

Determinación de Ácidos Grasos y Aislamiento de Cumarinas en la Fracción Soluble en Éter de Petróleo de los Frutos de *Cassia corymbosa* Lamm.

Rosa E.L. de RUIZ ¹, María FUSCO ¹, Angela SOSA ¹, Ana M.P. RAPISARDA ¹
Juan M. LUCO ² y Sohar O. RUIZ ¹ *

¹ Farmacognosia, Area de Farmacognosia

² Laboratorio de Alimentos, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia,
Universidad Nacional de San Luis, Chacabuco y Pedernera, 5700 San Luis, Argentina

RESUMEN. *Cassia corymbosa* Lamm., conocida vulgarmente como “sen del campo”, “rama negra” o “mata negra”, es una especie vegetal usada en la medicina popular como catártico. En el extracto obtenido con éter de petróleo de los frutos, se detectaron ácidos grasos determinados como ésteres metílicos, mediante la técnica de la cromatografía en fase gaseosa. Además se aislaron dos cumarinas, identificadas como capensina y xantotoxina, a través de sus espectros de UV y ¹H¹RMN.

SUMMARY. “Determination of Fatty Acids and Isolation of coumarins from the Light Petroleum Soluble Fraction of Fruits of *Cassia corymbosa* Lamm.”. *Cassia corymbosa*, popularly known as “sen del campo”, “rama negra” or “mata negra”, is a plant used in folk medicine as cathartic. From the light petroleum extract fatty acids have been determined as methyl esters by GLC and two coumerins have been isolated and identified as capensin and xanthoxin by means of their UV and ¹H¹RMN spectra.

INTRODUCCION

Las hojas y tallos de *Cassia corymbosa* Lamm. (*Leguminosae*) son usados en la medicina popular como catárticos y emolientes ¹. Vulgarmente se la conoce como “sen del campo”, “rama negra” o “mata negra”. Se presenta como un arbusto o arbolito de 1,5 a 2 metros de altura, a veces reclinante, con hojas medianas compuestas y vainas péndulas. Se la encuentra en el nordeste de nuestro país, en Uruguay, sur del Brasil y se extiende hasta la zona de Mar del Plata. Se propaga fácilmente por semillas ².

En una comunicación anterior ³ se informó sobre el aislamiento de dos antraquinonas, el crisofanol y la aloemodina, ambas con propiedades catárticas, y dos pigmentos flavonoides, la penduletina y la quercetina, en el extracto alcohólico de hojas y tallos de esta especie vegetal.

Investigaciones previas ⁴ indican la presencia de alcaloides, taninos y fitoesteroles, resultados que coinciden con los obtenidos por Rondina y Coussio ⁵.

PALABRAS CLAVE: Ácidos grasos; *Cassia corymbosa*; Cumarinas; *Leguminosae*.

KEY WORDS: Fatty Acids; *Cassia corymbosa*; Coumarins; *Leguminosae*.

* Autor a quien dirigir la correspondencia.

En el presente trabajo se da cuenta de la composición del extracto en éter de petróleo de los frutos maduros de *Cassia corymbosa*. Recurriendo a técnicas de cromatografía en fase gaseosa se logró la determinación de cinco ácidos grasos saturados y un conjunto de ácidos grasos insaturados C-18. Por otra parte se aislaron dos cumarinas, las que se identificaron como capensina y xantoxina.

MATERIAL Y METODOS

Material vegetal

El material vegetal utilizado fueron los frutos aún no maduros de *Cassia corymbosa*. Un ejemplar de éste está depositado en el Herbario de la Universidad Nacional de San Luis, bajo el número 229.

Cromatografía en capa fina

Las cromatografías en capa fina de los lípidos extraídos, destinadas a verificar su homogeneidad, se realizaron sobre placas de gel de sílice (Merck 60-G) de 0,25 mm de espesor, usándose una mezcla de éter de petróleo-éter etílico-ácido acético (90:10:1) ⁶ y como revelador una mezcla formada por ácido sulfúrico-ácido acético-agua (80:10:10). Para la determinación de los ácidos grasos se recurrió a la cromatografía en fase gaseosa en un equipo Konik-3000 dotado de un detector de ionización de llama (FID), operándolo en las siguientes condiciones: temperatura inicial del horno 140 °C, mantenido por 4 minutos y un gradiente de 4 °C por minuto hasta alcanzar una temperatura de 220 °C; temperatura del inyector 200 °C; temperatura del detector 230 °C; columna empacada de OV-101, de dos metros de longitud y diámetros externos de 3,17 mm e interno de 2 mm, gas portador nitrógeno a un flujo de 30 ml por minuto. Las áreas de los picos fueron medidas con un integrador marca Varian modelo 4290.

Para las cumarinas las cromatografías en capa fina se corrieron en placas de gel de sílice de igual espesor que el indicado más arriba. Como fase móvil se usó una mezcla de cloroformo-metanol (9:1) y como revelador una solución hidroalcohólica de hidróxido de sodio ⁷. Los espectros UV se realizaron en un equipo Responce Gilford en solución metanólica y en cubeta de cuarzo. Los espectros ¹H RMN se registraron en un equipo Bruker AC-100 en solución deuterocloroformica, usando TMS como estándar interno.

Extracción del material vegetal

El material vegetal (1410 g), constituido por los frutos aún no maduros de *Cassia corymbosa* Lam. colectados en el departamento Ayacucho (Pcia. de San Luis) en el mes de marzo de 1992, fue secado en una estufa con circulación forzada de aire a 50 °C (± 1 °C), reducido a polvo fino y extraído en un "bustrón" ⁸ hasta agotamiento. El líquido extractivo fue evaporado al vacío hasta consistencia de extracto seco (21,30 g; 1,50% respecto a la cantidad de material vegetal de partida).

Este residuo se cromatografió en una columna de alúmina (Merck grado II-III según Brockmann), armada sobre benceno, aumentando la polaridad con el agregado creciente de acetato de etilo.

Eluyeron de la columna fracciones de color amarillo cuando el solvente fue benceno puro y benceno-acetato de etilo (95:5), conteniendo a los componentes grasos que se procesaron de acuerdo a lo descripto en la sección correspondiente.

Las fracciones que eluyeron con benceno-acetato de etilo (30:70) contenían las cumarinas, que se procesaron de acuerdo a lo descripto en la sección correspondiente.

Determinación de ácidos grasos

Las fracciones que eluyeron con benceno puro y benceno-acetato de etilo (90:10) se llevaron a seco y se las volvió a cromatografiar sobre alúmina con el fin de lograr una mayor purificación. Todas las fracciones que resultaron cromatográficamente iguales se mezclaron, se evaporó el solvente y se procedió de acuerdo a los siguientes pasos: en primer lugar se realizó la hidrólisis de las sustancias grasas con una solución de hidróxido de sodio 10M, calentando a 80 °C durante tres horas. Al cabo de ese tiempo se enfrió con agua y se extrajo con éter de petróleo (3x15 ml) quedando dos fracciones: una insaponificable y otra saponificable. A esta última se la acidificó con ácido clorhídrico concentrado y se extrajo con benceno. La transformación de los ácidos grasos en sus ésteres metílicos se realizó usando como reactivo el trifluoroboro-metanol al 14% ⁹, agregando éste a la solución bencénica de los ácidos grasos y calentando por dos minutos a 80 °C. Al cabo de este tiempo se agregó agua, usándose la capa bencénica para inyectar directamente al cromatógrafo.

La determinación de los ácidos grasos se realizó usando el método del estándar externo, inyectando en el cromatógrafo soluciones de ácidos grasos de concentraciones conocidas como testigos.

Aislamiento de las cumarinas

A partir de la elución de la columna con benceno-acetato de etilo (30:70) y hasta benceno-acetato de etilo (10:90) se obtienen fracciones que dan una intensa fluorescencia verde azulada cuando se colocan unas pocas gotas en un trozo de papel de filtro y se observan a la luz ultravioleta (366 nm). Además, evaporando el solvente se obtienen cristales, que colocados en un vidrio de reloj con unas gotas de álcali dan color amarillo que desaparece cuando se acidifica la solución. Estas pruebas sugieren la presencia de cumarinas ¹⁰.

El estudio cromatográfico en capa fina reveló la presencia de dos manchas netamente definidas. Con el objetivo de separar ambas manchas y proceder a su eventual purificación, el residuo proveniente de la evaporación del solvente se disolvió en metanol y se lo pasó a través de una columna de Sephadex LH-20, usando también metanol como líquido de elución. Las cromatografías en capa fina confirmaron la purificación. Los espectros de ultravioleta y de resonancia magnética nuclear demuestran que se trata de dos cumarinas, identificadas como capensina y xantotoxina.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Se ha estudiado la composición del extracto de éter de petróleo de los frutos de *Cassia corymbosa* Lamm., de gran aplicación en la medicina popular.

Se ha logrado la determinación de cinco ácidos grasos saturados (láurico, mirístico, palmítico, esteárico y araquídico), previa hidrólisis de los lípidos extraídos. Dentro de los ácidos insaturados, la mayor concentración corresponde a la mezcla de los ácidos C-18 (ácido oleico, ácido linoleico y ácido linolénico). La fracción correspondiente a los ácidos insaturados de C-18 no se pudo discriminar en las condiciones de trabajo mencionadas (Tabla 1).

Acido grasso		Porcentaje
Atomos de Carbono	Acido (nombre común)	
12	láurico	2,18
14	mirístico	4,22
16	palmítico	26,48
18	esteárico	7,81
10	oleico + linoleico + linolénico	55,62
20	araquídico	3,67

Tabla 1. Distribución porcentual de los ácidos grasos presentes en frutos *Cassia corymbosa*.

También se aislaron dos cumarinas, la capensina y la xantotoxinal. Las cumarinas son compuestos frecuentemente aislados en la familia de las *Leguminosas*¹¹ a la que pertenece la especie vegetal en estudio; son sustancias con reconocida actividad anticoagulante, espasmolítica e inhibidoras del crecimiento celular⁷.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ratera, E.L. y M.O. Ratera (1980) *Plantas de la Flora Argentina Empleadas en la Medicina Popular*, Ed. Hemisferio Sur S.A., pág. 144
2. Parodi, L. (1978) *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería* Ed. ACME S.A.-CI, Tomo I, pág. 478
3. L. de Ruiz, R.E., M. Fusco y S.O. Ruiz (1992) *Acta Farm. Bonaerense* **11**: 13-6
4. *Investigaciones Químicas de Vegetales* (1964), Folleto del Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Buenos Aires, Argentina
5. Rondina, R.V.D. y J.D. Coussio (1981) *Ensayo Fitoquímico Orientativo de Plantas con Actividad Farmacológica*, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Buenos Aires
6. Bollinger, H.R., M. Brenner, H. Ganshirt, H.K. Mangold, H. Seiler, E. Stahl y D. Waldi (1970) E. Stahl, Ed.,) *Thin Layer Chromatography. A Laboratory Handbook*, Springer-Verlag and Academic Press Inc. Publishers, New York, pág. 149
7. Domínguez, X.A. (1988) *Métodos de Investigación Fitoquímica*, Editorial Limusa, págs. 112 y 113
8. Bustamante, O.M., M. del C. Vaccaro y R.V.D. Rondina (1978) *Acta Farm. Bonaerense* **5**: 11-4
9. Supelco Inc. (1979) *G.C. Bulletin* **721**, pág. 1
10. García, E. y E. Guerreiro (1988) *Phytochemistry* **27**: 288-90
11. Murray, R.D.H., J. Méndez y S.A. Borown (1982) *The Natural Coumarins*, John Wiley & Sons Ltd., págs. 32 y 97