
MINISTERIO DE SALUD PUBLICA DE LA NACION

REVISTA
DEL
INSTITUTO BACTERIOLÓGICO MALBRÁN

Aislamiento de licopeno de la semilla de
Chaura (*Maytenus disticha*)
(Hooks J. Urban)

J. R. Mendive

Prosiguiendo con el estudio de vegetales argentinos, se ha aislado y caracterizado uno de los colorantes que se hallan en el arillo de las semillas de una de las plantas llamadas chaura en la región de los lagos del Sud (Nahuel Huapí) y que ha sido clasificada como *Maytenus disticha* (Hooks J. Urban).

Dicho colorante es soluble en éter, benzol, sulfuro de carbono, cloroformo, éter de petróleo y en menor proporción en alcohol etílico y metílico absolutos. Es insoluble en agua, ácidos y álcalis diluidos y no cambia de color por acción de ellos.

La solución clorofórmica da la reacción de Carr-Price. Por estas propiedades se lo consideró como un carotenoide. Como estos pigmentos raramente se encuentran solos en vegetales y si acompañados por otro de la misma familia, se utilizó el micrométodo de Kuhn y Brockman para su separación tal como está descrito en Zechmeister⁽¹⁾. Esta marcha analítica indicó que la cantidad de "xantofilas" libres y combinadas presente es muy pequeña y por análisis cromatográfico de la fracción de hidrocarburos se encontró que está compuesta por dos de ellos uno en proporción mucho mayor que la del otro. Se ha aislado el componente que se halla en mayor cantidad y por su punto de fusión, forma cristalina, espectro de absorción unidades C. L. O. y cromatografía mixta con carotenoides etc., se lo identificó como licopeno. Es la pri-

mera vez que se describe la presencia de este carotenoide en el arilo de semillas. Sólo la zeaxantina ha sido caracterizada colorimétricamente en el arilo de *Evonymus europeans*.

Parte experimental: 100 gr. de semillas producen 20 gr. de arilo que es donde se encuentran los carotenoides. El extracto etéreo (éter etílico) del arilo deja por evaporación un residuo de 63,4 %.

El Dr. P. Cattáneo nos envió 164 gr. de extracto etéreo obtenido de 1500 gr. de semillas y preparado con éter etílico recién destilado. Dicho extracto se presenta como masa grasa de color rojo.

10 gr. del extracto se disuelven en 700 ml. de éter de petróleo (P. E. 60°-80°) y la solución se extrae en 200 ml. de metanol en 5 veces. Se concentra el éter de petróleo a vacío y baja temperatura hasta 20 ml., y se coloca en un tubo de centrifuga cónico de 25 ml., de capacidad. El concentrado se mantiene a más o menos 40°, para evitar la solidificación de la masa y permitir la cristalización del licopeno, durante 10 minutos. (Estas operaciones se realizaban en presencia de la menor cantidad de luz posible).

Se centrifuga y se decanta el líquido rojo sobrenadante. La masa de cristales aciculares rojos está, a veces, recubierta de una película blanca de grasa que se elimina cuidadosamente con una espátula. Se disuelven los cristales en benceno (5 a 7 ml.) a 40° y se añaden 2 volúmenes de metanol lentamente y agitando. En esta forma cristaliza el licopeno. Se centrifuga y los cristales se disuelven nuevamente en 5 de benceno y se precipita con metanol. Estas cristalizaciones se repiten 12 veces más, al final de las cuales se secan los cristales que se guardan en la obscuridad y a vacío.

Estas preparaciones, partiendo de 10 gr. de extracto cada una se repiten cuatro veces. Los cristales obtenidos de 40 gr. de extracto y que pesan 100 mg. se disuelven en 22 ml., de benceno y se centrifuga para eliminar todo insoluble. Se pasa la solución sobrenadante a un tubo de centrifuga y se calienta a 40°. Se añade entonces lentamente y con agitación, 18 ml. de metanol previamente calentado a 40°. El licopeno cristaliza así en agujas macroscópicas. Se centrifuga y se recristaliza de 10 ml., de benceno y 10 ml., de metanol. Los cristales se lavan con metanol y se secan a vacío y en la obscuridad. PF. 172° (sin corregir).

La solución de cristales en éter de petróleo se comporta como sustancia homogénea por adsorción cromatográfica en alúmina (s. Brockmann) y en magnesia (Mg O Carlo Erba).

Cromatografía mixta: Para poder comparar el comportamiento de la sustancia aislada con licopeno puro, preparamos éste partiendo de tomate, y finalmente se lo purificó por cromatografía disuelto en éter de petróleo, eluyendo con éter de petróleo y metanol, usando Mg O como adsorbente. El licopeno así obtenido era homogéneo cromatográficamente sobre alúmina (Brockmann) y MgO (Carlo Erba).

El licopeno de Chaura disuelto en éter de petróleo, mezclado con una solución del obtenido de tomates en el mismo disolvente, da una sola banda de absorción en columna de Mg O, manteniéndose la homogeneidad por elución con éter de petróleo y con éter de petróleo-metanol.

Se ensayó una mezcla de licopeno de Chaura con β -caroteno obtenido por purificación cromatográfica de un preparado de Hoffman La Roche. El cromatograma mostraba dos zonas, una de ellas se eluye por simple lavado de la columna de Mg O con éter de petróleo, mientras que la zona debida al licopeno queda en la parte superior. La misma experiencia se repitió utilizando una mezcla de licopenos de Chaura y tomate, y β -caroteno con idéntico resultado que la anterior, empleando como disolvente éter de petróleo en un caso y sulfuro de carbono en otro. En otras experiencias donde se utilizó una mezcla de los tres carotenos y licopeno (proveniente de Chaura, tomate, o la mezcla de ambos) se obtuvieron cuatro zonas, viajando más rápidamente las de los carotenos, sea utilizando éter de petróleo o sulfuro de carbono como disolvente y Mg O o alúmina como adsorbentes.

Comparación colorimétrica en bicromato de potasio: Se realizó una comparación colorimétrica de una solución de 3,6 mg de licopeno en 1 litro de éter de petróleo preparada según Zechmeister (2) con una solución al 0,2 % de bicromato de potasio, en un colorímetro Dubosq. Colocando la solución de bicromato de potasio en 50 la solución de licopeno iguala el color colocada en 48,8 (promedio de 8 lecturas) lo que concuerda con lo señalado por Zechmeister.

Determinación de unidades C. L. O.: Las determinaciones se hicieron con una solución de 0,216 mg. en por ml. de cloroformo y siguiendo la técnica descrita por Euler y Karrer (3) obteniéndose los resultados del cuadro I.

Segundos	Azules	Amarillas	C. L. O.		
			C. L. O.	S. Euler	S. Karrer
30	2,7	1,4	250	283	177
60	3,0	1,4	277	—	231
120	3,1	1,4	287	343	253
180	3,6	1,4	333	—	284
300	3,9	1,4	361	400	—

Como puede verse, los valores obtenidos son comparables pues lo que dan los otros carotenoides en las mismas condiciones son diferentes de los consignados.

Espectro de absorción: Fué determinado empleando una solución de 4 mg. de sustancia en 1 litro de cloroformo, encontrándose que dicha solución presenta máximos en 516,7 mu, 481,3 mu, 452,3 mu. Estos valores coinciden con los hallados por Euler Karrer Klussmann y Morf, quienes señalan las cifras siguientes 517 mu, 480 mu y 453 mu.

También se preparó una solución conteniendo 5 mg. por litro en sulfuro de carbono encontrándose los máximos de absorción en 553 mu, 515 mu, coincidiendo con las cifras halladas por Zechmeister y Cholnoky (⁵).

CONCLUSIONES

1º — Se ha aislado licopeno del arilo de la semilla de *Maytenuis disticha* (Hookes) Urban.

2º — La caracterización se hizo por sus propiedades, comportamiento cromatográfico y espectro de absorción.

BIBLIOGRAFÍA

1. ZECHMEISTER L. — Carotenoide 1934, 102 Berlín 1934.
2. ZECHMEISTER L. — Carotenoide 1934, 152 Berlín 1934.
3. EULER H. y KARRER P. — Helv. Chim. Acta **15**, 496, 1932.
4. EULER H. y KARRER P. KLUSSMANN E. y MORF R. — Helv. Chim. Acta **15**, 502, 1932.
5. ZECHMEISTER L. y CHOLNOKY L. — Ber. **63**, 422, 1930.