este caso un significado filogenético. El ori

gen del mismo, por lo menos en lo que a este compuesto concierne, podría remonarse al gene o conjunto de genes (operón) que controlan la síntesis de la o las enzimas que conducen a la formación de este tipo de flavonoide. Esta posibilidad ciertamente no excluye la suposición de que *A. martii*, especie que hasta ahora no puede ubicarse en ninguno de los subgrupos de *Arachis*, sea el resultado de una evolución paralela dentro del género.

### *Origen del material botánico utilizado*

HLKHe 523 *Arachis benthamii* Handro, Brasil, M. Grosso, 5 km N de Entroncamento, 7.6.68.

HLKHe 554 *Arachis aquidauana* Krap., Brasil, M. Grosso, Palmeira, 9.6.68.

HKHe 574 *Arachis guaranítica* Hassl., Brasil, M. Grosso, Río Amambay, 13.6.68.

HLKHe 526 *Arachis martii* Handro, Brasil, M. Grosso, Imbirussu, 8.6.68.

HLKHe 550 *Arachis aquidauana* Krap., Brasil, M. Grosso, Murтинho, 9.6.68.

Todo el material coleccionado fue suministrado por el Ing. Krapovickas.

### *Agradecimientos*

El presente trabajo fue realizado en parte con un subsidio del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, al que el autor desea expresar su gratitud.

Se agradece además la valiosa e importante colaboración técnica prestada por el Farm. Señor Bernardino Mateu Amengual, quien realizó la mayor parte del trabajo cromatográfico.

### BIBLIOGRAFIA

- 1) HOERHAMMER, L. y H. WAGNER, 1961. En Chemistry of natural phenolic compounds ed. por W. D. Ollis: 185. Pergamon Press. Oxford.
- 2) EVANS, W. H., A. McGOOKIN, L. JURD, A. ROBERTSON y W.R.N. WILLIAMSON, 1957. J. chem. Soc.: 3510.
- 3) KOEPPEN, B. H., 1962. Chemy and Ind.: 2145.
- 4) HARBORNE, J.B. y H.S.A. SHERRATT, 1961. Biochemistry, N.Y. J., 78: 298.

- 5) HARBONE, J. B., 1962. En *The Chemistry of flavonoid compounds*, ed. por T. A. Geisman: 593. Pergamon Press, Oxford.
- 6) ALSTON, R. E., 1964. *Biochemistry of pheolic compounds*, ed. por J. B. Harborne: 197. Academic Press, Londres y Nueva York.
- 7) WALLACE, J. W. y R. E. ALSTON, 1966. *Plant and cell physiology*, 7: 699.
- 8) WALLACE, J. W., 1967. Tesis de Ph. D. Universidad de Texas, EE.UU.
- 9) BREHM, B. G. y M. OWNBEY, 1965. *Am. J. Bot.*, 52: 811
- 10) McCLURE, J. B. y R. E. ALSTON, 1966. *Am. J. Bot.*, 53: 849.
- 11) ALSTON, R. E., 1968. En *Recent advances in Phytochemistry*, vol. I, ed. por T. J. Mabry, R. E. Alston y V. C. Runeckles: 305. Appleton-Century-Crofts, Nueva York.
- 12) ALSTON, R. E. y B. L. TURNER, 1963. *Am. J. Bot.*, 50: 159.
- 13) WAGNER, H., 1966. En *Comparative Phytochemistry*, ed. por T. Swain: 313. Academic Press, Nueva York y Londres.
- 14) HARBORNE, J. B., 1965. *Phytochemistry*, 4: 107.
- 15) HARBORNE, J. B., 1967. En *Comparative Biochemistry of the flavonoides*: 48. Academic Press, Nueva York y Londres.
- 16) BATE-SMITH, E. C., 1962. *J. Linn. Soc. (Bot.)*, 58: 95.
- 17) BATE-SMITH, E. C., 1968. *J. Linn. Soc. (Bot.)*, 60 (383): 326.
- 18) KRAPOVICKAS, A., Comunicación personal.

*Departamento de Botánica  
Fundación e Instituto Miguel Lillo  
Tucumán (R.A.).*

Términose de imprimir el 14 de mayo de 1970 en Fundación e Instituto Miguel Lillo, San Miguel de Tucumán (R.A.).