

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA**



**“CARACTERIZACIÓN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS
MAYORITARIOS PRESENTES EN LA CORTEZA DE *SENNA CASSIA*
SACRI (BRITT & ROSE)”**

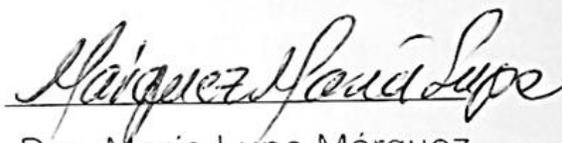
Trabajo Especial de Grado
presentado ante la Ilustre
Universidad Central de
Venezuela, por la Br. Krisbel
Tereza Amundarain Pérez, para
optar al título de Licenciada en
Química, mención Básica.

Caracas, Marzo de 2019

Los abajo firmantes asignados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del Trabajo Especial de Grado titulado: "Caracterización de los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en la corteza de *Senna cassia sacri* (Britt & Rose)", presentado por la Br. Krisbel Tereza Amundarain Pérez, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciada en Química.



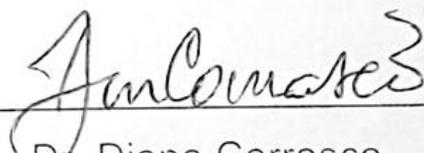
Dra. Alirica Suárez
(Tutora)



Dra. Maria Lupe Márquez
(Tutora)



Dra. Beth Díaz
(Jurado)



Dr. Diana Carrasco
(Jurado)

RESUMEN

El trabajo que a continuación se presenta describe detalladamente el primer estudio fitoquímico de la corteza de la planta *Senna cassia sacri* (Britt & Rose).

Los extractos de Hexano y Cloroformo se unieron ya que presentaron características similares al estudiarlos por Cromatografía de Capa Fina. Se aislaron 6 compuestos, 3 identificados como: Linoleato de β -Sitosterol, Lupeol y Friedelina, y 3 ácidos grasos no identificados.

Se analizó la fracción KASCA_cC₇(22-44) obtenida del extracto de acetato de etilo a través de su espectro de RMN ¹H y ¹³C, donde se observaron señales que sugieren la presencia de compuestos antraquinónicos, los cuales son marcadores taxonómicos de los géneros *Senna* y *Cassia*.

Dedicatoria

A Dios

A mis padres Judith y Roberth, y a mi hijo Elian.

Los amo con el alma...

Agradecimientos

- A Dios, por ser parte de mi vida iluminando mi camino dándome salud, fuerza, paciencia, sabiduría y amor. Gracias por permitirme esta experiencia como estudiante y formarme como profesional en la Universidad Central de Venezuela.
- A mis padres, por su amor, dedicación, cariño, apoyo y educación. Gracias por estar siempre y alentarme a culminar la carrera.
- A Daniel Rodriguez por acompañarme siempre en los momentos buenos y malos; por cuidarme, quererme, ayudarme y soportarme todo este tiempo, sin ti todo hubiese sido más difícil. Gracias a su familia y amigos por su apoyo incondicional.
- A mis hermanos y familia en general que de una manera u otra siempre están presentes en mi vida. Gracias abuelitas por su cariño y amor incondicional, las amo.
- A mi hijo Elian David por la felicidad que me da cada día y ser la fuerza y el motor que me impulsa a mejorar. Eres la luz de mi vida.
- A mi tutora la Dra. Alírica Suárez por ser una guía importante en este proyecto y un ejemplo a seguir de dedicación, constancia, trabajo y esfuerzo. Mil gracias profe por su paciencia, por el conocimiento que me dio y no dejarme caer en los momentos difíciles.
- A mi tutora María Lupe Márquez, por brindarme su apoyo, amistad, confianza y la oportunidad de compartir sus conocimientos conmigo.
- A las profes Katuska Chávez y Beth Díaz por su colaboración, consejos y amistad brindada mientras estuve en el laboratorio.
- A mis amigas Francis, Yudimar, Ambar y Anyoli por mostrarme una amistad sincera y una vida real en Jesucristo. Gracias Francis, recorrimos todo este camino juntas desde el primer día, los momentos buenos y malos los vivimos y sentimos juntas.

Índice general

Índice de tablas.....	iv
Índice de figuras.....	v
Índice de esquemas.....	vi
Índice de espectro.....	vii
Lista de abreviaturas (Acrónimos) y símbolos.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
I.1 Familia Leguminoseae.....	2
I.2 Clasificación.....	4
I.3 Género <i>Senna cassia</i>	7
II. ANTECEDENTES.....	10
II.1 <i>Cassia tora</i> Linn.....	11
II.2 <i>Cassia auriculata</i> Linn.....	13
II.3 <i>Cassia alata</i>	15
II.4 <i>Cinnamomum cassia</i> (L.) J. Presl.....	16
II.5 <i>Cassia itálica</i>	17
II.6 <i>Cassia roxburghii</i> Linn.....	19
II.7 <i>Senna bicapsularis</i> (L.) Roxb.....	19
II.8 <i>Cassia pumila</i> Lamk.....	20
II.9 <i>Cassia angustifolia</i> M. Vahl.....	22
II.10 <i>Senna siamea</i> (Lam.) H.S. Irwin & Barneby.....	24
II.11 <i>Cassia renigera</i> Benth.....	24
II.12 <i>Cassia obtusifolia</i> L.....	25
III. TAXONOMÍA DE <i>SENNA CASSIA SACRI</i>	26
IV. JUSTIFICACIÓN.....	26
V. OBJETIVOS.....	27
V.1 Objetivo general.....	27
V.2 Objetivos específicos.....	27

VI. PARTE EXPERIMENTAL.....	28
VI.1 Equipos.....	28
VI.2 Materiales y reactivos.....	28
VI.2.1 Solventes.....	28
VI.2.2 Solventes para análisis de RMN.....	28
VI.2.3 Material para cromatografía.....	29
VI.2.4 Revelador.....	29
VI.3 Procedimiento experimental.....	29
VI.3.1 Colecta del material vegetal.....	29
VI.3.2 Extracción.....	30
VI.3.3 Fraccionamiento.....	33
VI.3.3.1 Fraccionamiento del extracto de hexano más CHCl ₃ (KASCH+C).....	33
VI.3.3.2 Fraccionamiento del extracto de AcOEt.....	36
VI.3.3.3 Características y datos espectroscópicos de los compuestos aislados de la corteza de <i>Senna cassia</i> <i>sacri</i>	37
VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	39
VII.1 Estudio fitoquímico.....	39
VII.1.1 Compuesto I: Ácido graso I.....	39
VII.1.2 Compuesto II: Linoleato de β-Sitosterol.....	42
VII.1.3 Compuesto III: Ácido graso II.....	48
VII.1.4 Compuesto IV: Lupeol.....	51
VII.1.5 Compuesto V: Friedelina.....	58
VII.1.6 Compuesto VI: Ácido graso III.....	65
VII.1.7 Fracción KASCA _c C ₇ (22-44).....	69
VIII. CONCLUSIONES.....	73
IX. RECOMENDACIONES.....	74
X. BIBLIOGRAFÍA.....	75
XI. ANEXO.....	79

Índice de tablas

Tabla 1. Comparación de los datos del Linoleato de β -Sitosterol en protones.....	44
Tabla 2. Comparación de los datos del Linoleato de β -Sitosterol en carbono.....	47
Tabla 3. Comparación de los datos del Lupeol en protones.....	53
Tabla 4. Comparación de los datos del Lupeol en carbono.....	57
Tabla 5. Comparación de los datos de Friedelina en protones.....	60
Tabla 6. Comparación de los datos de Friedelina en carbono.....	64

Índice de figuras

Figura 1. Mapa de distribución mundial de la familia Leguminoseae.....	3
Figura 2. Flores características de las subfamilias de Leguminoseae.....	5
Figura 3. Dibujo de la planta <i>Cassia angustifolia</i>	22

Índice de esquemas

Esquema 1. Extracción de la corteza de <i>Senna cassia sacri</i>	32
Esquema 2. Fraccionamiento del extracto de hexano más CHCl_3	35
Esquema 3. Fraccionamiento del extracto de AcOEt.....	37

Índice de espectros

Espectro 1.	RMN ^1H del Ácido graso I.....	41
Espectro 2.	RMN ^1H del Linoleato de β -Sitosterol.....	43
Espectro 3.	RMN ^{13}C de Linoleato de β -Sitosterol.....	45
Espectro 4.	DEPT 135 del Linoleato de β -Sitosterol.....	46
Espectro 5.	RMN ^1H del Ácido graso II.....	49
Espectro 6.	RMN ^{13}C del Ácido graso II.....	50
Espectro 7.	RMN ^1H del Lupeol.....	52
Espectro 8.	RMN ^{13}C del Lupeol.....	54
Espectro 9.	DEPT 135 del Lupeol.....	55
Espectro 10.	DEPT 135 del Lupeol ampliado.....	56
Espectro 11.	RMN ^1H de Friedelina.....	59
Espectro 12.	RMN ^{13}C de Friedelina.....	61
Espectro 13.	RMN ^{13}C de Friedelina ampliado.....	62
Espectro 14.	Comparación del espectro DEPT 135 con el RMN ^{13}C de Friedelina.....	63
Espectro 15.	RMN ^1H del Ácido graso III.....	66
Espectro 16.	RMN ^{13}C del Ácido graso III.....	67
Espectro 17.	RMN ^{13}C del Ácido graso III ampliado.....	68
Espectro 18.	RMN ^1H de la fracción $\text{KASCA}_c\text{C}_7(22-44)$	70
Espectro 19.	RMN ^{13}C de la fracción $\text{KASCA}_c\text{C}_7(22-44)$	71
Espectro 20.	RMN ^{13}C de la fracción $\text{KASCA}_c\text{C}_7(22-44)$ ampliado.....	72

ABREVIATURAS (ACRÓNIMOS) Y SÍMBOLOS

C	Carbono cuaternario
CH	Metino
CH ₂	Metileno
CH ₃	Metilo
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CHCl ₃	Cloroformo
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (Mejoramiento sin distorsión por transferencia de polarización)
AcOEt	Acetato de etilo
CC	Cromatografía de columna
CCF	Cromatografía de capa fina
TLC	Thin layer chromatography (Cromatografía de capa fina)
mL	Mililitros
MeOH	Metanol
H ₂ O	Agua
MgSO ₄	Sulfato de Magnesio
R _f	Factor de retención
g	Gramos
mg	Miligramos
F _m	Fase móvil
CCP	Cromatografía de Capa Preparativa
¹ H RMN	Resonancia Magnética Nuclear de protones
¹³ C RMN	Resonancia Magnética Nuclear de carbonos
MHz	Megahertz

Hz	Hertz
δ	Desplazamiento químico
δ_H	Desplazamiento químico de protones
ppm	Partes por millón
s	Singlete
t	Triplete
J	Constante de Acoplamiento
m	Multiplicidad
d	Doblete

Extractos obtenidos:

KASCH+C	krisbel amundarain <i>senna cassia</i> hexano más cloroformo
KASCF(3-4)	krisbel amundarain <i>senna cassia</i> fracción 3 a la 4
KASCF(5-8)	krisbel amundarain <i>senna cassia</i> fracción 5 a la 8
KASCF(9-17)	krisbel amundarain <i>senna cassia</i> fracción 9 a la 17
KASCF(18-30)	krisbel amundarain <i>senna cassia</i> fracción 18 a la 30
KASCQC	krisbel amundarain <i>senna cassia</i> lo que quedo de la columna
KASCQCC ₂ (3-4)	krisbel amundarain <i>senna cassia</i> lo que quedo de la columna, columna 2, fracción 3 a la 4
KASCQCC ₂ (5-14)	krisbel amundarain <i>senna cassia</i> lo que quedo de la columna, columna 2, fracción 5 a la 14
KASCQCC ₂ 15	krisbel amundarain <i>senna cassia</i> lo que quedo de la columna, columna 2, fracción 15
KASCQCC ₂ (5-14)C ₁₀ (75-96)	krisbel amundarain <i>senna cassia</i> lo que quedo de la columna, columna 2, fracción 5 a la 14, columna 10, fracción 75 a la 96

KASCQCC₂(5-14)C₁₀(128-130) krisbel amundarain *senna cassia* lo que quedo de la columna, columna 2, fracción 5 a la 14, columna 10, fracción 128 a la 130

KASCQCC₂(5-14)C₁₀(131-142) krisbel amundarain *senna cassia* lo que quedo de la columna, columna 2, fracción 5 a la 14, columna 10, fracción 131 a la 142

KASCQCC₂(5-14)C₁₀(146-177) krisbel amundarain *senna cassia* lo que quedo de la columna, columna 2, fracción 5 a la 14, columna 10, fracción 146 a la 177

KASCQCC₂(5-14)C₁₀74 krisbel amundarain *senna cassia* lo que quedo de la columna, columna 2, fracción 5 a la 14, columna 10, fracción 74

KP_{4.2} krisbel preparativa 4, fracción 2

KP_{3.3} krisbel preparativa 3, fracción 3

KASCA_CC₇(13-21) krisbel amundarain *senna cassia* acetato, columna 7, fracción 13 a la 21

KASCA_CC₇(22-44) krisbel amundarain *senna cassia* acetato, columna 7, fracción 22 a la 44

KASCA_CC₇(45-52) krisbel amundarain *senna cassia* acetato, columna 7, fracción 45 a la 52

KASCA_CC₇(53-55) krisbel amundarain *senna cassia* acetato, columna 7, fracción 53 a la 55

KASCA_CC₇(56-63) krisbel amundarain *senna cassia* acetato, columna 7, fracción 56 a la 63

KASCA_CC₇(64-91) krisbel amundarain *senna cassia* acetato, columna 7, fracción 64 a la 91

I. INTRODUCCIÓN

El medio ambiente en su sabia naturaleza nos ha proporcionado plantas cuyos extractos han sido utilizados por el ser humano a lo largo de la historia ya sea en curaciones, pócimas, alucinógenos, cosmética, industria textil, entre otros. Por mucho tiempo las plantas medicinales fueron el principal recurso disponible en la medicina; esto motivo a profundizar más sobre el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales. ^[1]

Gracias a los avances en la ciencia y tecnología es posible diferenciar cada componente por su estructura química y poder explicar su comportamiento en el cuerpo humano. Usualmente son los metabolitos secundarios producidos por las plantas como productos secundarios de sus procesos biosintéticos vitales para su desarrollo, los que tienen efectos farmacológicos sobre los seres humanos. ^[1]

Las plantas medicinales constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en desarrollo. Aunque a nivel mundial no existen datos precisos para evaluar el uso global de plantas medicinales, la Organización Mundial de la Salud ha estimado que más del 80% de la población mundial utiliza la medicina tradicional para sus necesidades de atención primaria de salud y que gran parte de los tratamientos tradicionales involucran el uso de extractos de plantas o sus principios activos. ^[1]

El uso de plantas medicinales es adecuado en determinadas situaciones en las que la fitoterapia puede ser eficaz. Puede ser una alternativa mejor a determinados tratamientos, porque generalmente presentan menos efectos secundarios. ^[2]

Un ejemplo importante son las especies pertenecientes a las Caesalpiniaceae/Leguminosae, comúnmente utilizadas como plantas medicinales en países con medicina tradicional reconocida. Entre las leguminosas se cuenta con elementos de gran importancia económica: alimenticias, medicinales, forrajeras, empleadas a manera de abono verde, maderable y ornamental, a la vez que otras conocidas como tóxicas, espinosas o malezas invasoras. ^[3]

La especie *Senna cassia* es una planta que se utiliza generalmente por sus propiedades laxantes. ^[4]

I.1 Familia Leguminosae

Las Leguminosas son árboles, arbustos o plantas herbáceas, a veces trepadores, en ocasiones espinosos, glabros o con variados tipos de pubescencia; hojas alternas o rara vez opuestas, comúnmente pecioladas y provistas de estípulas, lámina por lo general compuesta: pinnada, bipinnada, digitada, trifoliolada, pocas veces unifoliolada, simple o ausente; flores solitarias o dispuestas en racimos axilares o terminales, a veces agrupadas en fascículos, cabezuelas, umbelas o panículas, por lo general provistas de brácteas y/o bractéolas; flores hermafroditas, zigomórficas o (en Mimosoideae) actinomórficas; sépalos 5, libres o unidos en su parte inferior; pétalos casi siempre 5, comúnmente libres, a veces unidos formando un tubo, o bien, 3 libres y los 2 inferiores más o menos connados entre sí; estambres típicamente 10 (a veces menos) o numerosos, hipóginos, libres o a menudo soldados entre sí pero con las partes superiores separadas, anteras ditecas, por lo común dorsifijas, iguales entre sí o dimorfas, de dehiscencia longitudinal o en ocasiones poricida; ovario súpero, unicarpelar y unilocular, con varios a muchos (rara vez 1 ó 2) óvulos sobre una placenta

marginal, estilo simple, entero, estigma entero, terminal o lateral; fruto variable pero típicamente en forma de legumbre o vaina, seco, dehiscente mediante ambas suturas, otras veces indehiscente o fragmentándose transversalmente; semillas una a numerosas, de testa dura, endosperma por lo común ausente o escaso, cotiledones evidentes, a veces ariladas. ^[3]

Esta es una de las tres familias de plantas vasculares mejor representadas a nivel mundial. Se calculan alrededor de 550 géneros y unas 12000 a 17000 especies de distribución cosmopolita, principalmente en las regiones cálidas y templadas. ^[3]

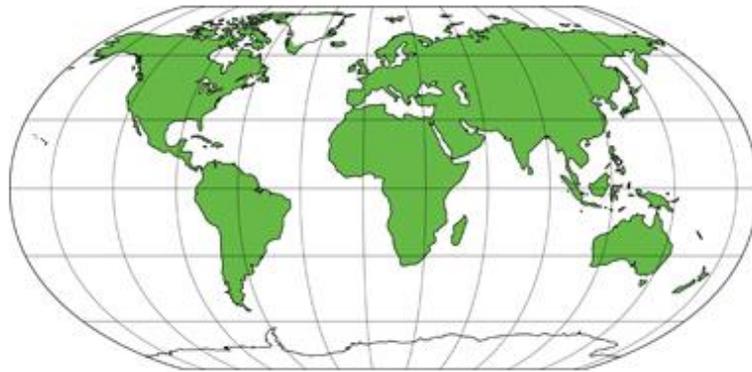


Figura 1: Mapa de distribución mundial de la familia Leguminosae.^[5]

Tomado de: Bonifacio, M., Rossado, A., y Souza, M. (2015)

La familia Leguminosae es cosmopolita. La subfamilia Caesalpinoideae es mayormente subtropical y tropical, ^[5] exceptuando las regiones antárticas.^[6]

I.2 Clasificación

Se considera a las Leguminosas como una sola entidad subdividida en las subfamilias Caesalpinioideae, Mimosoideae y Papilionoideae. ^[3]

Clave para subfamilias:

1 Caesalpinioideae:

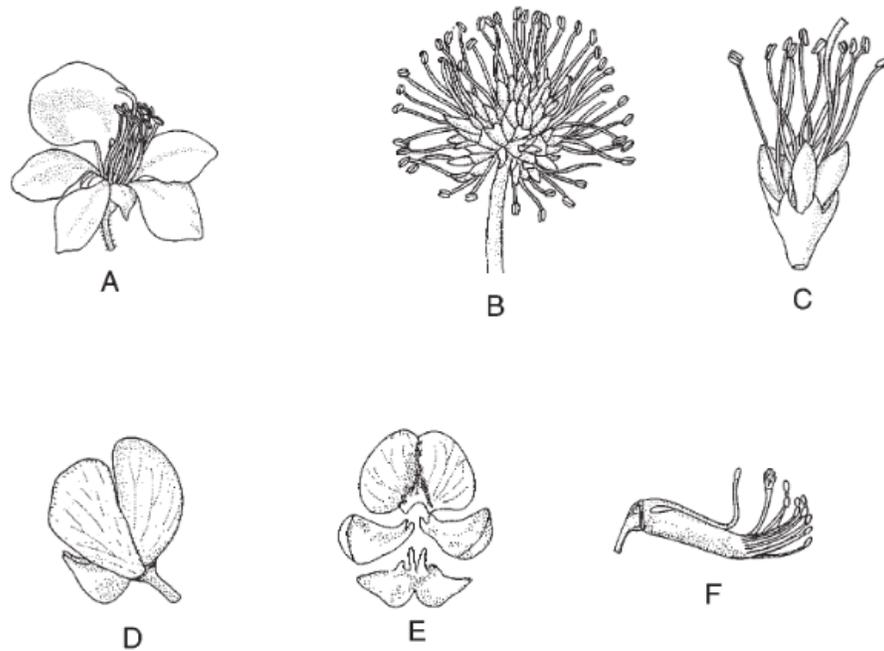
Corola ligeramente zigomorfa, de 5 pétalos libres; filamentos por lo común libres; sépalos usualmente libres; hojas con frecuencia pinnadas o bipinnadas (simples en Bauhinia y Cercis). ^[3]

2 Mimosoideae:

Flores actinomorfas, por lo común inconspicuas y agrupadas en cabezuelas o espigas cilíndricas; corola de prefloración valvada; cáliz y corola unidos en la base; hojas por lo general bipinnadas. Flores zigomorfas, por lo común conspicuas; corola de prefloración imbricada; pétalos separados o a veces algunos unidos entre sí. ^[3]

3 Papilionoideae:

Corola pronunciadamente zigomorfa ("amariposada"), los 3 pétalos superiores libres y los 2 inferiores por lo general más o menos connados entre sí; filamentos por lo común unidos en la base en mayor o menor grado envolviendo al ovario; sépalos usualmente unidos en la base; hojas nunca bipinnadas. ^[3]



Familia Leguminosae. Flores características de las tres subfamilias. Caesalpinioideae: A. flor. Mimosoideae: B. inflorescencia; C. flor. Papilionoideae: D. corola vista de perfil; E. corola vista de frente; F. androceo. Ilustrado por Rogelio Cárdenas.

Figura 2: Flores características de las subfamilias de Leguminosae. [3]

Tomado de: Rzedowski, J., Calderón, G. (1997)

Subfamilia Caesalpinioideae:

Son árboles, a veces con raíces tabulares, arbustos, o hierbas, anuales o perennes, menos frecuentemente lianas, inermes o no, con o sin indumento de tricomas simples o glandulares variados. Nectarios extraflorales a menudo presentes en diversos géneros. Hojas alternas, pecioladas, bipinnadas, o pinnadas, menos frecuentes simples o reducidas; estípulas pequeñas, deltoides, subuladas, filiformes a foliáceas, pinnadas, a veces espinescentes, persistentes o caducas; folíolos escasos a numerosos, generalmente opuestos. Inflorescencias axilares o terminales en racimos simples o compuestos, o en espigas, a veces reducidas a fascículos

umbeliformes o a flores solitarias, a veces con caulifloría; brácteas y bractéolas presentes o no. Flores generalmente zigomorfas, de prefloración imbricada, ascendente, medianamente pequeñas o grandes, a veces vistosas, generalmente bisexuales; hipanto generalmente presente, cupular o tubuloso, frecuentemente con tejido nectarífero en su interior; cáliz gamo o dialisépalo, de 3-6 sépalos; corola dialipétala, amarilla, rojiza o rosada, menos frecuente blanca, de (0-)1-5 pétalos; estambres (1-)2-10 (-26), a veces soldados hacia la base, exsertos o inclusos, dimórficos o heteromórficos; polen generalmente libre; estigma cóncavo o convexo. Ovario 1-pluriovulado, generalmente estipitado, con el estípite libre o adnato a la pared del hipanto; estilo largo o breve, a menudo incurvo; estigma, capitado, peltado o inconspicuo. Legumbres generalmente alargadas, rectas o encorvadas, comprimidas lateralmente o c, ovoides o romboidales, con o sin endosperma mucilaginoso, con hilo apical o subapical, completo o incompleto, generalmente sin línea fisural o pleurograma, a veces cilíndricas, a veces aladas (sámara), rara vez globosa, de consistencia variada, glabras o pilosas, con o sin tricomas glandulares, a veces espinescentes, dehiscentes o no. Semillas frecuentemente numerosas, medianas, comprimidas, globosas ariladas; embrión usualmente recto; cotiledones carnosos o foliáceos. ^[7]

La subfamilia integrada por aproximadamente 160 géneros y cerca de 2. 500 especies que habitan principalmente en los trópicos y subtrópicos de ambos hemisferios, formando parte importante de la vegetación primaria, principalmente en América, África y Asia. Unos pocos géneros crecen en climas templados (*Cercis*, *Ceratonia*, *Gleditsia* y *Gymnocladus*). Las Caesalpinioideae ocupan un ancho rango de ambientes, algunas estrictamente en selvas tropicales, bosques perennifolios, selvas de galería, bosques caducifolios, sabanas o bien semidesiertos, distribuyéndose entre altitudes que van desde el nivel del mar hasta los 3.600-4.000 metros. En

Sudamérica se encuentran 65 géneros (entre nativos e introducidos) y aproximadamente 1.200 especies, siendo los más numerosos para el área: *Chamaecrista* (214 especies), *Senna* (Cerca de 146 especies), *Macrolobium* (70-80 especies); *Bauhinia* (75 especies), *Tachigali* (65 especies) y *Caesalpinia* (Cerca de 40 especies). De estos 65 géneros, 30 son usuales en Sudamérica, principalmente en Brasil. ^[7]

I.3 Género *Senna cassia*

Son plantas herbáceas, arbustivas o arbóreas, rara vez trepadoras, a menudo fétidas al estrujarse; hojas por lo general paripinnadas, en ocasiones bifolioladas, modificadas en filodios o ausentes, con frecuencia provistas de glándula(s) en el raquis o sobre el peciolo; inflorescencia axilar, racimosa o paniculada, o bien, las flores solitarias o agrupadas por pocas, pedicelos sin bracteolas; sépalos todos iguales o gradualmente desiguales; corola (en todas las especies americanas) amarilla, rara vez blanca, zigomórfica, o en ocasiones irregular con uno de los pétalos conspicuamente modificado; androceo zigomórfico, estambres 10, de los que por lo general los 6 ó 7 abaxiales son fértiles y 3 ó 4 adaxiales convertidos en estaminodios, anteras de los estambres fértiles basifijas, por lo general heteromórficas y dispuestas en dos conjuntos distintos: 4 centrales y 2 ó 3 abaxiales, a menudo provistas de un pico, dehiscentes por 2 poros o hendeduras apicales, a menudo confluentes; ovario por lo común con numerosos óvulos; legumbre aplanada a rolliza o angulosa, a veces alada, sus valvas papiráceas a leñosas, dehiscente a lo largo de ambas suturas, o bien, indehiscente, a menudo transversalmente septada; semillas con frecuencia areoladas, dispuestas con su dimensión más larga paralela a las valvas o a los septos de los frutos. ^[3]

Género de unas 260 especies, en su gran mayoría distribuidas en áreas tropicales y subtropicales del globo, pero con una notable concentración de su diversidad en América. Con anterioridad a la publicación de la monografía de Irwin y Barneby todo este grupo se incluía por muchos autores como parte de *Cassia*, considerado en sentido amplio. Por sus vistosas flores varias especies se usan como ornamentales. Muchas se emplean también como medicinales. ^[3]

En la historia la ciudad de Bagdad era una de las mayores del mundo, el centro de la cultura árabe y un verdadero emporio comercial, sin embargo, aunque florecían las artes y las ciencias, la medicina estaba en la barbarie. Para curar el estreñimiento, por ejemplo, se prescribían purgantes tan enérgicos y en tales dosis que se hacían estragos en los intestinos del paciente, por lo que la gente consideraba peor el remedio que la enfermedad. Ante esta situación, a principios del siglo IX el califa mandó a llamar a un notable y prestigiado médico árabe de nombre Yuhanna ibn-Masa-wayh y conocido por la posteridad como Mesue el Viejo. Entre las muchas medicinas y tratamientos revolucionarios que este hábil sanador trajo del sur se contaban las hojas de *sen*. Estas hojas proceden de un arbusto de flores amarillas, nativo de las áridas planicies del norte y oriente de África, y contienen sustancias que estimulan los movimientos peristálticos del intestino, por lo que actúan como laxantes. La infusión de hojas de *sen* tiene un sabor amargo, parecido al de la goma, que no resulta agradable, pero mejora si se le añade alguna especia, como clavo, coriandro o jengibre; estas especias, además, ayudan a prevenir los retorcijones que el *sen* puede producir, pues se trata de un laxante mucho más enérgico que las especies americanas de *Cassia* que tienen uso medicinal. Mezclada con especias es como se bebía esta infusión en los países árabes y como después se tomó en Europa durante casi 1000 años. Actualmente, muchos laxantes comerciales contienen los principios activos que se extraen de las hojas

secas y las vainas verdes de sen, que proceden principalmente de los cultivos del sur de la India. ^[8]

Actualmente, *Cassia* presenta 30 especies distribuidas en el circumtrópico. En Venezuela sólo se señalan cuatro especies: *Cassia cowanii* H.S. Irwin & Barneby, *Cassia fastuosa* Willd. ex Benth., *Cassia grandis* L. f. y *Cassia moschata* Kunth, que se caracterizan por ser árboles de gran tamaño, sin nectarios extraflorales, las flores con androceo formado con tres estambres abaxiales, alargados y curvos, y otros cortos y rectos; las legumbres son alargadas, carnosas, teretes, comprimidas e indehiscentes y semillas sin pleurograma. ^[9]

Por su parte, el género *Senna* presenta 260 especies en el mundo y 40 especies en Venezuela. Este género a diferencia de *Cassia* se distingue por su diversidad en los biotipos, donde se pueden encontrar desde árboles hasta hierbas; sus especies se caracterizan por poseer nectarios extraflorales, las flores presentan androceo con estambres rectos y cortos, las legumbres son plano-comprimidas y dehiscentes, y posee semillas generalmente con pleurograma. ^[9]

En Venezuela, algunas especies de los géneros *Cassia* y *Senna* presentan frutos apetecidos por el ganado. Además, son de importancia como plantas productoras de sustancias medicinales, y por su uso ornamental en parques y plazas; de igual manera, pueden ser utilizadas como barreras vivas y sombra en viveros de algunos cultivos comerciales. ^[9]

II. ANTECEDENTES

Química y farmacología

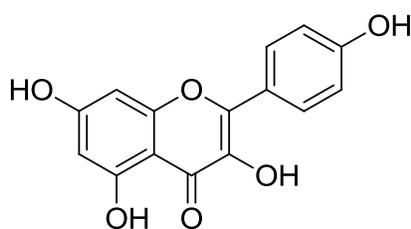
Los vegetales del género *Senna Cassia* son conocidas por la presencia de compuestos antraquinónicos, reportados con diferentes acciones farmacológicas. Estudios etnobotánicos, reconocen a varias especies de *Cassia* como plantas que poseen interés por sus propiedades medicinales y se reportan usos tradicionales como antihipertensivos, antiinflamatorios, antiinfecciosos, diuréticos, antitumorales, antianémicos, antimicrobianos, antiherpéticos, anticatarrales, analgésicos, contra afecciones cutáneas, para el tratamiento de trastornos estomacales, espasmos, cólicos nefríticos y cálculos renales. ^[10]

Se reporta como la acción más reconocida de las quinonas detectadas en las plantas del género *Cassia* la de laxante, por ejemplo, algunas antraquinonas presentes en el *Sen* (*Cassia angustifolia*). También se han reconocido los efectos beneficiosos de las hojas de estas plantas en el tratamiento antiparasitario y contra infecciones cutáneas de origen bacteriano y fúngico. ^[10]

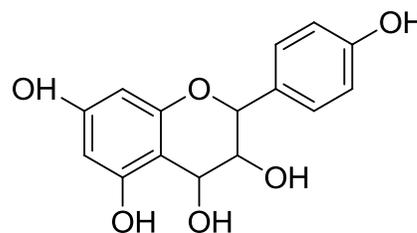
Se muestra a continuación una revisión bibliográfica de los metabolitos secundarios aislados en estudios fitoquímicos de algunas especies de los géneros *Senna* y *Cassia*:

II.1 *Cassia tora* Linn.

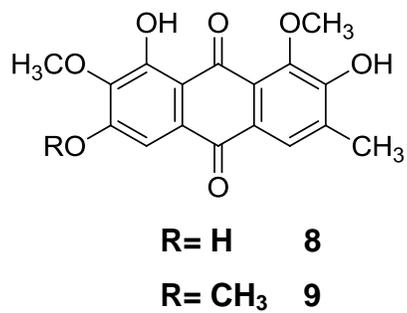
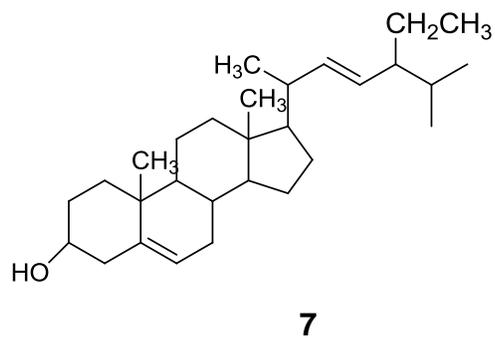
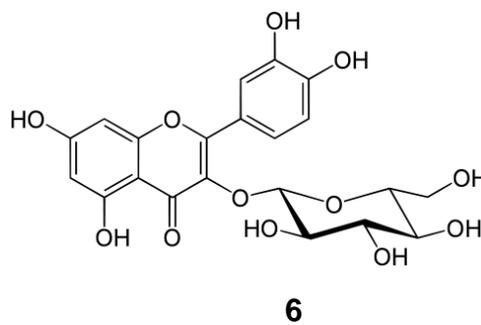
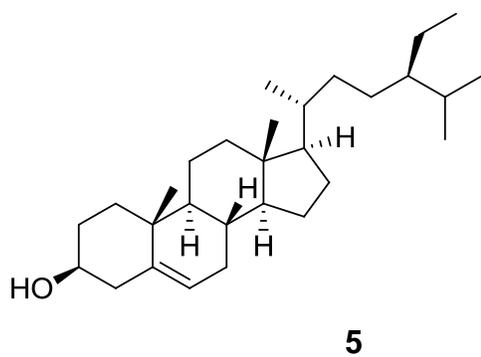
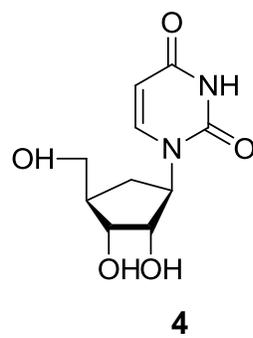
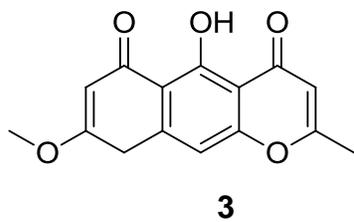
Cassia tora Linn. es una de las plantas que contiene antraquinonas bien conocidas y ha sido utilizada en la medicina China y Ayurvédica. Toda la planta, así como partes específicas tales como las raíces, hojas y semillas se han utilizado ampliamente contra diferentes enfermedades por los médicos rurales y tradicionales de la región Saptura de Madhya Pradesh. La planta se distribuye en general en toda la India, Sri Lanka, China Occidental y los trópicos. Se le conoce como *Charota* (Hindi); *Cassia fétida* (Inglés) y Jui Ming Zi (China). En la India se presenta como maleza de terrenos baldíos en época de lluvias, crece en suelos secos en zonas tropicales y en las altas colinas en alturas de hasta 1.800 metros, así como en las llanuras. De *Cassia tora* Linn. se ha aislado kamferol (**1**), leucopelargonidina (**2**), rubrofusarina (**3**), uridina (**4**), β -sitosterol (**5**), quercitrina (**6**), stigmasterol (**7**), aurantio-obtusina (**8**), chryso-obtusina (**9**), physcion (**10**), emodina (**11**), crisofanol (**12**), obtusina-2-O- β -D-glucósido (**13**), obtusina (**14**), obtusifolina (**15**), obtusifolina-2-O- β -D-glucósido (**16**), cassiasida (**17**), rubrofusarina-6-O- β -D-gentiobiósido (**18**), toralactona-9-O- β -D-gentiobiósido (**19**).^[11]

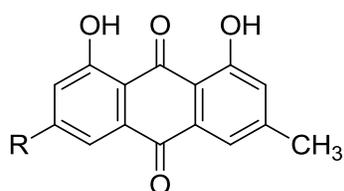


1



2

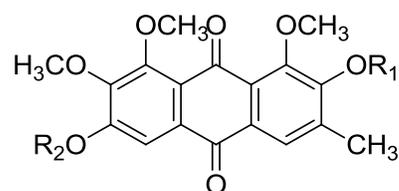




R= OCH₃ 10

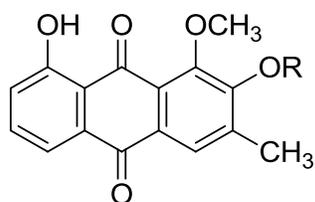
R= OH 11

R= H 12



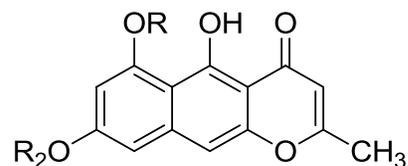
R₁= H, R₂= glc 13

R₁=R₂= H 14



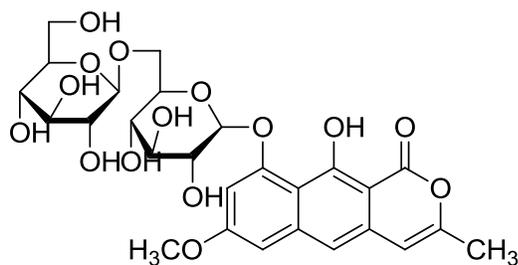
R= H 15

R= glc 16



R= glucosil, R₂= H 17

R= gentiobiósido, R₂= CH₃ 18

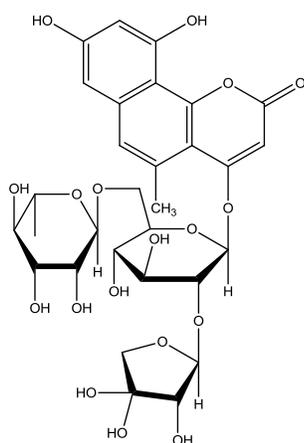
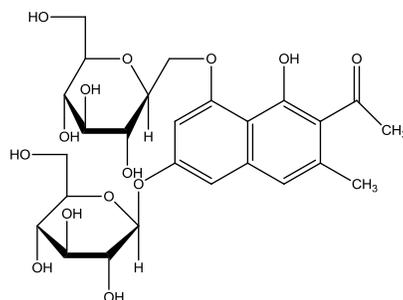
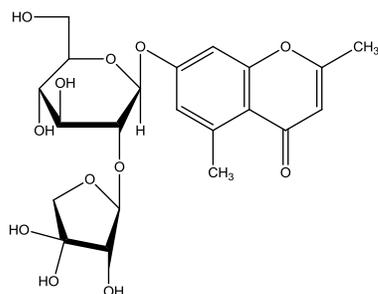
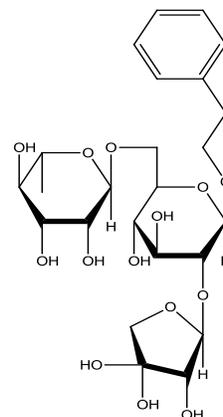


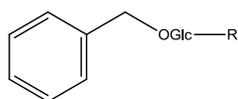
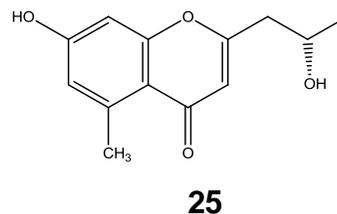
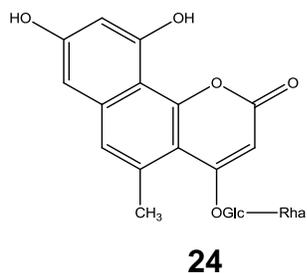
19

II.2 *Cassia auriculata* Linn.

Cassia auriculata pertenece a la familia Leguminoseae y se utiliza para el tratamiento de la diabetes, reumatismo, asma, y enfermedades de la piel en la medicina tradicional ayurvédica. A partir de las semillas de dicha

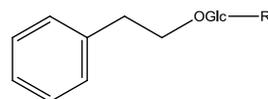
planta se aislaron los siguientes compuestos: un glicósido de benzocumarina, cassiaglicósido I (**20**), un glicósido de naftol, cassiaglicósido II (**21**), un glicósido de cromona, cassiaglicósido III (**22**), un glicósido de feniletilo, cassiaglicósido IV (**23**), avaraosido I (**24**), aloesol (**25**), benzil de O- α -L-arabinofuranosil (1 \rightarrow 6) β -D-glucopiranosido (**26**), benzil de O- β -D-apiofuranosil (1 \rightarrow 2) β -D-glucopiranosido (**27**), 2-fenietil D-rutinosido (**28**), 2-fenietil O- α -L-arabinofuranosil (1 \rightarrow 6) β -D-glucopiranosido (**29**) y sayaendosido (**30**). Las estructuras son las siguientes: ^[12]

**20****21****22****23**



R= -Ara 26

R= -Api 27



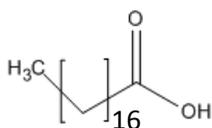
R= -Rha 28

R= -Ara 29

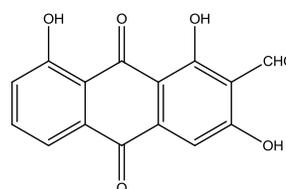
R= -Api 30

II.3 *Cassia alata*

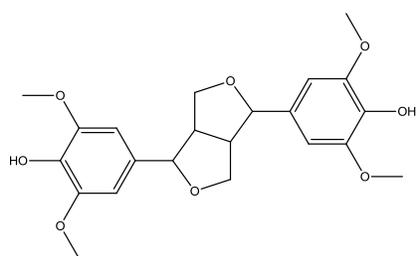
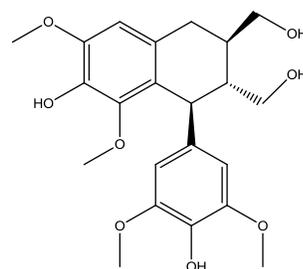
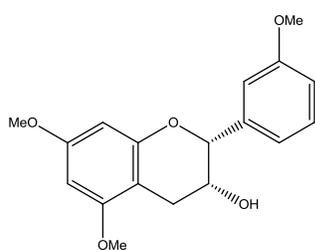
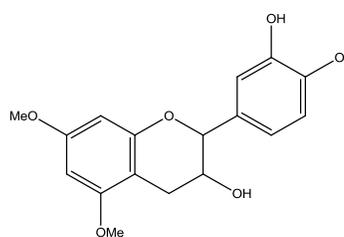
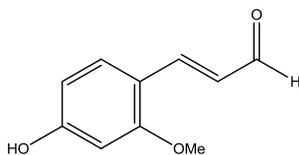
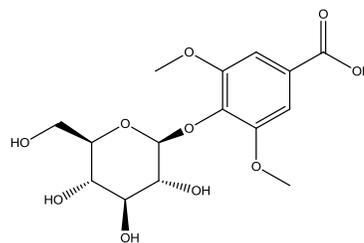
Cassia alata L. (Fabaceae) es un arbusto ornamental introducido en la India desde la India Occidental. Es una planta medicinal que tiene actividades antimicrobianas, antialérgicos y efecto purgante. Su extracto de hoja induce el efecto citotóxico. De las flores se extrajeron y se caracterizaron tres compuestos los cuales son el ácido esteárico (**31**), alanonal (**32**), y β -sitosterol- β -D-glucósido (**33**).^[13]



31



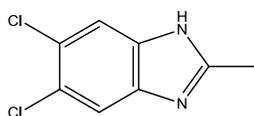
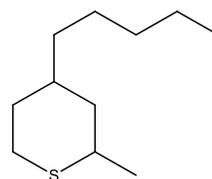
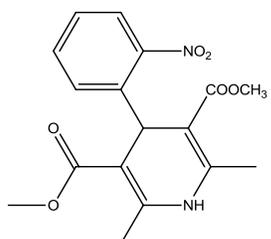
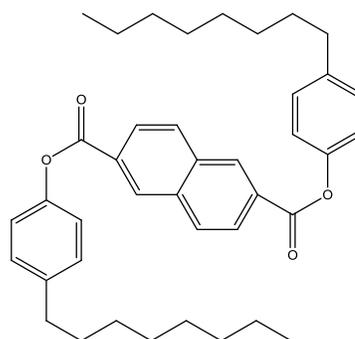
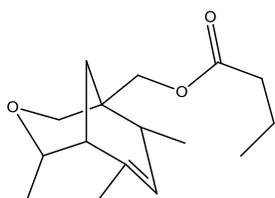
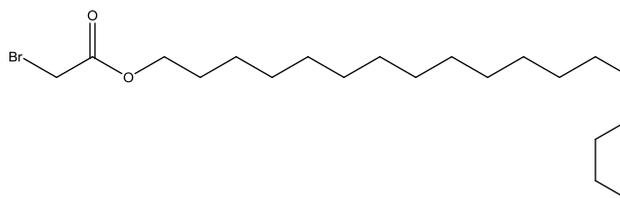
32

**36****37****38****39****40****41**

II.5 *Cassia itálica*

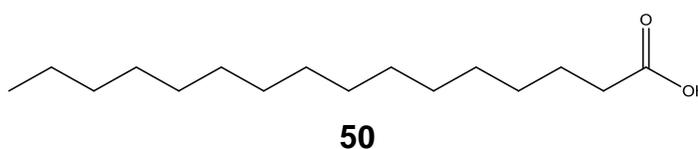
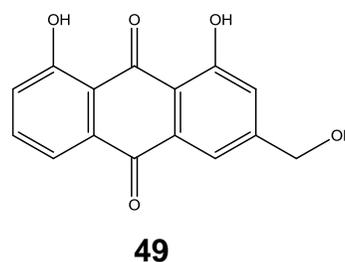
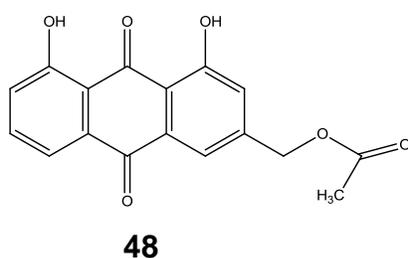
De las hojas de *Cassia itálica* se aislaron seis compuestos: 5,6-dicloro-2-metil-1H-benzimidazol (**42**), *trans*-2-metil-4-pentil-ciclohexano-1-tioeter (**43**), nifedipina (**44**), ácido naftaleno-2,6-dicarboxílico (**45**), ácido butanoico

(7-oxa-2,4,6-trimetil-3-en-biciclo [3,3,1] nonanil) metil ester (**46**), octadecilo bromoacetato (**47**).^[15]

**42****43****44****45****46****47**

II.6 *Cassia roxburghii* Linn.

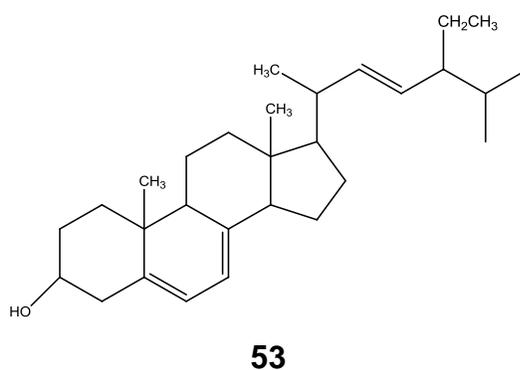
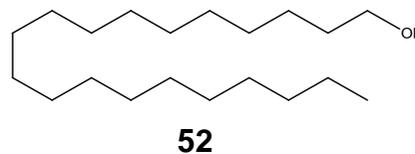
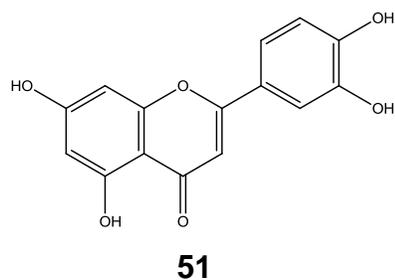
Cassia roxburghii Linn., es comúnmente conocido como Ceilán, es un árbol muy grande. En la medicina tradicional *Cassia roxburghii* Linn. ha sido bien conocida por sus propiedades laxantes y purgantes, y para el tratamiento de enfermedades de la piel. De las hojas se aislaron dos antraquinonas identificadas como acetato de aloe-emodina (**48**) y aloe-emodina (**49**), junto con estigmasterol (**7**), β -sitosterol (**5**) y ácido palmítico (**50**).^[16]



II.7 *Senna bicapsularis*

Senna bicapsularis crece abundantemente en la costa Atlántica, se le atribuye actividad antibiótica, antipirética y purgante. El estudio fitoquímico de las hojas y flores de *Senna bicapsularis* dio como resultado el aislamiento de

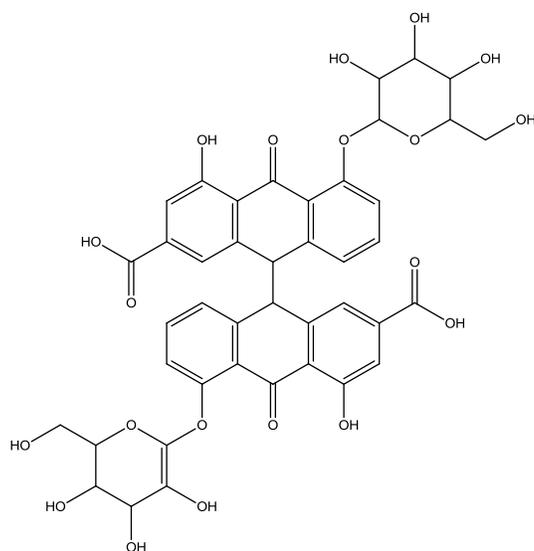
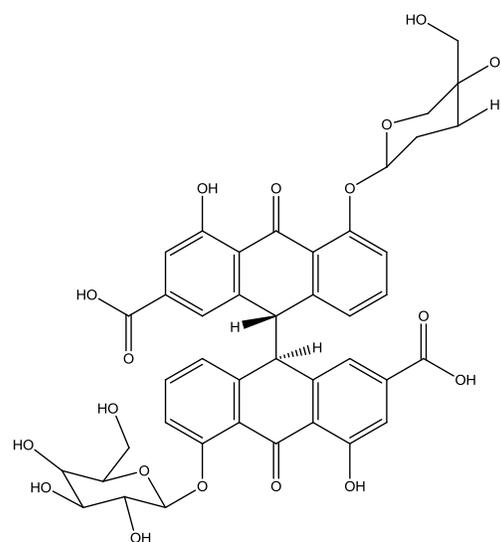
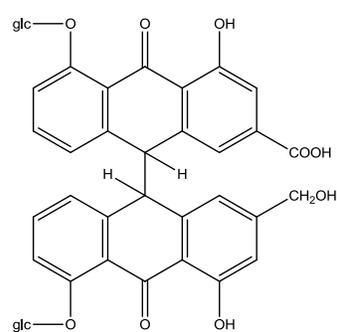
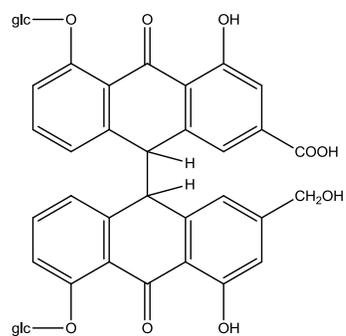
un flavonoide luteolina (**51**), un alcohol eicosanol (**52**), y una mezcla de los esteroides estigmasterol (**7**) y dehidroestigmasterol (**53**).^[17]

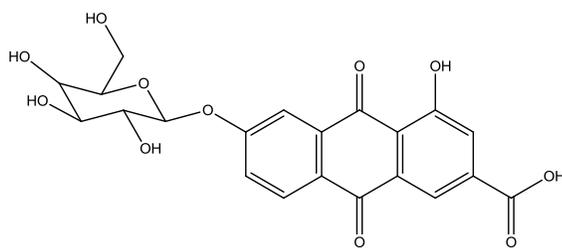


II.8 *Cassia pumila* Lamk.

Cassia pumila Lamk. es conocida comúnmente como Sarmal, y se encuentra en toda la India, Asia tropical y Australia. La pulpa de sus frutos llamada pulpa de la *cassia* es bien conocido como laxante y purgante, que se utiliza en el tratamiento del estreñimiento. Las raíces de la planta son útiles en resfriado común. Las hojas de la planta son útiles en el alivio de la irritación de la piel, hinchazones y dolor. Según otros informes, *Cassia pumila* también posee propiedades anti-inflamatorias, antimicrobiano, antitumoral,

antioxidante y analgésica. De las vainas de *Cassia pumila* se ha aislado los senósidos A (**54**), B (**55**), C (**56**), y D (**57**), y rhein-8-O-glucósido (**58**).^[18]

**54****55****56****57**



58

II.9 *Cassia angustifolia* M. Vahl

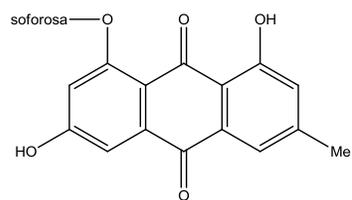
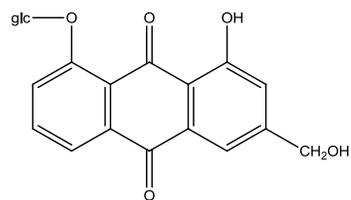
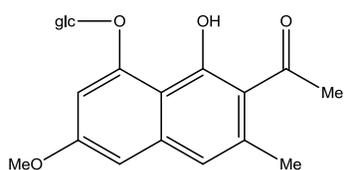
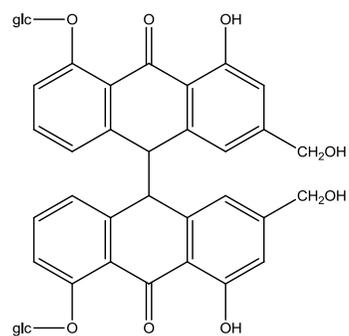
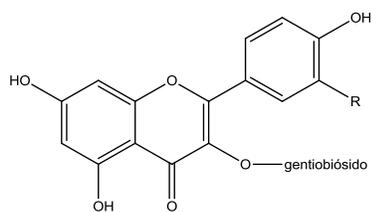
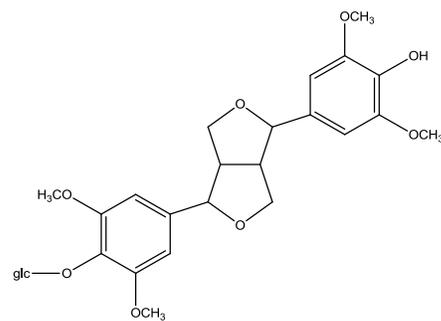


Figura 3: Dibujo de la planta *Cassia angustifolia* ^[19]

Tomado de: Botanical online (2016)

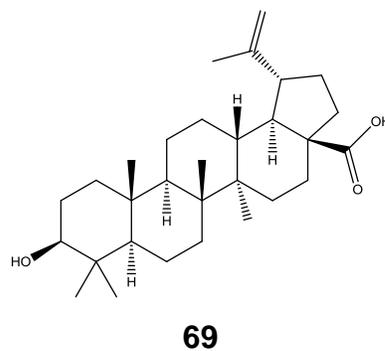
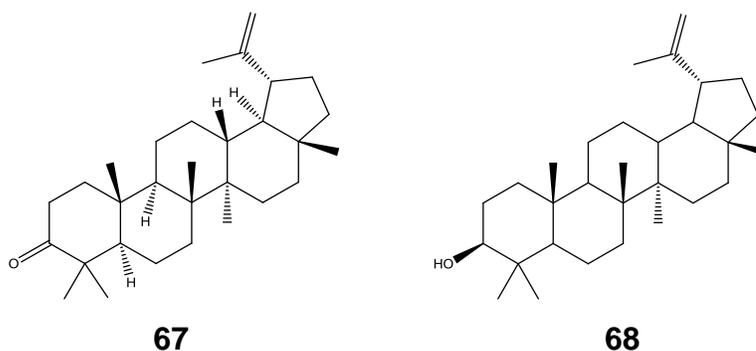
Se realizó la extracción de las hojas de *Cassia angustifolia* y se obtuvieron los siguientes compuestos: emodina 8-O-sophorosido (**59**), aloe-emodina 8-O-glucósido (**60**), torachryson 8-O-glucósido (**61**), aloe-emodina diantrona 8,8'-di-O-glucósido (**62**), kamferol-3-O-gentiobiosido (**63**),

quercetina-3-O-gentiobiósido (**64**), isorhamnetin 3-O-gentiobiósido (**65**),
syringaresinol 4-O-glucósido (**66**).^[20]

**59****60****61****62****R= H 63****R= OH 64****R= OCH₃ 65****66**

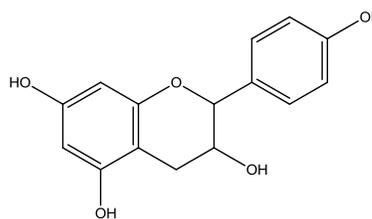
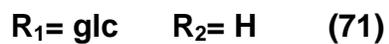
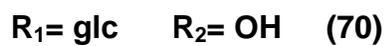
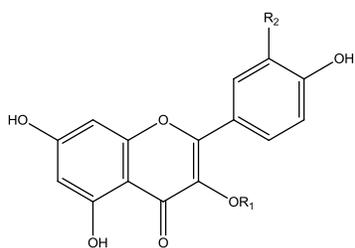
II.10 *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby

De los tallos de *Senna siamea* se aislaron seis compuestos, tres triterpenoides lupenona (**67**), lupeol (**68**), ácido betulínico (**69**), dos antraquinonas crisofanol (**12**) y physcion (**10**), y β -sitosterol glucósido (**33**).^[21]



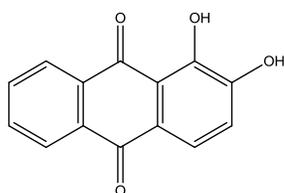
II.11 *Cassia renigera* Benth

La investigación fitoquímica de las hojas de *Cassia renigera* Benth dio como resultado el aislamiento de quercetina 3-O- β -D-glucopiranosido (**70**), kamferol 3-O- β -D-glucopiranosido (**71**), kamferol 3-O- α -L-ramnósido (**72**), epifzelquin (**73**), kamferol (**1**) y quercetina (**6**).^[22]

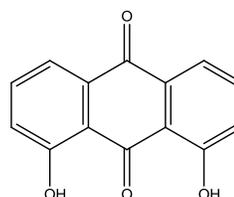


II.12 *Cassia obtusifolia* L.

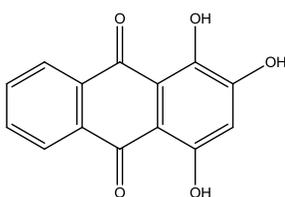
De las semillas de *Cassia obtusifolia* se aislaron las antraquinonas emodina (11), alizarina (74), dantron (75), purpurina (76) y quinizarina (77).^[23]



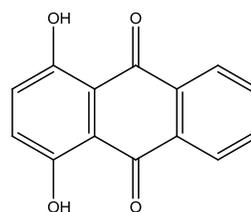
74



75



76



77

III. TAXONOMÍA DE *SENNA CASSIA SACRI*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Fabales

Familia: Leguminoseae

Subfamilia: Caesalpinioideae

Géneros: *Senna cassia*

Especie: *Senna cassia sacri*

IV. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad a pesar de los avances de la ciencia todavía existen muchas especies que pertenecen a géneros donde se han descrito especies con propiedades medicinales, pero que no han sido investigadas, lo que las convierte en punto de atención para realizar estudios que permitan identificar sus propiedades farmacológicas y químicas. Especies pertenecientes a la familia Leguminoseae y subfamilia Caesalpinioideae, son de uso común entre las plantas medicinales de países con medicina tradicional reconocida. Las mismas han mostrado ser ricas en compuestos antraquinónicos, según los antecedentes del género. *Senna cassia sacri* (Britt & Rose), pertenece a dicha familia y subfamilia, y es una especie nativa de este país.

El estudio de dicha planta representa un aporte en la literatura ya que no se conocen antecedentes previos, por lo que se convierte en una fuente de

posibles compuestos nuevos y podría ser una alternativa confiable para la medicina tradicional al comprobar su composición.

V. OBJETIVOS

V.1 Objetivo general

Aislar y caracterizar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en la corteza de la planta *Senna cassia sacri* colectada en Venezuela.

V.2 Objetivos específicos

- Obtener los metabolitos secundarios presentes en la corteza de la planta *Senna cassia sacri* por maceración y posterior extracción líquido-líquido.
- Aislar y purificar por métodos cromatográficos los metabolitos mayoritarios presentes en las diferentes fracciones.
- Elucidar la estructura molecular de los compuestos aislados mediante técnicas espectroscópicas de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ^1H y ^{13}C en una y dos dimensiones y Espectrometría de Masa (EM).
- Comparar los compuestos aislados en este trabajo con aquellos citados en la bibliografía para plantas que pertenecen al mismo género.

VI. PARTE EXPERIMENTAL

VI.1 EQUIPOS

- Espectrómetro de RMN ECLIPSE-JEOL 270 MHz (Facultad de Farmacia, UCV).
- Rotavapor BÜCHI modelo B-480.
- Lámpara de UV en una longitud de onda (λ 254 nm) UVP modelo UVG-11.
- Balanza analítica OHAUS.

VI.2 MATERIALES Y REACTIVOS

VI.2.1 Solventes

- Acetato de etilo (AcOEt) grado P.A.
- Diclorometano (CH_2Cl_2) grado P.A.
- Metanol (MeOH) grado P.A.
- *n*-Hexano grado P.A.
- Cloroformo (CH_3Cl_3) grado P.A.

VI.2.2 Solventes para análisis de RMN

- Cloroformo deuterado (CDCl_3)
- Metanol deuterado (CD_3OD)

- Dimetilsulfóxido (DMSO-d₆)

VI.2.3 Material para cromatografía

- Sílica gel G60 para cromatografía de columna (CC), 0,06-0,2 mm (70-230 mesh ASTM) Scharlau.
- Placas de sílica gel para cromatografía de capa fina (CCF) Macherey-Nagel ALUGRAM SIL G/UV₂₅₄, 20x20 cm. 0,20 mm de espesor.
- Placas preparativas de sílica gel 60. F₂₅₄, 20x20 cm, 0,25 mm de espesor. MERK.
- Cartuchos de inversa RP-18 para cromatografía.
- Placas de inversa RP-18 para cromatografía.

VI.2.4 Revelador

- Solución de *p*-anisaldehído en H₂SO₄ y Etanol: Se preparó mezclando 5 mL de *p*-anisaldehído con 90 mL de EtOH, 5 mL de H₂SO₄ (conc.) y 1 mL de CH₃COOH glacial.

VI.3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

VI.3.1 Colecta del material vegetal

La especie *Senna Cassia sacri* (Britt & Rose), fue colectada en Mayo del 2014 en las inmediaciones del Jardín Botánico de la Universidad Central de

Venezuela y fue identificada taxonómicamente por el botánico Stephen Tillett, quien nombró la misma con dos géneros de la misma familia (*Senna* y *Cassia*), ya que presentaba características similares a ambos géneros sin encontrar con detalle alguna característica que predominara en la planta de un género o del otro. Una muestra representativa de la misma se encuentra bajo el código MYF26723 en el Herbario Víctor Manuel Ovalles de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela.

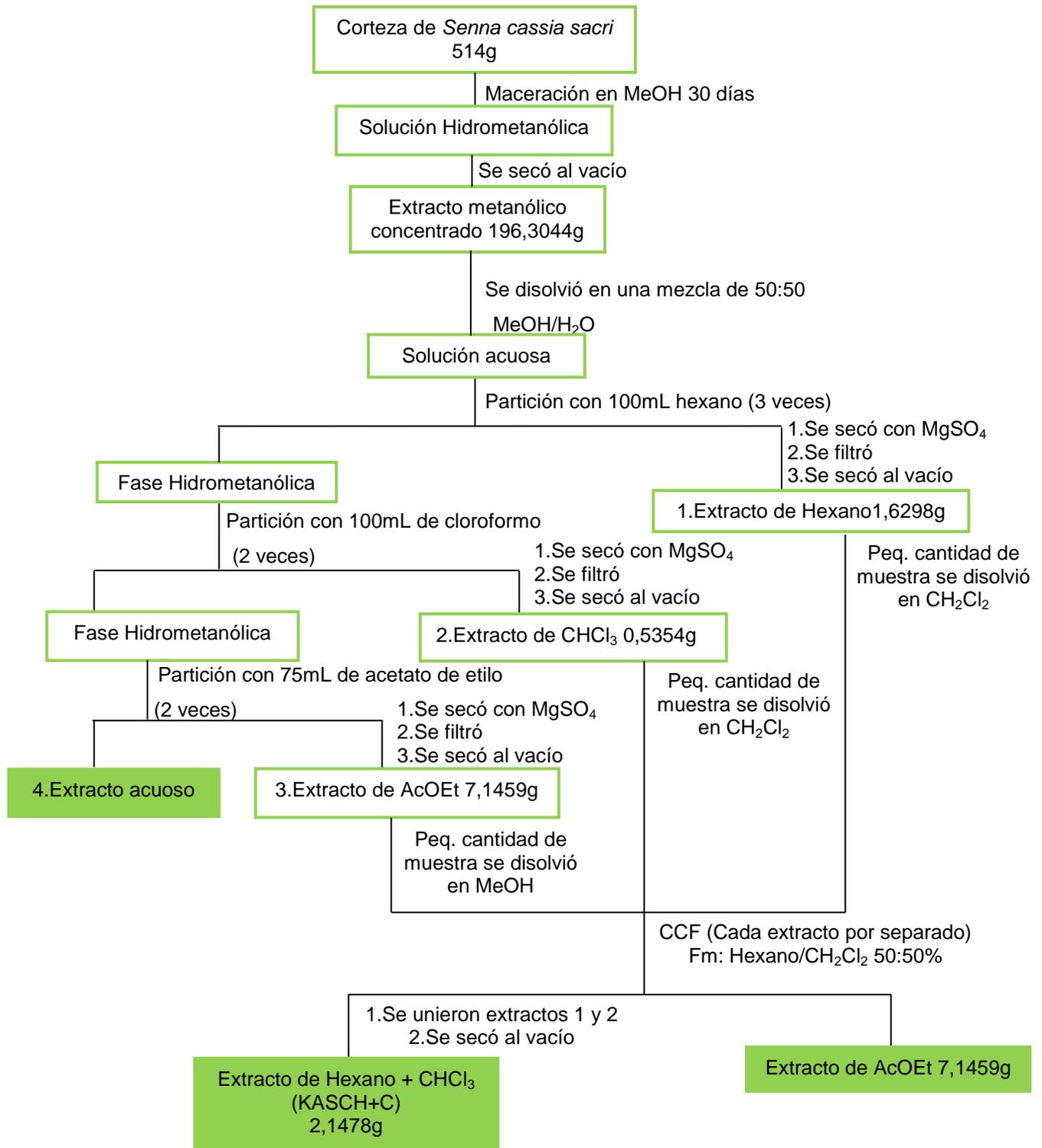
VI.3.2 Extracción

Los tallos secos (514g) fueron sumergidos en metanol y macerados por 30 días. La mezcla se filtró y se concentró al vacío hasta sequedad, obteniéndose un peso de 196,3044g. Dicho extracto crudo fue disuelto en 200mL de solución MeOH/H₂O, en relación de 50:50% (solución acuosa). Se llevaron a cabo extracciones con hexano, cloroformo y acetato de etilo, para obtener los extractos de hexano, CHCl₃, AcOEt y el extracto acuoso.

Cada extracto fue secado con MgSO₄, filtrado y concentrado a presión reducida. Una vez concentrado cada extracto se realizó cromatografía en capa fina a cada uno (CCF), observando las placas por iluminación ultravioleta, y luego por inmersión en solución de *p*-anisaldehído y posterior calentamiento. Se sembró un poco de muestra de cada extracto diluido en una misma placa y se desarrolló en una fase móvil de hexano/diclorometano en proporción de 50/50%, observándose que los desplazamientos R_f eran similares para el extracto de hexano y el extracto de CHCl₃, por lo que se unieron los dos extractos (anexo 1).

Los extractos orgánicos fueron separados mediante la técnica de cromatografía en columna de fase normal sobre sílica gel, utilizando como

eluyente diferentes solventes o mezclas de solventes orgánicos. Las fracciones obtenidas fueron monitoreadas por medio de CCF y se unieron según criterios de R_f .



Esquema 1: Extracción de la corteza de *Senna Cassia sacri*

VI.3.3 Fraccionamiento

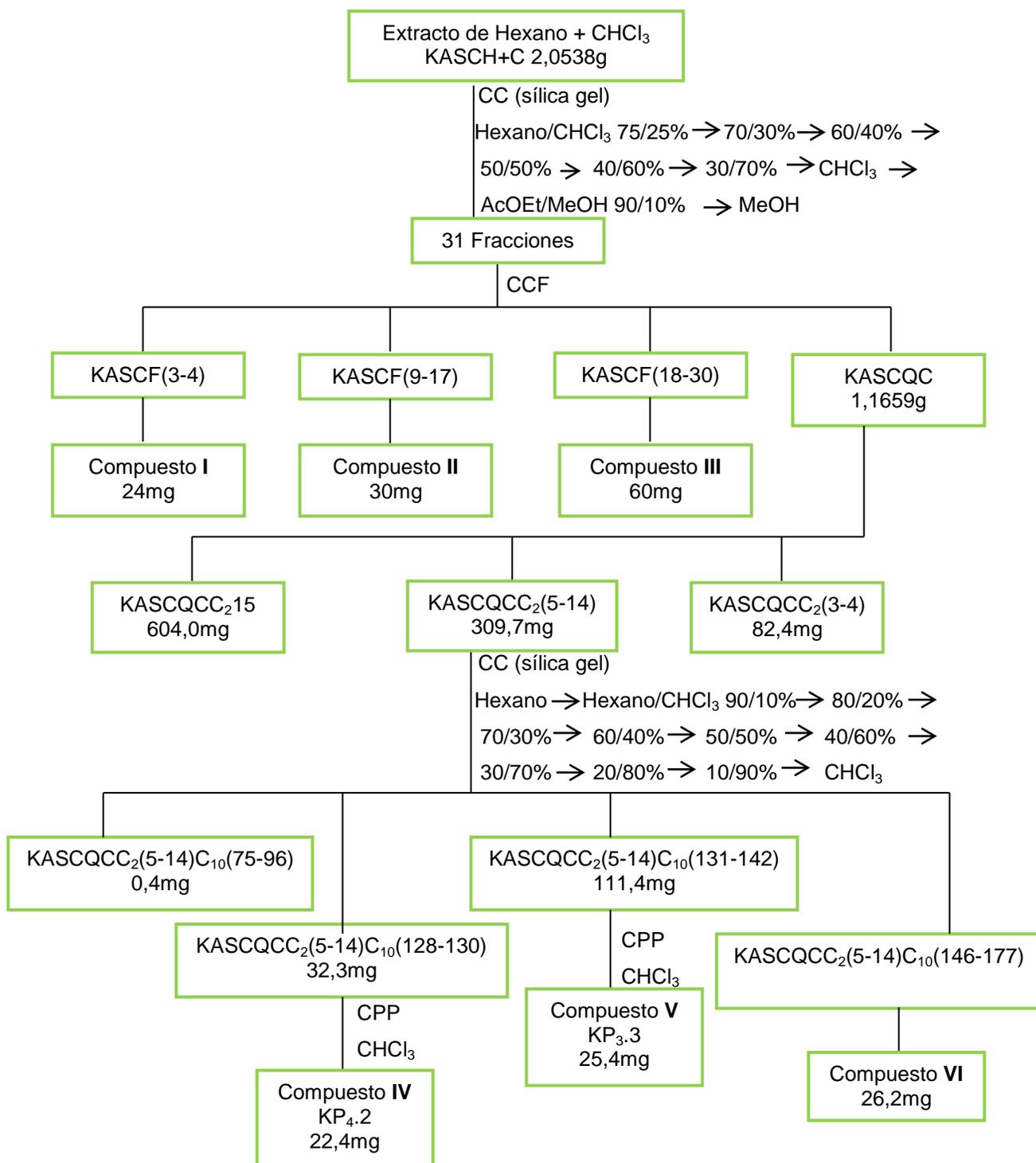
VI.3.3.1 Fraccionamiento del extracto de hexano más CHCl_3 (KASCH+C)

El extracto KASCH+C fue fraccionado por cromatografía en columna (CC) de fase normal, empleando como soporte sílica gel en una proporción aproximada de sílica/muestra 60:1, comenzando a eluir con un gradiente de Hexano/ CHCl_3 75:25%, luego CHCl_3 , AcOEt/MeOH 90:10% y finalmente MeOH. Se obtuvieron 31 fracciones, las cuales fueron comparadas mediante CCF, empleando como revelador la solución de *p*-anisaldehído seguido de calentamiento. Las primeras fracciones obtenidas se descartaron ya que no mostraron evidencia de algún compuesto presente, y las demás fueron combinadas en las 5 siguientes fracciones: KASCF(3-4), KASCF(5-8) la cual se descartó ya que había presencia de mezcla de compuestos y muy poca cantidad de muestra para analizar, KASCF(9-17), KASCF(18-30) y KASCQC. De la fracción KASCF(3-4) se obtuvo el compuesto **I**, de la fracción KASCF(9-17) se obtuvo el compuesto **II**, y de la fracción KASCF(18-30) se obtuvo el compuesto **III** (Esquema 2).

La fracción KASCQC se evaporó a presión reducida, se diluyó en CHCl_3 , se le agregó agente desecante MgSO_4 , se filtró y se volvió a evaporar a presión reducida, luego se analizó mediante CCF para definir una fase móvil eficiente para la separación por CC usando sílica gel como fase estacionaria. Se usó como eluyente inicial CHCl_3 y final MeOH; se obtuvieron 15 fracciones las cuales se desecharon las primeras 2 fracciones, y las demás fueron combinadas en 3 fracciones: KASCQCC₂(3-4), KASCQCC₂(5-14) y KASCQCC₂15 (Esquema 2).

Las fracciones señaladas en el párrafo anterior se analizaron por CCF, acorde a los resultados se tomó una porción de la fracción KASCQCC₂(5-14) y se separó por CC, con sílica gel como soporte y eliminar comenzando con Hexano como Fm, luego con un gradiente de Hexano/CHCl₃ 90/10% y finalmente con CHCl₃, se obtuvieron 177 fracciones que se unieron de acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis por CCF de dichas fracciones de la siguiente manera: KASCQCC₂(5-14)C₁₀(75-96), KASCQCC₂(5-14)C₁₀(128-130), KASCQCC₂(5-14)C₁₀(131-142) y KASCQCC₂(5-14)C₁₀(146-177); se resalta que las primeras fracciones hasta la KASCQCC₂(5-14)C₁₀74 no mostraron presencia de algún compuesto por lo que se desecharon; adicionando las fracciones que no están dentro de las 5 fracciones obtenidas al final, ya que según los análisis por CCF mostraban una gran mezcla de compuestos pero la cantidad disponible de muestra era muy poca como para ser estudiada. De la fracción KASCQCC₂(5-14)C₁₀(146-177) se obtuvo el compuesto **IV** (Esquema 2).

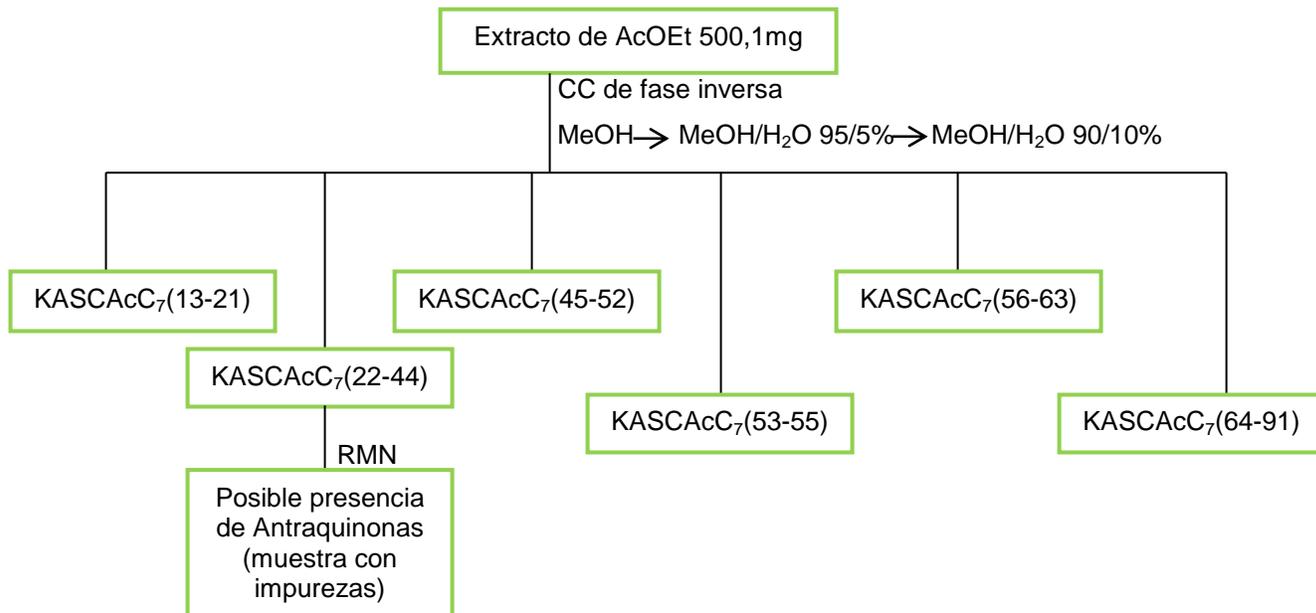
De las fracciones anteriores se tomaron KASCQCC₂(5-14)C₁₀(128-130) y KASCQCC₂(5-14)C₁₀(131-142), y fueron fraccionadas por cromatografía de placa preparativa (CPP) sobre sílica gel utilizando como eluyente CHCl₃. A partir de este procedimiento se aisló el compuesto **IV** de la fracción KASCQCC₂(5-14)C₁₀(128-130), y el compuesto **V** de la fracción KASCQCC₂(5-14)C₁₀(131-142) (Esquema 2).



Esquema 2: Fraccionamiento del extracto de Hexano más CHCl_3

VI.3.3.2 Fraccionamiento del extracto de AcOEt

Inicialmente se realizó una serie de análisis con CCF en fase normal y fase inversa, observando el comportamiento del extracto de AcOEt en distintos solventes y mezcla de solventes como Fm; por lo que se tomó 500,1mg del extracto y se fraccionó mediante CC de fase inversa sobre RP-18 iniciando con MeOH como eluyente y luego con un gradiente de polaridad que comenzó con MeOH/H₂O 95/5%. Se obtuvieron 91 fracciones, de las cuales se desecharon de la 1 a la 12 ya que no mostraron evidencia de algún compuesto presente y las demás se unieron de la siguiente manera: KASCAcC₇(13-21), KASCAcC₇(22-44), KASCAcC₇(45-52), KASCAcC₇(53-55), KASCAcC₇(56-63) y KASCAcC₇(64-91). Se realizó estudios de RMN ¹H y RMN ¹³C a la fracción identificada como KASCAcC₇(22-44), de la que no se obtuvo resultados concluyentes ya que la muestra no estaba pura al 100% pero si se puede pensar en la presencia de posibles antraquinonas (Esquema 3).



Esquema 3: Fraccionamiento del extracto de AcOEt

VI.3.3.3 Características y datos espectroscópicos de los compuestos aislados de la corteza de *Senna Cassia sacri*

Compuesto II (Linoleato de β -sitosterol): Aceite amarillo. RMN ^1H (270 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.65 (s, H-18), 0.88 (s, H-18'), 2.75 (t, J = 6.5 Hz, H-11'), 4.64 (m, H-3), 5.30-5.46 (m, H-6, 9', 10', 12', 13'); RMN ^{13}C (67.5 MHz, CDCl_3) δ ppm: 11.9 (C-18), 12.0 (C-29), 14.0 (C-18'), 18.8 (C-21), 19.8 (C-27), 19.1 (C-26), 19.3 (C-19), 21.1 (C-11), 22.7 (C-28,17'), 24.3 (C-15), 25.1 (C-3'), 25.6 (C-11'), 25.7 (C-23), 27.2 (C-8',14'), 27.8 (C-2), 28.3 (C16), 29.2 (C-25,4'), 29.3 (C-5'), 29.4 (C15'), 29.5 (C-6'), 29.7 (C-7'), 31.6 (C-16'), 31.9 (C-7), 32.0 (C-8), 34.0 (C-22), 34.1 (C-2'), 36.2 (C-20), 36.7 (C-10), 37.1 (C-1), 38.2 (C-4), 39.8 (C-12), 42.4 (C-13), 46.0 (C-24), 51.2 (C-9), 56.2 (C-17),

56.8 (C-14), 73.7 (C-3), 122.6 (C-6), 127.9 (C-10'), 128.1 (C-12'), 130.0 (C-9'), 130.2 (C-13'), 139.8 (C-5), 173.2 (C-1').

Compuesto IV (Lupeol): Sólido blanco. RMN ^1H (270 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.75, 0.79, 0.81, 0.90, 0.92, 0.99, 1.64 (21H, 7s, 7 CH_3), 3.14 (dd, $J = \#$ Hz, H-3) 4.53 (s, H-29a), 4.64 (s, H-29b); RMN ^{13}C (67.5 MHz, CDCl_3) δ ppm: 14.63 (C-27), 15.41 (C-24), 16.07 (C-26), 18.07 (C-25), 18.41 (C-6), 19.38 (C-28), 21.04 (C-11), 21.62 (C-30), 25.30 (C-12), 27.48 (C-2), 28.06 (C-23), 29.72 (C-15), 29.97 (C-21), 33.32 (C-4), 34.42 (C-7), 35.69 (C-16), 37.28 (C-10), 38.20 (C-13), 38.92 (C-1), 40.08 (C-22), 40.96 (C-8), 43.07 (C-17), 48.05 (C-19), 48.45 (C-18), 50.58 (C-9), 55.44 (C-5), 77.53 (C-3), 109.35 (C-29), 150.92 (C-20).

Compuesto V (Friedelina): Sólido blanco. RMN ^1H (270 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.87 (d, 3H, C-23), 0.95 (s, 3H, C-29), 1.02 (s, 3H, C-27), 1.16 (s, 3H, C-28); RMN ^{13}C (67.5 MHz, CDCl_3) δ ppm: 6.9 (C-23), 14.7 (C-24), 18.0 (C-25), 18.3 (C-7), 18.7 (C-27), 20.3 (C-26), 22.3 (C-1), 28.2 (C-20), 30.1 (C-17), 30.7 (C-12), 31.9 (C-29), 32.2 (C-28), 32.5 (C-15), 32.8 (C-21), 35.1 (C-30), 35.4 (C-19), 35.7 (C-11), 36.1 (C-16), 37.5 (C-9), 38.4 (C-14), 39.3 (C-22), 39.8 (C-13), 41.4 (C-6), 41.6 (C-2), 42.3 (C-5), 42.9 (C-18), 53.2 (C-8), 58.3 (C-4), 59.6 (C-10), 213.2 (C-3).

Es importante acotar que no se describen los datos espectroscópicos de los compuestos I, III y VI en esta sección ya que se presume que dichos compuestos son ácidos grasos los cuales no se pudieron identificar sólo con las técnicas espectroscópicas de RMN ^1H y RMN ^{13}C , en estos casos es necesario un análisis de espectrometría de masas para obtener una mejor descripción de dichos compuestos. Por este motivo no se pueden realizar

comparaciones para describir con más exactitud los datos obtenidos en RMN ^1H y RMN ^{13}C . Sin embargo, serán discutidos a groso modo en la siguiente sección.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES

VII.1 Estudio Fitoquímico

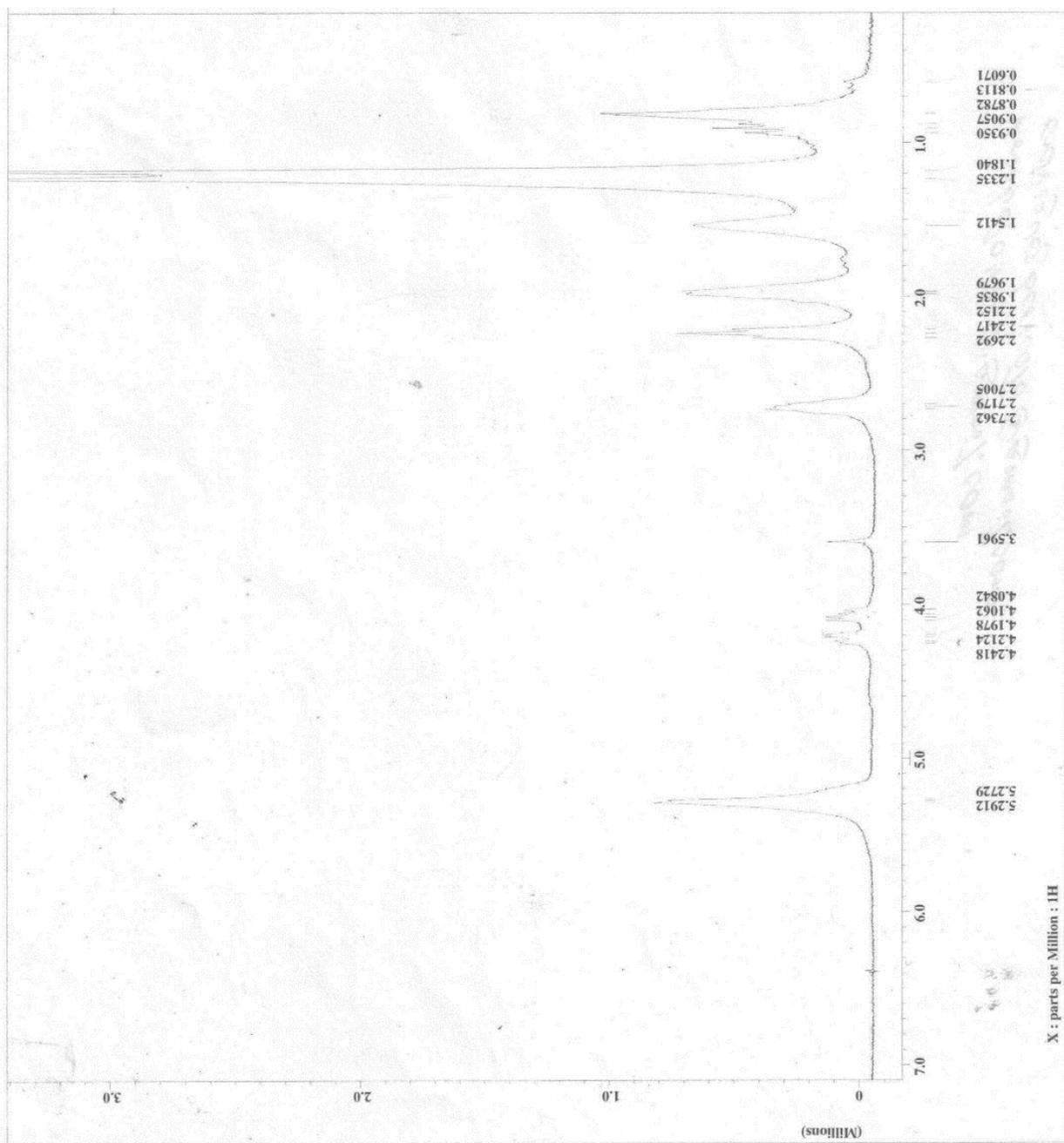
La caracterización de los compuestos aislados a partir de la corteza de la planta *Senna cassia sacri* se llevó a cabo por medio de las técnicas espectroscópicas RMN ^1H , RMN ^{13}C y DEPT 135. Para los compuestos conocidos se muestran las comparaciones respectivas con los datos espectroscópicos reportados en la literatura.

VII.1.1 Compuesto I: Ácido graso I

A partir del material soluble en hexano y cloroformo se aisló un aceite amarillo, con un peso de 24mg que representa un 1.17% del extracto de hexano usado en la columna y un 0.01% del material vegetal inicial.

En su espectro de RMN ^1H en CDCl_3 se observan señales características de un compuesto insaturado con dobles enlaces del tipo olefinas a 5.27-5.29 ppm y un triplete a 2.24 ppm correspondiente a los protones vecinos al grupo carbonilo. También se observa una señal intensa entre 1.18-1.23 ppm que se asigna a los protones sobre los carbonos metilénicos equivalentes y una señal entre 0.81-0.93 ppm correspondiente a protones sobre carbonos metílicos. Todas estas características hacen pensar que el compuesto

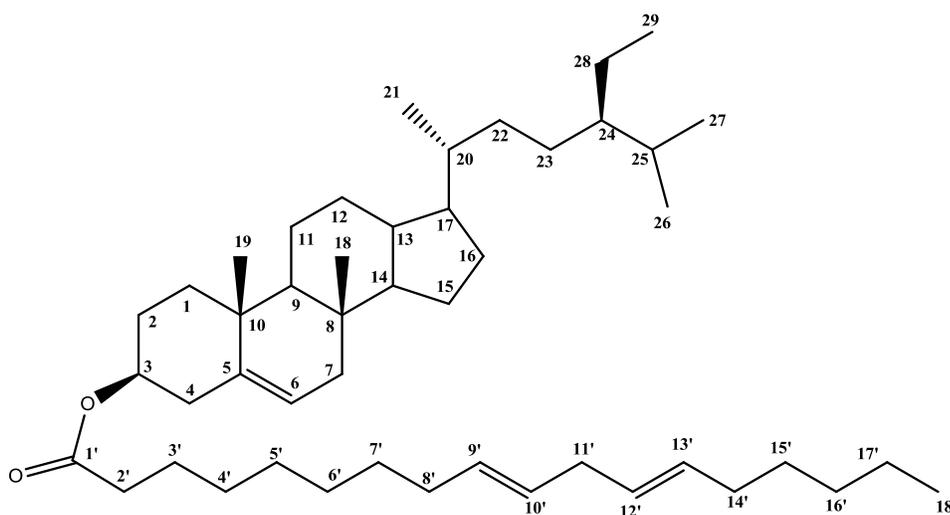
obtenido es del tipo ácido graso, sin embargo, no se puede identificar con certeza ya que no se llevaron a cabo los espectros de RMN ^{13}C , DEPT 135 ni el espectro de masas, por lo que no se puede comparar con otro posible compuesto reportado en la literatura para asignar cada señal observada.



Espectro 1: RMN ^1H del Ácido graso I

VII.1.2 Compuesto II: Linoleato de β -Sitosterol

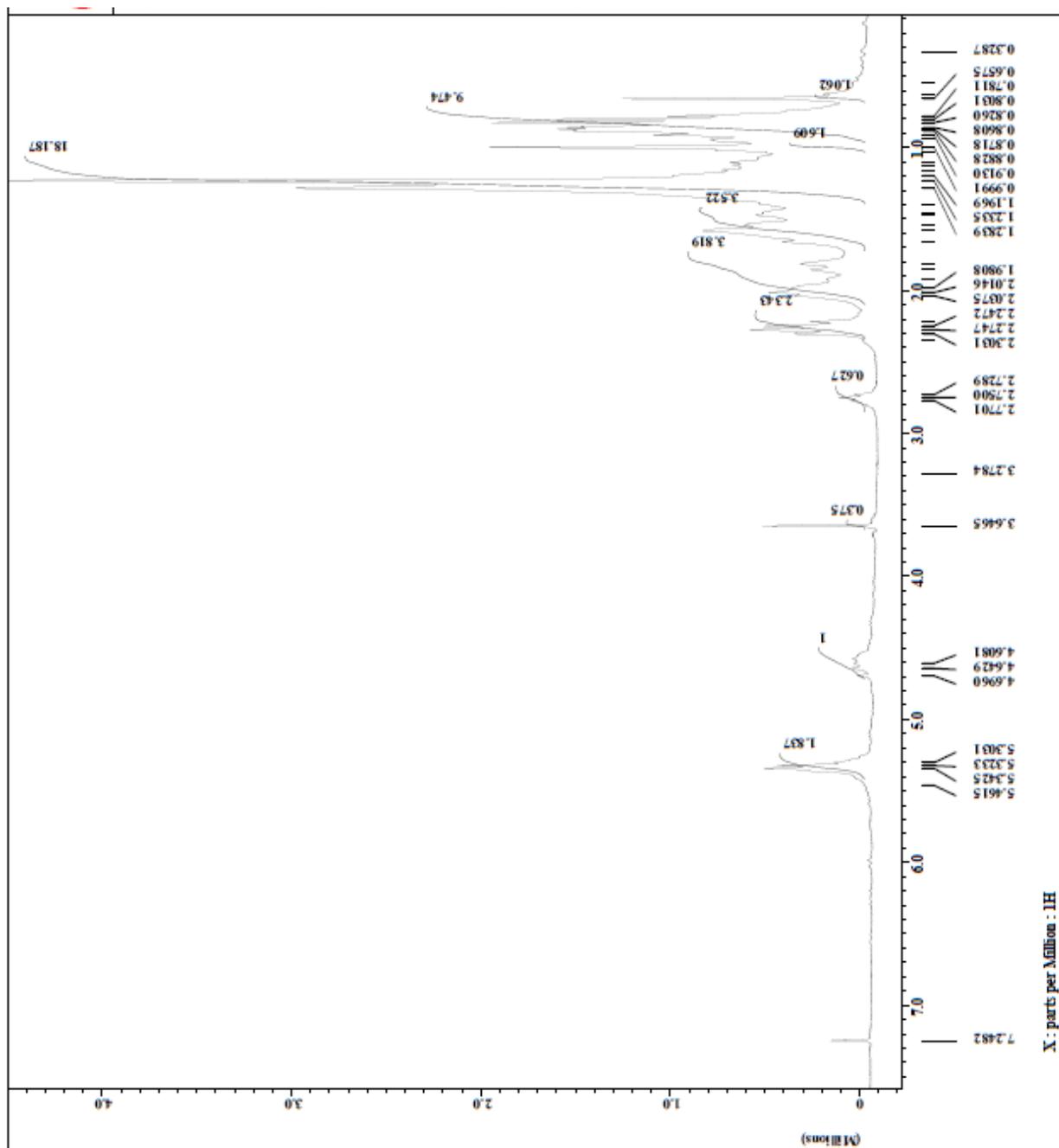
Es un compuesto aislado de la corteza de la planta, como un aceite de color amarillo. Se extrajo 30 mg del compuesto, representando un 1.46% del extracto de hexano usado en la columna y un 0.02% del material vegetal inicial.



Compuesto II

Su espectro de RMN ^1H en CDCl_3 , mostró señales características de protones alifáticos y olefínicos. Se puede observar varios singletes, entre ellos los dos más destacados a 0.65 y 0.88 ppm donde cada uno integró para tres protones atribuibles a grupos metilos. En la zona de campo medio se observaron dos multipletes uno centrado en 4.64 ppm correspondiente al protón del carbono 3 unido al oxígeno, y otro entre 5.46-5.30 ppm que corresponde a protones olefínicos, además de una señal a 2.75 ppm atribuida a los protones del único carbono vecino a los dos carbonos con doble enlace del lado de la cadena alquílica de la estructura; las señales

mostraron ser complejas, pero parecieran señalar estructuras de tipo terpénicas.

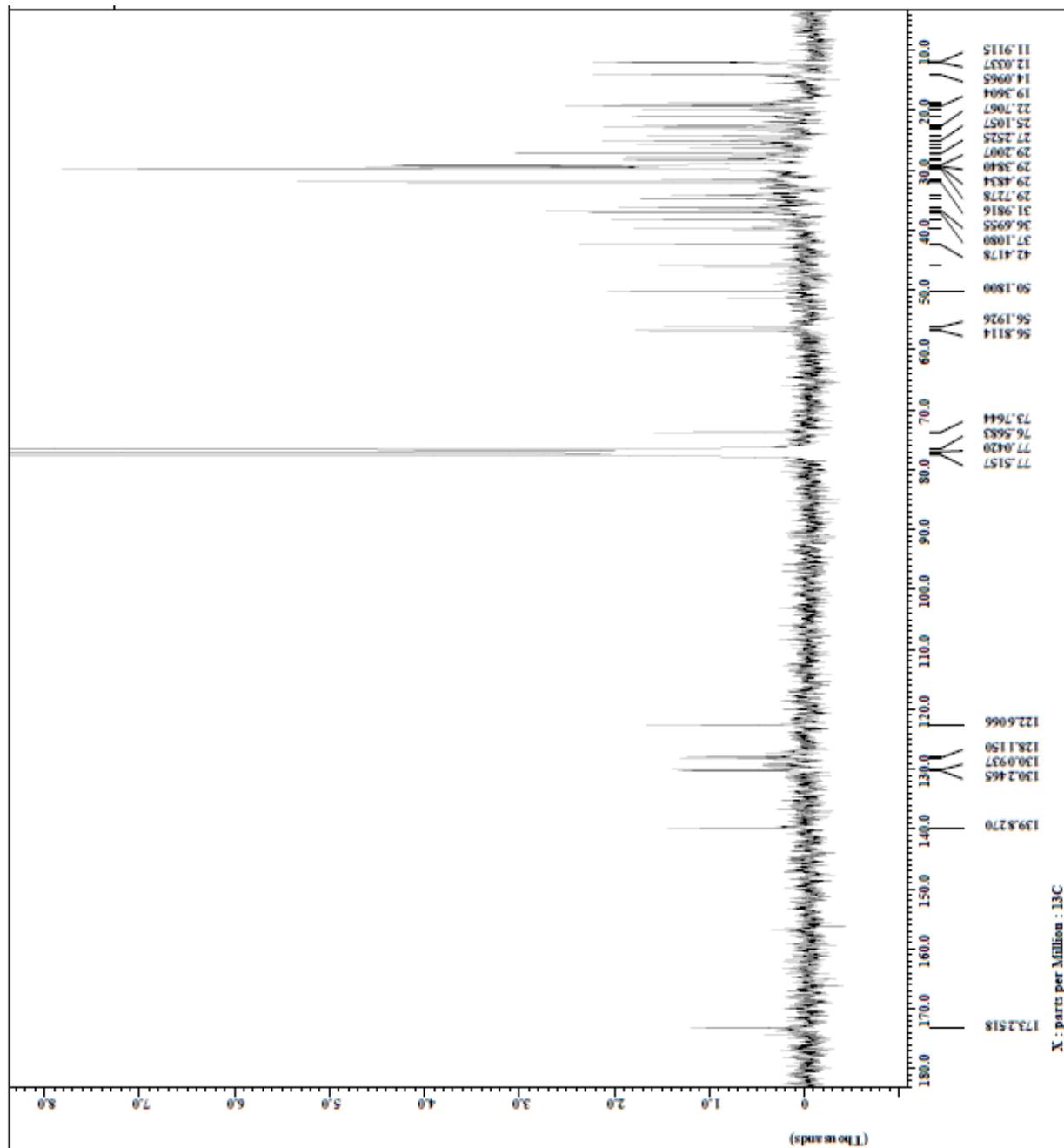


Espectro 2: RMN ^1H del Linoleato de β -Sitosterol

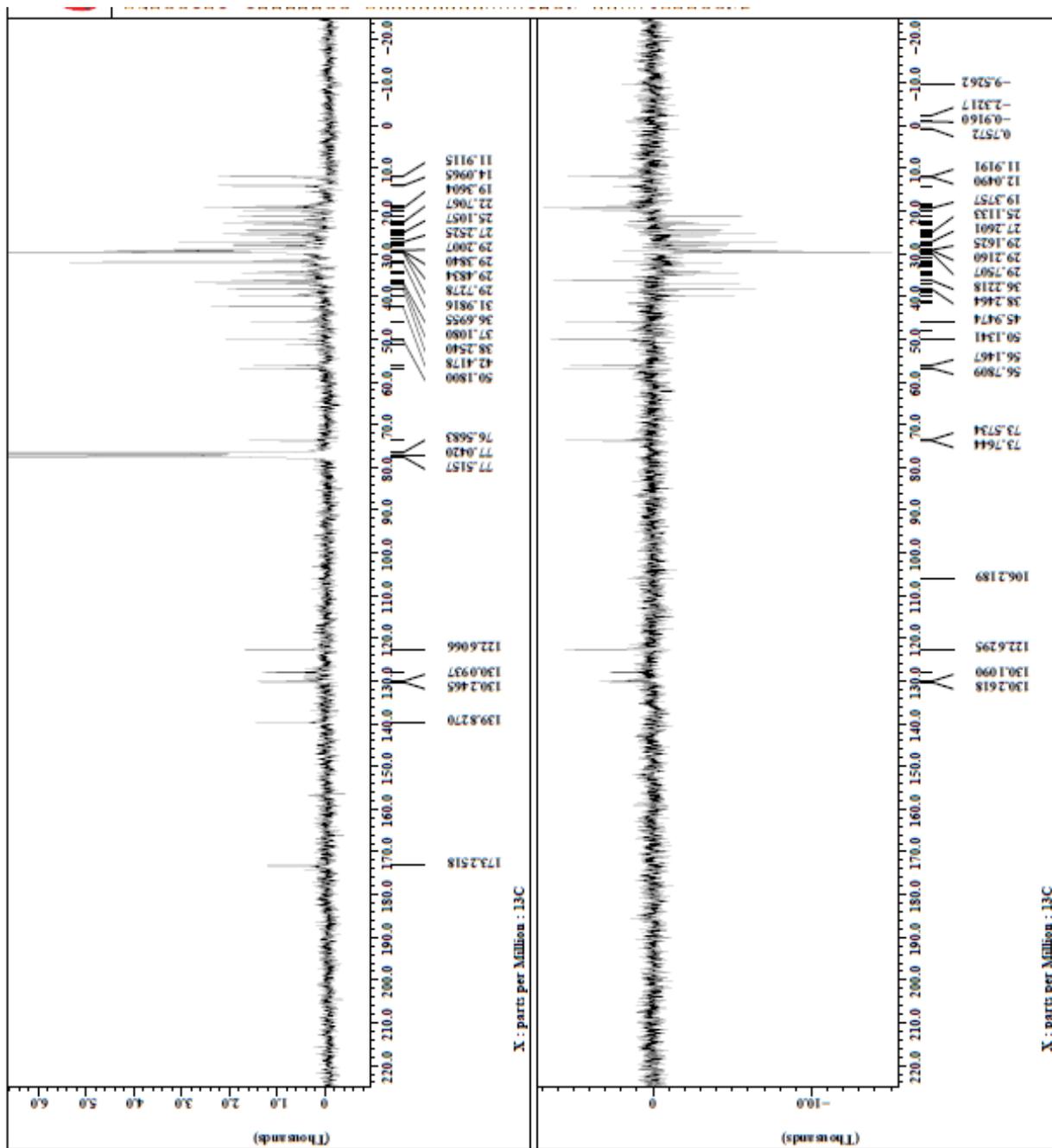
Protones	Experimental a δ_H ppm (m, J)	Reportado a δ_H ppm (m, J) ^[24]
6,9',10',12',13'	5.30-5.46 (m)	5.30-5.40 (m)
3	4.64 (m)	4.6 (m)
18	0,65 (s)	0.68 (s)
18'	0.88 (s)	0.88 (s)
11'	2.75 (t, J =6.5 Hz)	2.76 (t)

Tabla 1: Comparación de los datos del Linoleato de β -sitosterol en protones

El análisis de los espectros de RMN ^{13}C y DEPT 135, evidencia la presencia de una estructura terpénica del tipo esteroidal (presumido por el número de grupos metilos), y un ácido graso unido a la estructura esteroidal, posiblemente en la posición 3 del anillo A. El espectro de RMN de ^{13}C indica que el compuesto tiene 47 átomos de carbono, de los cuales 38 son carbonos alifáticos que resonaron entre 11,91 y 73,76 ppm, este último desplazamiento corresponde a un carbono oxigenado, 6 átomos de carbono son olefínicos que aparecen entre 122,60 y 139,82 ppm, además de una señal a 173,25 ppm que indica un grupo éster en la estructura. Por la presencia de más de 29 átomos de carbono y las demás características ya mencionadas, se piensa en un compuesto del tipo éster de cadena larga del triterpeno β -sitosterol, se infirió luego de comparar los desplazamientos de los ácidos grasos, más comunes, que el que presenta la estructura analizada es el ácido linoleico. De acuerdo a los datos obtenidos se propuso una estructura con una fórmula molecular de $\text{C}_{47}\text{H}_{82}\text{O}_2$. La comparación con datos de la literatura señaló que el compuesto analizado es el Linoleato de β -sitosterol.



Espectro 3: RMN ^{13}C de Linoleato de β -Sitosterol



Espectro 4: DEPT 135 del Linoleato de β -Sitosterol

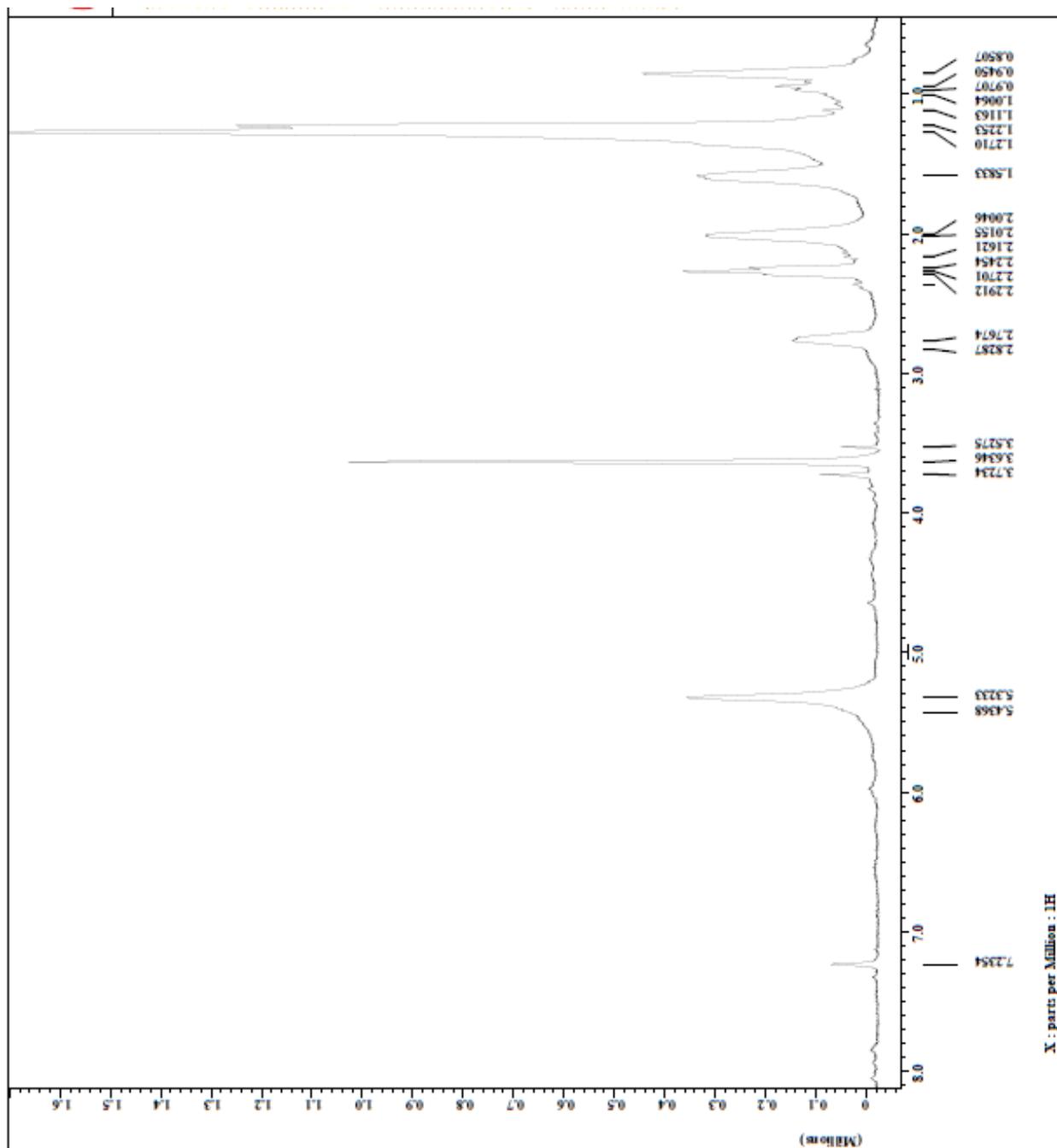
Posición del Carbono	Tipo de Carbono	Experimental (ppm)	Reportado ^[24] (ppm)
1	-CH ₂	37.1	37.0
2	-CH ₂	27.8	27.8
3	-CH	73.7	73.7
4	-CH ₂	38.2	38.2
5	C	139.8	139.7
6	-CH	122.6	122.6
7	-CH ₂	31.9	31.8
8	-CH	32.0	31.9
9	-CH	51.2	50.0
10	C	36.7	36.5
11	-CH ₂	21.1	21.0
12	-CH ₂	39.8	39.7
13	C	42.4	42.3
14	-CH	56.8	56.7
15	-CH ₂	24.3	24.3
16	-CH ₂	28.3	28.3
17	-CH	56.2	56.0
18	-CH ₃	11.9	11.8
19	-CH ₃	19.3	19.3
20	-CH	36.2	36.2
21	-CH ₃	18.8	18.8
22	-CH ₂	34.0	33.9
23	-CH ₂	25.7	26.0
24	-CH	46.0	45.8
25	-CH	29.2	29.1
26	-CH ₃	19.1	19.8
27	-CH ₃	19.8	19.0
28	-CH ₂	22.7	23.1
29	-CH ₃	12.0	11.9
1'	C	173.2	173.3
2'	-CH ₂	34.1	34.4
3'	-CH ₂	25.1	25.1
4'	-CH ₂	29.2	29.2
5'	-CH ₂	29.3	29.3
6'	-CH ₂	29.5	29.6
7'	-CH ₂	29.7	29.7
8'	-CH ₂	27.2	27.2
9'	-CH	130.0	130.0
10'	-CH	127.9	127.9
11'	-CH ₂	25.6	25.6
12'	-CH	128.1	128.0
13'	-CH	130.2	130.2
14'	-CH ₂	27.2	27.2
15'	-CH ₂	29.4	29.4
16'	-CH ₂	31.6	31.6
17'	-CH ₂	22.7	22.7
18'	-CH ₃	14.0	14.1

Tabla 2: Comparación de los datos del Linoleato de β -sitosterol en carbono

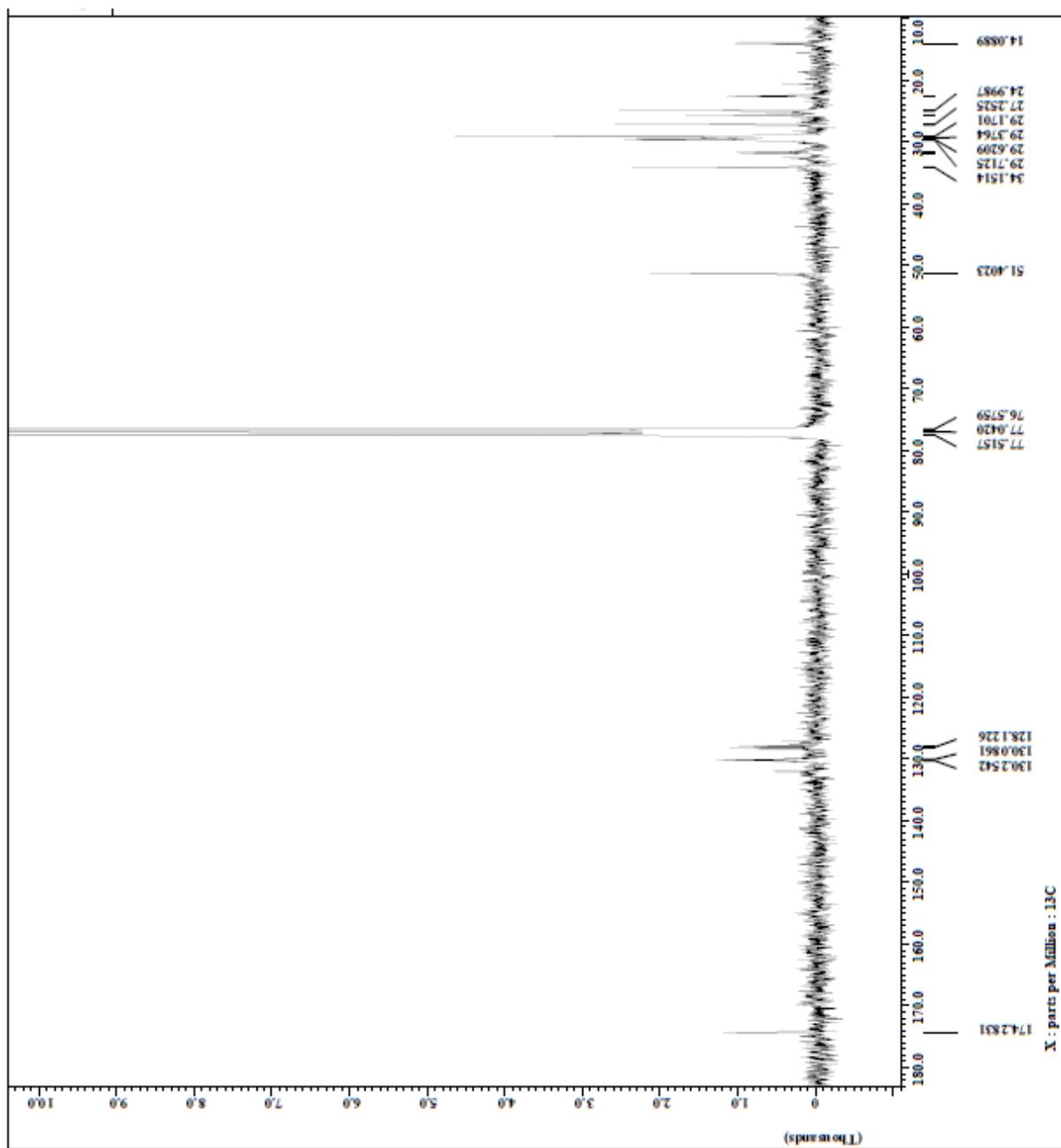
VII.1.3 Compuesto III: Ácido graso II

Del material soluble en hexano y cloroformo se obtuvo una fracción pura con características de aceite amarillo, con un peso de 60mg que representa un 2.92% del extracto de hexano usado en la columna y un 0.03% del material vegetal inicial.

En su espectro de RMN ^1H en CDCl_3 presenta características similares al **compuesto I** lo que hace sospechar nuevamente la presencia de un ácido graso, observándose señales características de un compuesto insaturado con dobles enlaces del tipo olefinas a 5.43-5.32 ppm y un triplete a 2.27 ppm correspondiente a los protones vecinos al grupo carbonilo. También se observa una señal intensa entre 1.27-1.11 ppm que se asigna a los protones sobre los carbonos metilénicos equivalentes y una señal a 0.85 ppm correspondiente a protones sobre carbonos metílicos. Los espectros de RMN ^{13}C y DEPT 135 muestran una señal a 174.28 atribuida al carbono del ácido carboxílico, señales a 130.25, 130.08, 128.12 ppm de compuestos del tipo olefínicos y señales entre 14.08 y 51.40 que corresponden a carbonos metílicos y metilénicos.



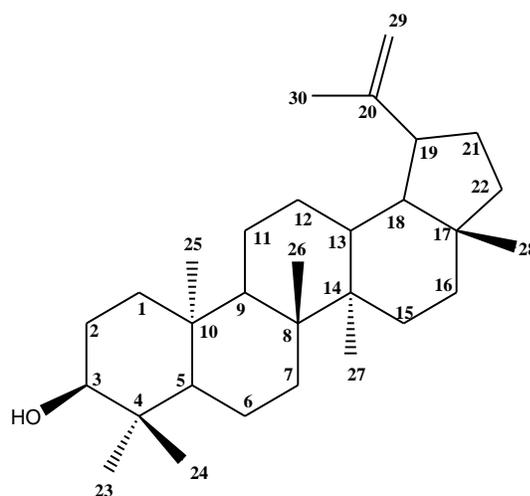
Espectro 5: RMN ^1H del Ácido graso II



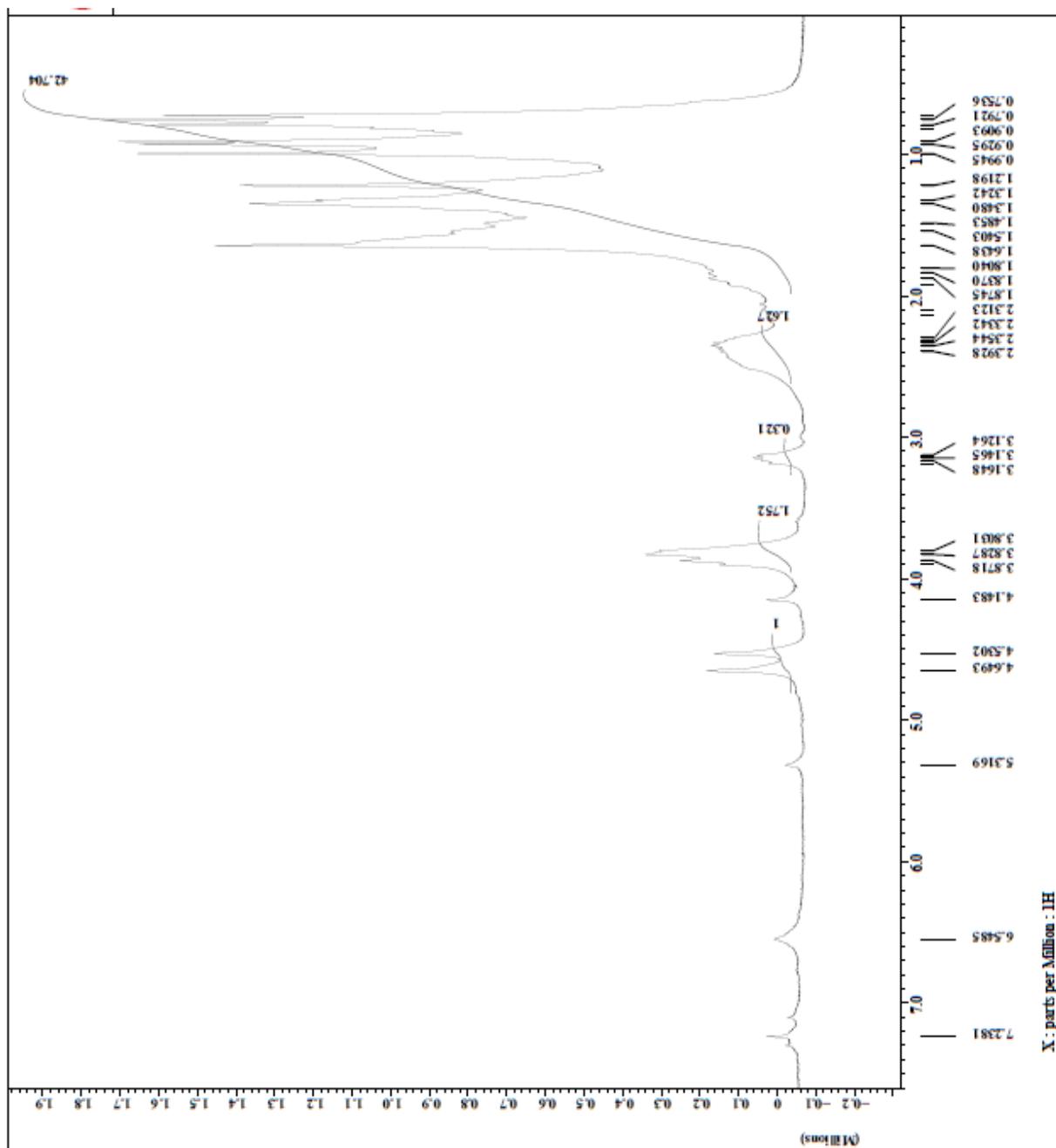
Espectro 6: RMN ^{13}C del Ácido graso II

VII.1.4 Compuesto IV: Lupeol

Se aisló como un sólido blanco, con punto de fusión (214-215)^oC y un peso de 22.4mg, que representa un 0.01% del material vegetal inicial. La estructura de este compuesto fue elucidada a partir de datos de RMN de ¹H y ¹³C de los espectros 7, 8, 9 y 10. En el espectro de RMN ¹H, se observaron señales de 7 singletes entre 1.64-0.75 ppm de metilos sobre estructuras terpénicas y el resto de las señales indicaban una estructura como la mencionada. Un triplete en 3.14 ppm, sugirió un protón geminal a un carbono oxigenado, posiblemente en la posición 3 de la estructura triterpénica y dos señales singletes, cada una integrando para un protón, en la zona de campo medio a 4.53 y 4.64 ppm, indicaron la presencia de una olefina de tipo terminal, estas señales y un metilo a 1.64 ppm indicaron la presencia de un grupo isoprenil en la estructura del compuesto. Es importante recalcar que el espectro de RMN ¹H no tiene una buena resolución debido a que la muestra estaba un poco concentrada.



Compuesto IV

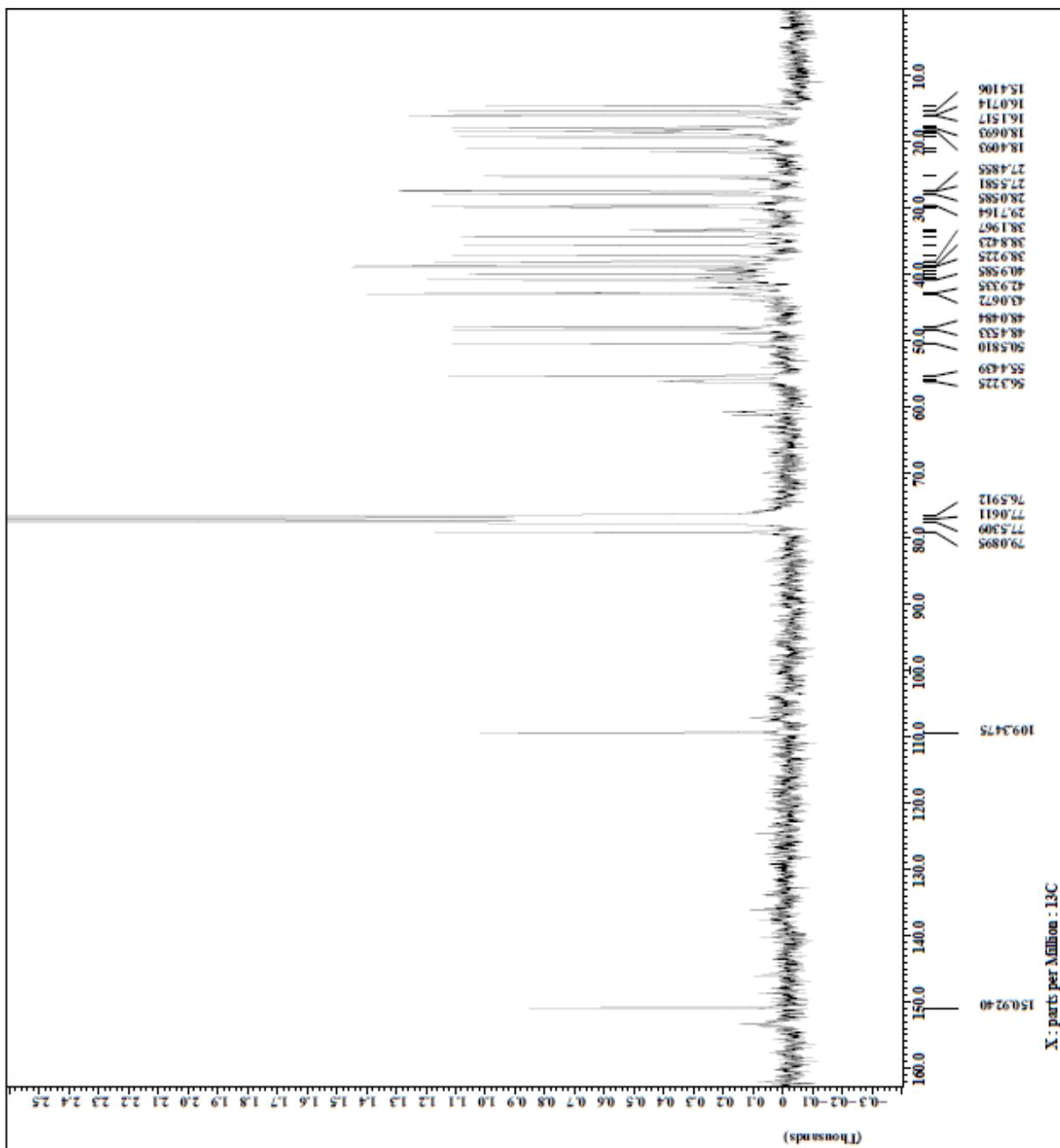


Espectro 7: RMN ^1H del Lupeol

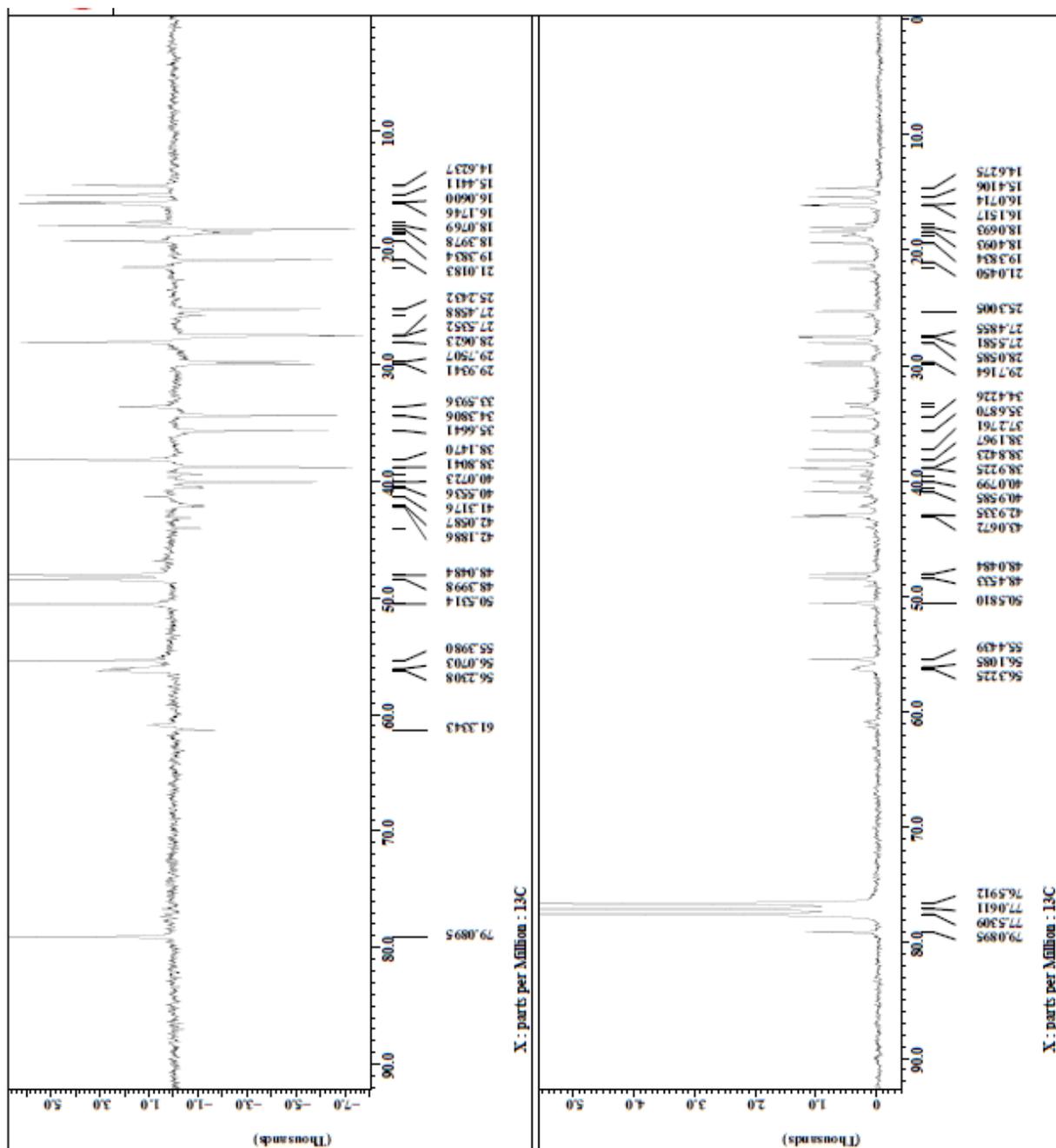
Protones	Experimental a δ_H ppm (m, J)	Reportado a δ_H ppm (m, J) ^[25]
29a	4.53 (s)	4.57 (s)
29b	4.64 (s)	4.68 (s)
3	3.14 (d ancho)	3.21 (dd, J= 2.0; 6.0Hz)
21 H, 7CH ₃	1.64, 0.99, 0.92, 0.90, 0.81, 0.79, 0.75 (7s)	1.68, 1.00, 0.97, 0.95, 0.83, 0.79, 0.76 (7s)

Tabla 3: Comparación de los datos del Lupeol en protones

El espectro de RMN ¹³C en comparación con un DEPT 135, permitió identificar la naturaleza de los carbonos presentes en la estructura. Se observaron 7 metilos, 9 carbonos metilénicos, 2 carbonos de tipo olefínicos, 5 carbonos de tipo metínico y 5 carbonos cuaternarios. La olefina ya señalada en el espectro de protones se corroboró con las señales de 109.6 y 150.4 ppm. Igualmente, el metino oxigenado apareció a un desplazamiento de 79.1 ppm. Estos datos llevaron a pensar en una estructura de triterpeno tipo lupano, y efectivamente la comparación con datos de la literatura, nos señaló que la estructura de este compuesto coincidía con la del conocido triterpeno, presente en una gran cantidad de plantas.



Espectro 8: RMN ^{13}C del Lupeol



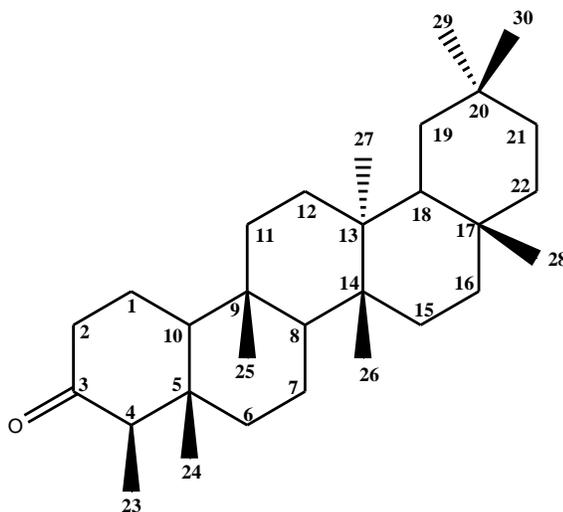
Espectro 10: DEPT 135 del Lupeol ampliado

Posición del Carbono	Tipo de Carbono	Experimental (ppm)	Reportado ^[25] (ppm)
1	-CH ₂	38.92	38.08
2	-CH ₂	27.49	27.43
3	-CH	77.53	79.05
4	C	33.32	38.73
5	-CH	55.44	55.33
6	-CH ₂	18.41	18.34
7	-CH ₂	34.42	34.31
8	C	40.96	40.86
9	-CH	50.58	50.47
10	C	37.28	37.20
11	-CH ₂	21.04	20.95
12	-CH ₂	25.30	25.17
13	-CH	38.20	38.88
14	C		42.86
15	-CH ₂	29.72	27.47
16	-CH ₂	35.69	35.61
17	C	43.07	43.02
18	-CH	48.45	48.34
19	-CH	48.05	48.00
20	C	150.92	150.98
21	-CH ₂	29.97	29.87
22	-CH ₂	40.08	40.02
23	-CH ₃	28.06	28.00
24	-CH ₃	15.41	15.37
25	-CH ₃	18.07	16.13
26	-CH ₃	16.07	16.00
27	-CH ₃	14.63	14.57
28	-CH ₃	19.38	18.02
29	-CH ₂	109.35	109.33
30	-CH ₃	21.62	19.32

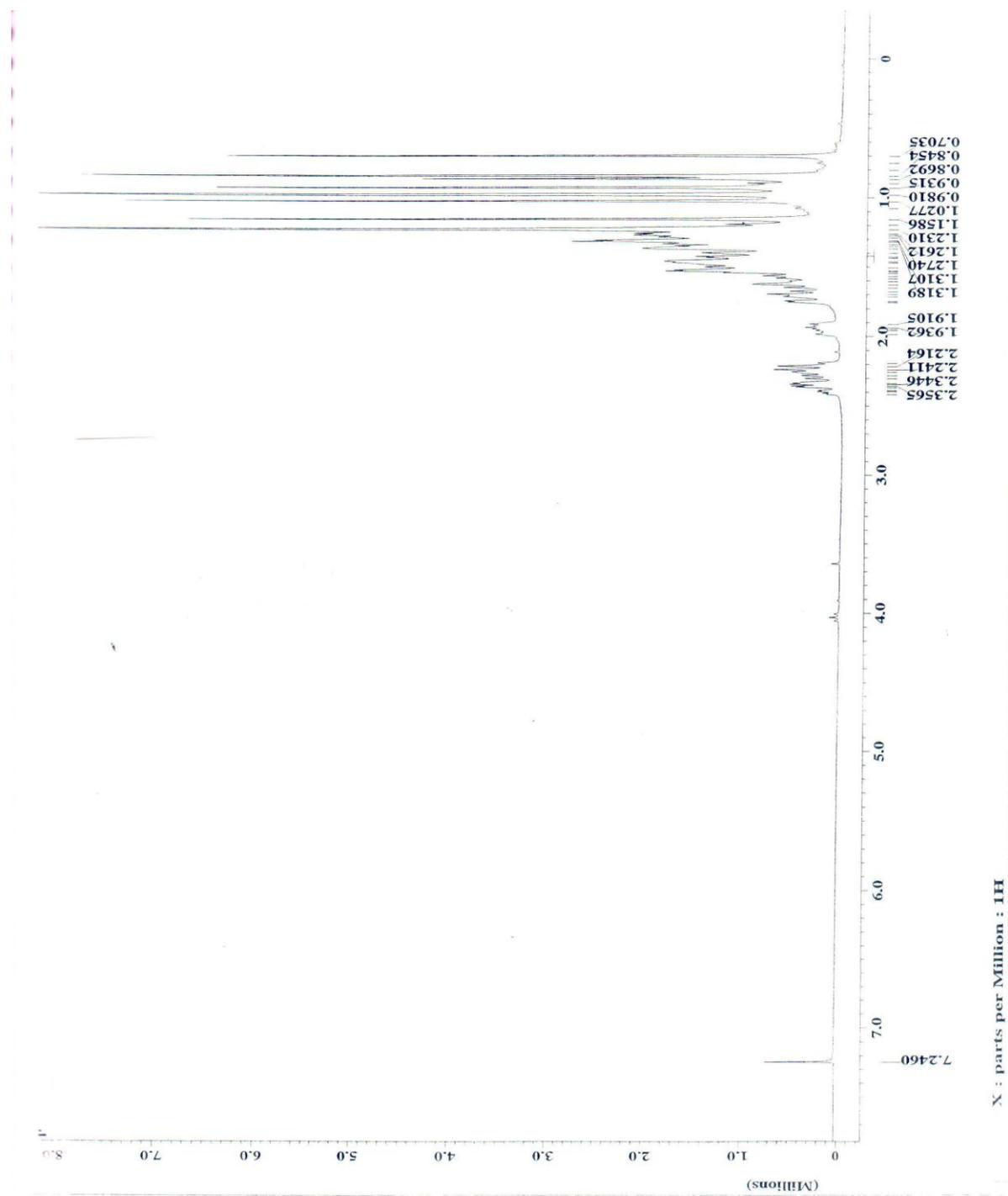
Tabla 4: Comparación de los datos del Lupeol en carbono

VII.1.5 Compuesto V: Friedelina

El compuesto presente en la fracción KP3.3, se aisló como un sólido blanco que funde en (260-263)^oC, con un peso de 25.4mg y representa un 0.01% del material vegetal inicial. En el espectro de RMN de ¹H, tomado en CDCl₃, se observaron sólo señales de tipo alifáticas, un grupo de señales singletes en la zona de los metilos, permitió presumir una estructura de tipo triterpénica. Entre esas señales un doblete que integra para 3 protones a un desplazamiento de 0.87 ppm, fue particularmente distintivo.



Compuesto V

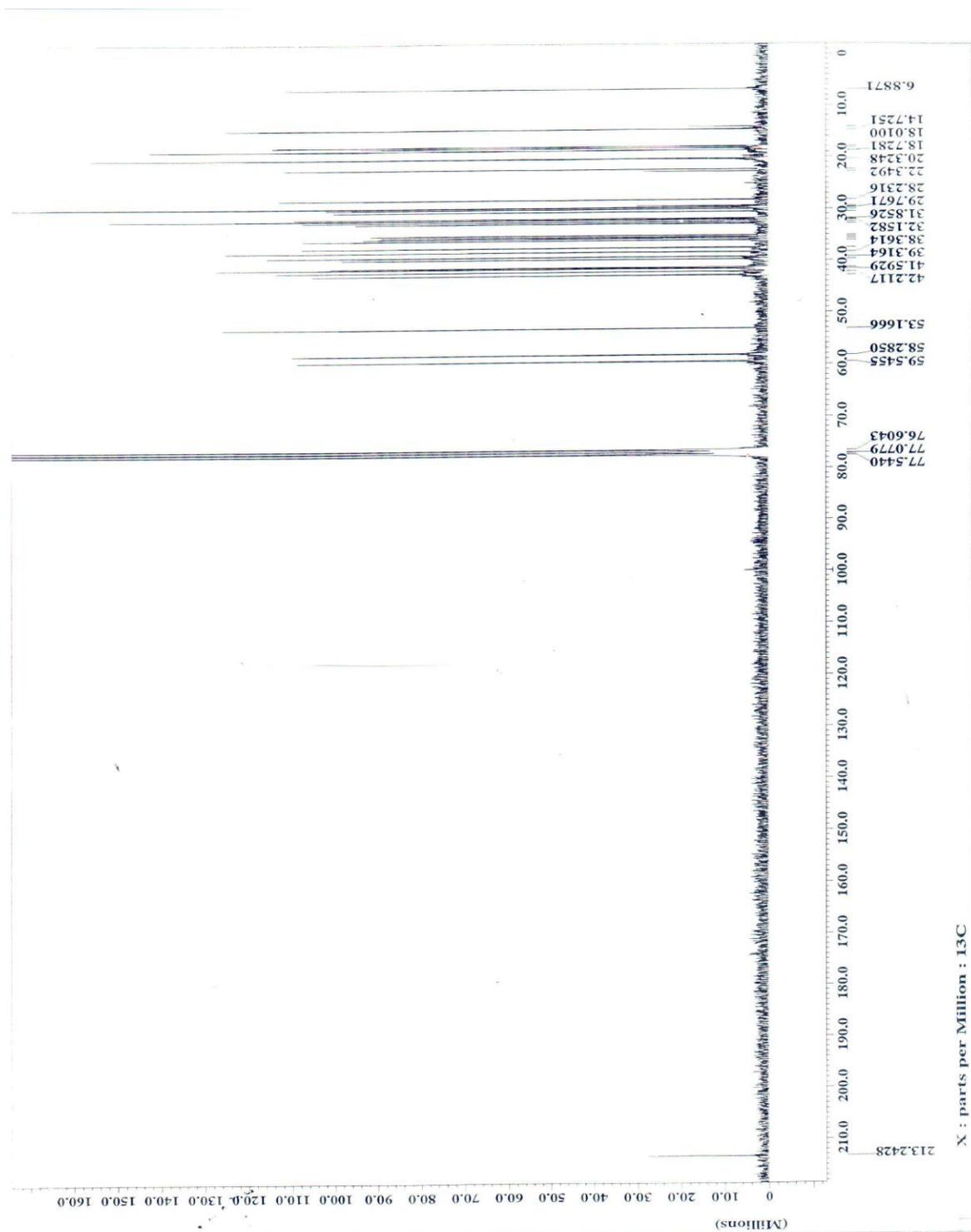


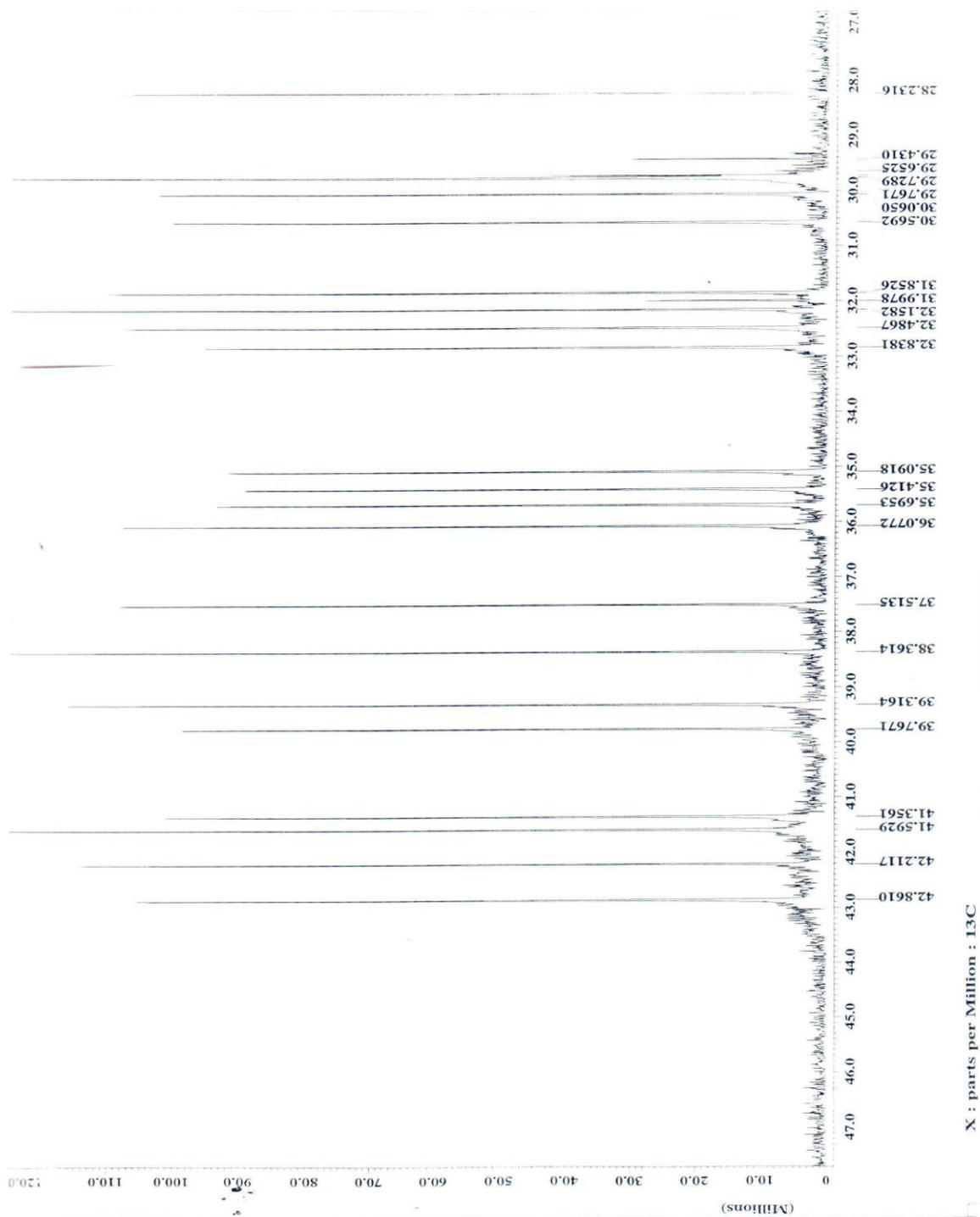
Espectro 11: RMN ^1H de Friedelina

Protones	Experimental a δ_H ppm (m, J)	Reportado a δ_H ppm (m, J) ^[26]
3H, C-23	0.87 (d)	0.89 (d, J= 6.4Hz)
3H, C-29	0.95 (s)	0.95 (s)
3H, C-27	1.02 (s)	1.01 (s)
3H, C-28	1.16 (s)	1.18 (s)

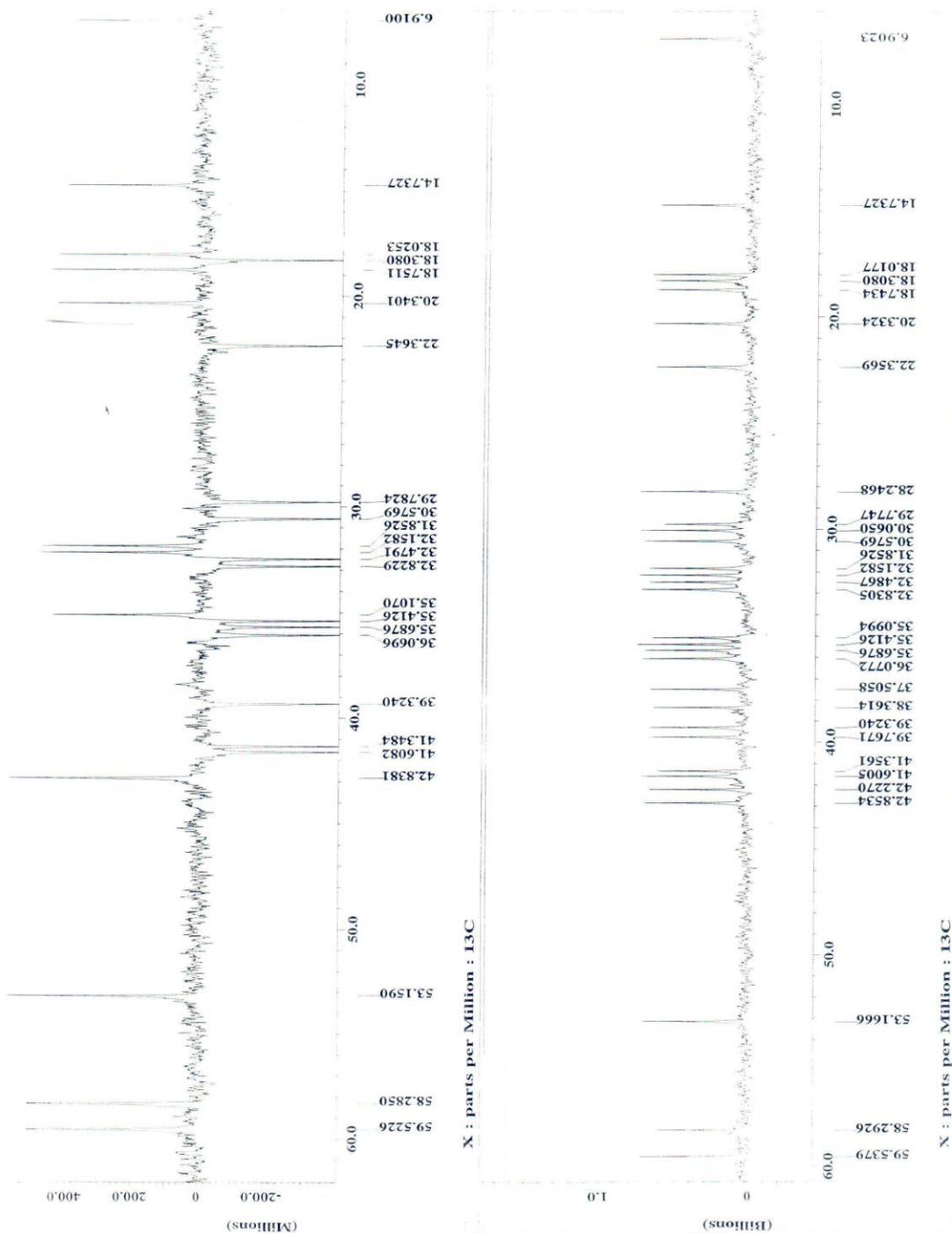
Tabla 5: Comparación de los datos de Friedelina en protones

Se analizaron los espectros de RMN ^{13}C y DEPT 135 de este compuesto y se distinguieron 30 señales, corroborando una estructura triterpénica. Se distinguieron claramente 5 grupos metinos, 11 señales de metilenos, 6 carbonos cuaternarios, entre ellos una señal a campo bajo en 213 ppm sugirió la presencia de un grupo cetona en la estructura y 8 grupos metilos. Con estas características distintivas y la revisión de la literatura nos hizo considerar la estructura de un triterpeno de tipo friedelano, distinguidos especialmente por el metilo que aparece a campo alto en 6.8 ppm y la señal de un metino en la zona de campo medio en 58.3 ppm, perteneciente en este caso al carbono 4, el cual se ve influenciado su desplazamiento por el grupo ceto ubicado en la posición 3. Comparando con estructuras que tienen este esqueleto, se estableció que el compuesto analizado era el triterpeno conocido como Friedelina.

Espectro 12: RMN ¹³C de Friedelina



Espectro 13: RMN ^{13}C de Friedelina ampliado



Espectro 14: Comparación del espectro DEPT 135 con el RMN ^{13}C de Friedelina

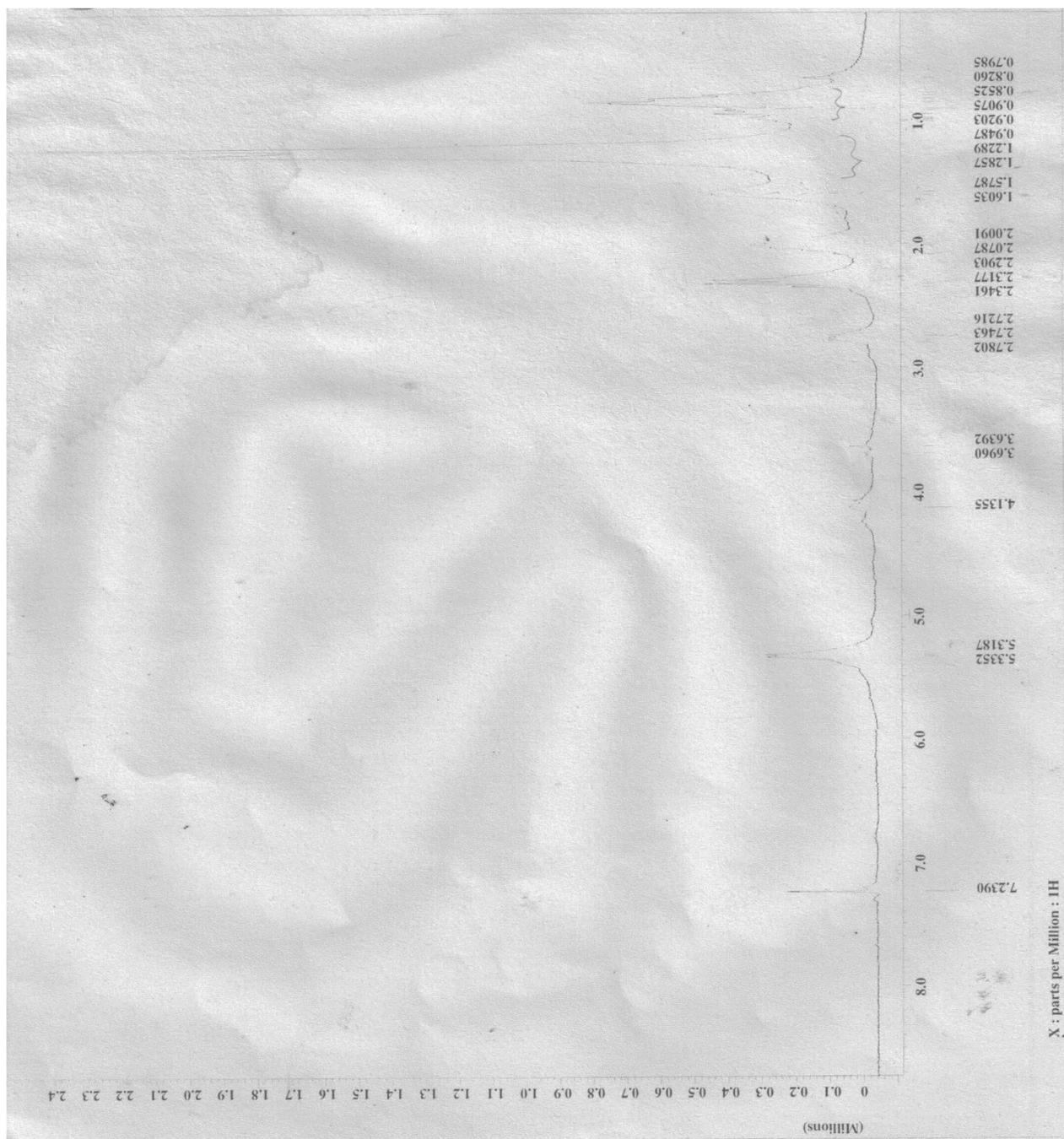
Posición del Carbono	Tipo de Carbono	Experimental (ppm)	Reportado ^[26] (ppm)
1	-CH ₂	22.3	22.3
2	-CH ₂	41.6	41.5
3	C	213.2	213.2
4	-CH	58.3	58.2
5	C	42.3	42.2
6	-CH ₂	41.4	41.3
7	-CH ₂	18.3	18.3
8	-CH	53.2	53.1
9	C	37.5	37.5
10	-CH	59.6	59.5
11	-CH ₂	35.7	35.6
12	-CH ₂	30.7	30.5
13	C	39.8	38.3
14	C	38.4	39.7
15	-CH ₂	32.5	32.4
16	-CH ₂	36.1	36.0
17	C	30.1	30.0
18	-CH	42.9	42.8
19	-CH ₂	35.4	35.4
20	C	28.2	28.2
21	-CH ₂	32.8	32.8
22	-CH ₂	39.3	39.3
23	-CH ₃	6.9	6.8
24	-CH ₃	14.7	14.7
25	-CH ₃	18.0	18.0
26	-CH ₃	20.3	20.3
27	-CH ₃	18.7	18.7
28	-CH ₃	32.2	32.1
29	-CH ₃	31.9	35.0
30	-CH ₃	35.1	31.8

Tabla 6: Comparación de los datos de Friedelina en carbono

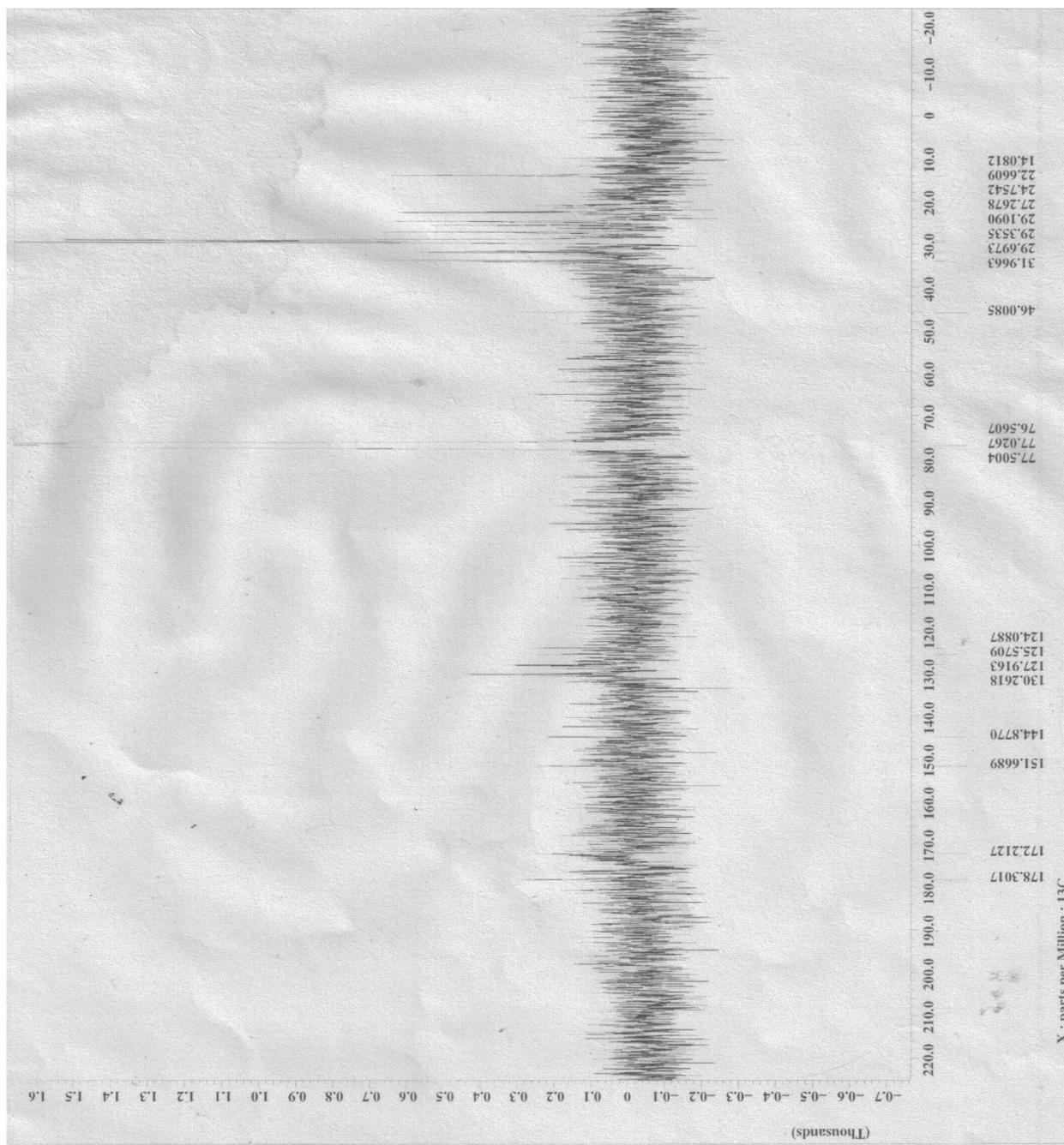
VII.1.6 Compuesto VI: Ácido graso III

Del material soluble en hexano y cloroformo se obtuvo una fracción pura con características de aceite amarillo, con un peso de 26.2mg que representa un 0.01% del material vegetal inicial.

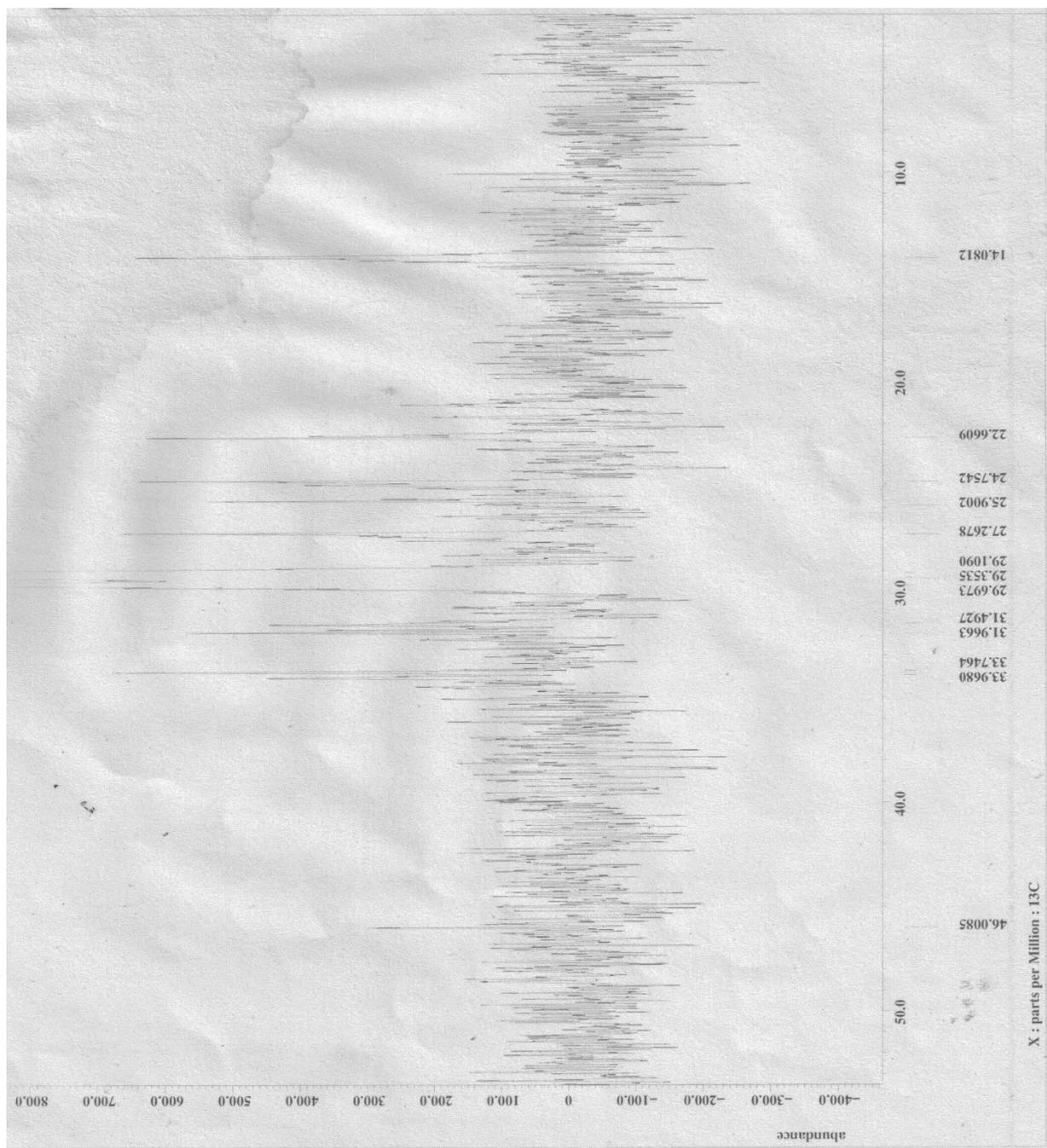
En su espectro de RMN ^1H en CDCl_3 presenta características similares al **compuesto I** y III, lo que hace sospechar nuevamente la presencia de un ácido graso, observándose señales características de un compuesto insaturado con dobles enlaces del tipo olefinas a 5.33-5.31 ppm y un triplete a 2.31 ppm correspondiente a los protones vecinos al grupo carbonilo. También se observa una señal intensa entre 1.28-0.94 ppm que se asigna a los protones sobre los carbonos metilénicos equivalentes y una señal a 0.85 ppm correspondiente a protones sobre carbonos metílicos. Los espectros de RMN ^{13}C y DEPT 135 muestran una señal a 178.30 atribuida al carbono del ácido carboxílico, señales a 130.26, 127.91, 125.57 y 124.08 ppm de compuestos del tipo olefínicos y señales entre 14.08 y 46.00 que corresponden a carbonos metílicos y metilénicos.



Espectro 15: RMN ^1H del Ácido graso III



Espectro 16: RMN ^{13}C del Ácido graso III

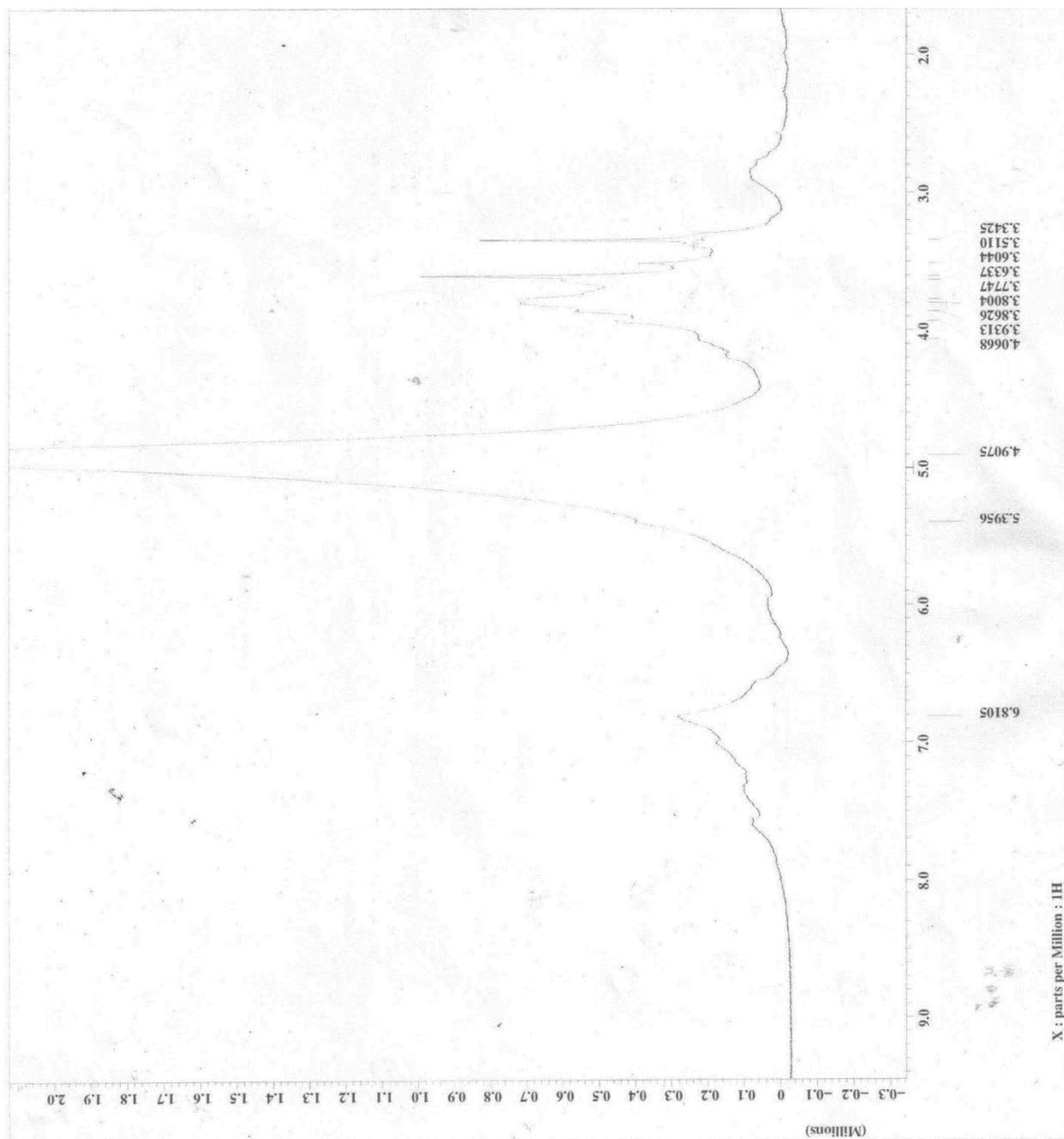


Espectro 17: RMN ^{13}C del Ácido graso III ampliado

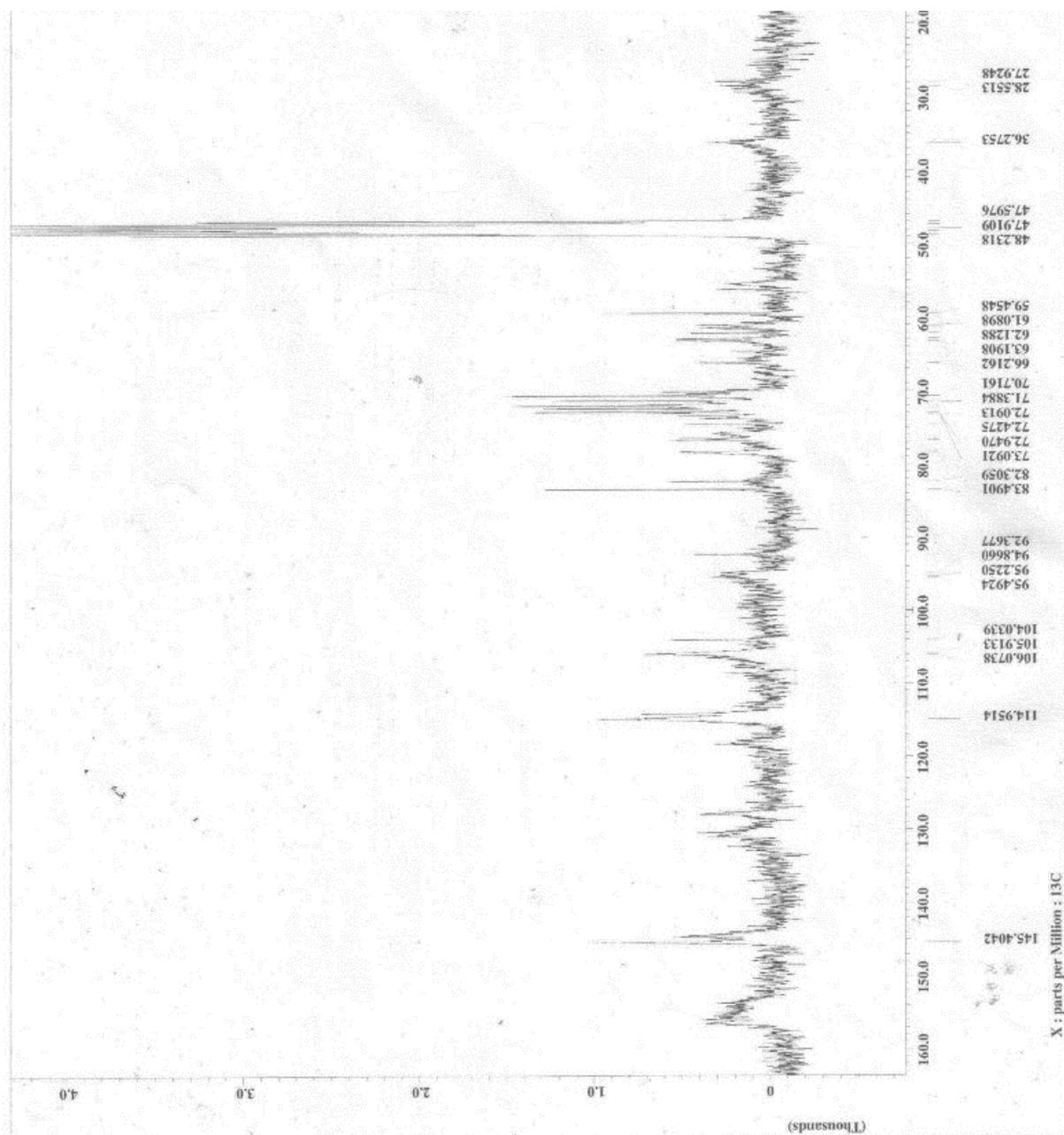
VII.1.7 Fracción KASCA_cC₇(22-44)

La fracción KASCA_cC₇(22-44) de color pardo rojizo, se obtuvo del extracto de AcOEt a través de una cromatografía en columna de fase inversa. Al realizar el espectro de RMN ¹H y ¹³C de dicha fracción se observaron señales características de compuestos del tipo antraquinonas glicosiladas. Las señales entre 145.40-92.36 ppm en el espectro de RMN ¹³C indican carbonos del tipo aromáticos, y señales entre 80.00-70.00 ppm son típicas de azúcares; además, en el espectro de RMN ¹H se observó un pico ancho entre 8.00-6.00 ppm que muestra la presencia de varios grupos hidroxilos en la molécula.

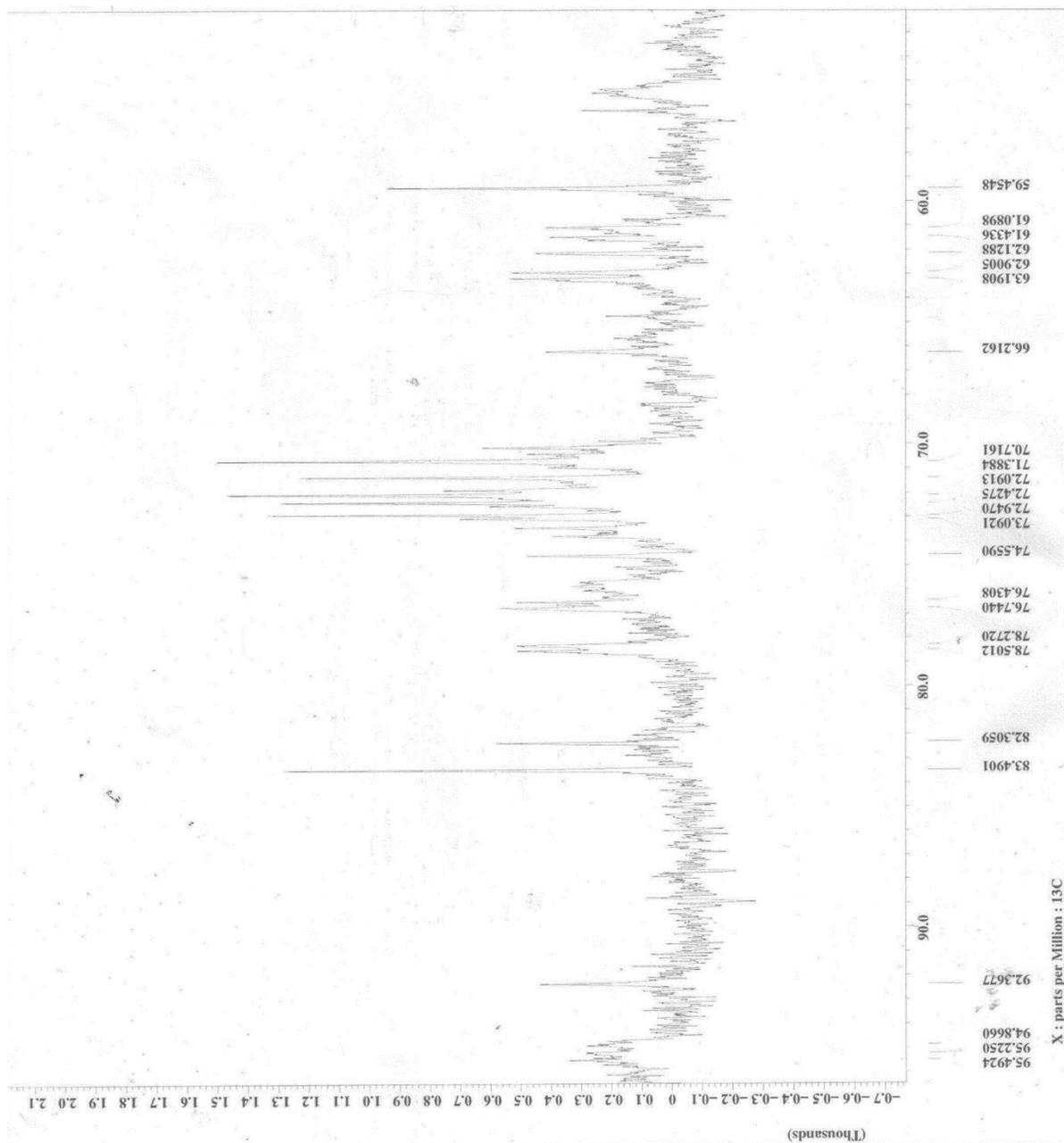
Los compuestos antraquinónicos son característicos de los géneros a la cual pertenece la planta *Senna Cassia sacri*, según lo extraído de la bibliografía citada; pero, las impurezas de la fracción KASCA_cC₇(22-44), y la baja resolución del equipo de Resonancia Magnética Nuclear, no permitieron identificar los tipos de antraquinonas presentes en dicha fracción.



Espectro 18: RMN ^1H de la fracción KASCacC₇(22-44)



Espectro 19: RMN ^{13}C de la fracción KASCAC₇(22-44)



Espectro 20: RMN ^{13}C de la fracción KASCAC₇(22-44) ampliado

VIII. CONCLUSIONES

De la corteza de la planta *Senna cassia sacri* se aislaron 6 compuestos, de los cuales 3 fueron identificados como: Linoleato de β -Sitosterol (Compuesto II), Lupeol (Compuesto IV) y Friedelina (Compuesto V); en cuanto a los otros 3 compuestos se infirió que son del tipo ácidos grasos (Compuestos I, III, VI) según señales obtenidas en los espectros de RMN ^1H y ^{13}C . No se logró la caracterización de los ácidos grasos; ya que no se disponía de los espectros de masa.

Al comparar los compuestos aislados en esta investigación con los citados en la bibliografía, se evidencia que compuestos como el β -Sitosterol, Lupeol y antraquinonas ya han sido extraídos de distintas partes de diferentes plantas de la misma familia tales como; *Cassia tora* Linn, *Cassia alata* (de las flores), *Senna siamea* (de los tallos), entre otras.

Del extracto de acetato de etilo se obtuvo la fracción KASCA_cC₇(22-44), de la que se presume la existencia de antraquinonas en la corteza de la planta, por sus características físicas y los datos proporcionados por el espectro de RMN ^1H y ^{13}C de dicha fracción. Dichos compuestos no fueron identificados por impurezas en la muestra y baja resolución del equipo de RMN.

IX. RECOMENDACIONES

Aislar e identificar los metabolitos mayoritarios presentes en el extracto de acetato de etilo debido a que se observó la posible presencia de antraquinonas, compuestos muy comunes en plantas de esta familia.

Estudiar fitoquímicamente los metabolitos presentes en el extracto hidrometanólico de la corteza de la planta.

Realizar el estudio fitoquímico de las otras partes de la planta tales como las hojas, raíces, flores entre otras, ya que es probable que se aíslen compuestos de estructura similar a los reportados en esta investigación.

Realizar espectros de masa de los ácidos grasos identificados como compuesto I, III y VI, para elucidar con certeza la estructura química de los mismos.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Giraldo, D., Baquero, E., Bermúdez, A., y Oliveira, M. (2009). Caracterización del comercio de plantas medicinales en los mercados populares de Caracas, Venezuela. *Acta Botánica Venezuelica*, 32(2), 267-301.
2. Botanical-online. (2016). Principios medicinales, Principios activos de las plantas medicinales. Disponible: <http://www.botanical-online.com/medicinalesprincipios.htm>. Consultada 15-08-2016.
3. Rzedowski, J., Calderón, G. (1997). Flora del bajío y de regiones adyacentes. Fascículo 51, México.
4. S.A. (2016). Beneficios de *Senna (Cassia senna)*. Disponible en: <http://www.herbwisdom.com/es/herb-senna.html>. Consultada 15-08-2016.
5. Bonifacio, M., Rossado, A., y Souza, M. (2015). Sistemática de Plantas Vasculares. Disponible en: http://www.thecompositaehut.com/www_tch/webcurso_spv/familias_pv/leguminosae_caesalpinodeae.html. Consultada 15-08-2016.
6. Alvarado, A. (2010). SlideShare, Fabaceae. Recuperado de: <http://es.slideshare.net/alalvarado55/diapositivas-de-la-familia-fabaceae>, Consultada 15-08-2016.
7. Ulibarri, E. (2008). Los géneros de Caesalpinioideae (Leguminosae) presentes en Sudamérica. *Darwiniana*, 46(1), 69-73.

8. S.A., (2016). *Sen (Cassia Senna)*. Disponible en: <http://plantasmedicinales.co/portfolio-item/sen-cassia-senna/>. Consulta 17-08-2016.
9. Ubierno, P., y Lapp, M. (2007). Caracterización morfológica de semillas de algunas especies de los géneros *Cassia* L. y *Senna* Mill. (Leguminosae Juss.). *Revista de la Facultad de Agronomía*, 24(3), 426-441.
10. Sisamela, D. (2013). Separación de metabolitos secundarios de *Martin Galvis (Senna multijuga)* con actividad antibacteriana. Tesis de grado para la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador.
11. Smita, J. and Patil, U. (2010). Phytochemical and pharmacological profile of *Cassia tora* Linn. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 1(4), 430-437.
12. Nakamura, S.; Zhang, Y.; Nakashima, S.; Oda, Y.; Wang, T.; Yoshikawa, M. and Matsuda, H. (2016). Structures of Aromatic Glycosides from the Seeds of *Cassia auriculata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 64(7), 970-974.
13. Yadav, S. (2013). Isolation and characterization of chemical compounds from flowers of *Cassia alata*. *Der Pharma Chemica*, 5(5), 59-62.
14. Liu, C.; Zhong, S.; Chen, R.; Wu, Y. and Zhu, X. (2009). Two new compounds from the dried tender stems of *Cinnamomum cassia*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 11(9), 845–849.

15. Aboul-Enein, A.; El-Ela, F.; Shalaby, E. and El-Shemy, H. (2014). Potent Anticancer and Antioxidant Activities of Active Ingredients Separated from *Solanum nigrum* and *Cassia itálica* Extracts. *Journal of Arid Land Studies*, 24(1), 145-152.
16. Mohammed, M.; El-Souda, S.; El-Hallouty, S. and Kobayashi, N. (2013). Antiviral and cytotoxic activities of anthraquinones isolated from *Cassia roxburghii* Linn. leaves. *Herba Polonica*, 59(4), 33-44.
17. Torrenegra, R., y Jiménez, R. (2002). Estudio fitoquímico de hojas y flores de *Senna bicapsularis* (L). *Actual Biol*, 24(76), 69-74.
18. Sharma, R.; Bhardwaj, R.; Sharma, P.; Yadav, A. and Singh, B. (2012). Antimicrobial activity of sennosides from *Cassia pumila* Lamk. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(19), 3591-3595.
19. Botanical-online. (2016). *Sen (cassia)*. Disponible en: <http://www.botanical-online.com/medicinalcassia.htm>. Consulta 17-08-2016.
20. Kinjo, J.; Ikeda, T.; Watanabe, K. and Nohara, T. (1994). An anthraquinone glycoside from *cassia angustifolia* leaves. *Phytochemistry*, 37(6), 1685-1687.
21. Ogbole, O.; Adeniji, J.; Ajaiyeoba, E.; Kamdem, R. and Choudhary, M. (2014). Anthraquinones and triterpenoids from *Senna siamea* (Fabaceae) Lam inhibit polio virus activity. *African Journal of Microbiology Research*, 8(31), 2955-2963.

22. Taher, R.; Nassar, M.; El-Toumy, S.; El-Hawary, S.; Abdel-Wahab, S.; Ahmed, R. and El-Khrisy, E. (2015). Phenolic Metabolites and some Pharmacological Activities of *Cassia renigera* Benth. Current Science International, 4(1), 164-171.
23. Yang, Y.; Lim, M. and Lee, H. (2003). Emodin Isolated from *Cassia obtusifolia* (Leguminosae) Seed Shows Larvicidal Activity against Three Mosquito Species. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(26), 7629-7631.

24. sitosterol

25. Silva, A.; Goncalves, C.; Duarte, L.; Nova, W.; Tasca, A.; Shiozawa, L.; Carvalho, J.; Trindade, I. and Vieira, S. (2017). Lupeol and its esters: NMR, powder XRD data and in vitro evaluation of cancer cell growth. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 53(3), e00251.
26. Sousa, G.; Duarte, L.; Alcántara, A.; Silva, G.; Vieira, S.; Silva, R.; Oliveira, D. and Takahashi, J. (2012). New Triterpenes from *Maytenus robusta*: Structural Elucidation Based on NMR Experimental Data and Theoretical Calculations. Molecules, 17(11): 13439-13456.

XI. ANEXO



Anexo 1: TLC de los extractos de Hexano, Cloroformo y AcOEt en 50/50% de Hexano-Diclorometano obtenidos en la partición del extracto inicial del material vegetal.