

Dominguezia

Museo de Farmacobotánica
"Juan A. Domínguez"

Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires



Piper nigrum L.

Dominguezia

Vol. 30(2) - 2014

Director Responsable:

Dr. Marcelo Luis Wagner

Comisión Redactora:

Farm. Carlos Agosto
Dr. Arnaldo L. Bandoni
Dr. Gustavo C. Giberti
Dr. Alberto A. Gurni
Dr. Marcelo L. Wagner

Comisión Científica Asesora:

Dr. Pastor Arenas (Instituto de Botánica Darwinion, Argentina)
Dr. Néstor Caffini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dra. María T. Camargo (Universidad de San Pablo, Brasil)
Dr. Rodolfo Campos (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. Salvador Cañigueral Folcará (Universidad de Barcelona, España)
Dr. Eduardo Dellacassa Beltrame (Universidad de la República, Uruguay)
Dra. Martha Gattuso (Universidad Nacional de Rosario, Argentina)
Dr. Héctor Alejandro Keller (Universidad Nacional del Nordeste, Argentina)
Dr. José Luis López (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. José María Prieto-García (University of London, Gran Bretaña)
Dr. Rafael A. Ricco (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. Lionel G. Robineau (Universidad de las Antillas y de la Guyana)
Dra. Etilde Spegazzini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dr. Carlos Taira (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. María L. Tomaro (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. E. C. Villamil (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Comisión Científica Honoraria:

Dr. Ramón A. de Torres (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. Marta Nájera (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dr. Otmaro Rosés (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Editores Científicos:

Dr. José María Prieto-García
Dra. Catalina M. van Baren
Dr. Rafael A. Ricco
Dr. Marcelo Luis Wagner

Editora Asociada:

María Cristina Ratto de Sala

Secretaría, Edición electrónica y Webmaster:

Fernando Gabriel Ranea

Edición financiada por la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires

Dominguezia se distribuye por canje con otras publicaciones dedicadas a temas afines.

This publication is sent to individuals or institutions by exchange with similar ones,
devoted to Pharmacobotany or related subjects.

Lámina de Tapa:
***Piper nigrum* L. (Piperaceae)**

Lámina extraída de *Köhler's Medizinal-Pflanzen*.

Incluida en el Directorio de LATINDEX
por el Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT - CONICET)
con el número de Folio 2787 Dominguezia,
y en Electronic Sites of Leading Botany, Plant Biology and Science Journals.
Providing links to the world's electronic journals.

Registro de la Propiedad Intelectual N°. 5212613.

Se terminó de editar en diciembre de 2014.

Índice de contenido

| | |
|--|-----------|
| Determinación de calidad de “marcela” <i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC. (Asteraceae). Parámetros fitoquímicos | 5 |
| Daiana S. Retta | |
| Micromorfoanatomía de hoja de <i>Piper patulum</i> Bertol. (Piperaceae) colectadas en Samayac, Suchitepéquez, Guatemala | 19 |
| Luis E. Álvarez, Carolina Rosales de Zea, Armando Cáceres | |
| Estudios anatómicos y análisis fitoquímicos preliminares de Monocotiledóneas hidrófitas en “mallines” de la estepa patagónica | 27 |
| Elizabeth A. Barrientos, Mabel S. Feijóo, Roxana B. Peneff, Evangelina Laztra, Adriana C. Gratti | |
| Contenido de polifenoles en <i>Ligaria cuneifolia</i> y su relación con la capacidad antioxidante | 35 |
| Cecilia B. Dobrecky, Ezequiel Moreno, Mariana Garcés, Silvia Lucangioli, Rafael Ricco, Pablo Evelson, Marcelo L. Wagner | |
| Caracterización por HPLC y FTIR de los extractos acuosos de tres especies diuréticas del centro-oeste argentino | 41 |
| María F. Garro, María A. Gette, Marta E. Petenatti, Mariana C. Popovich, Gerardo Camí, Elbio Saidman, Luis A. Del Vitto, Elisa M. Petenatti | |
| Plantas medicinales comercializadas en el mercado municipal de la ciudad de Pilar, Dpto. Ñeembucu, Paraguay | 47 |
| Isabel Basualdo, Nélica Soria | |
| Estudio morfoanatómico de dos especies de <i>Myrcianthes</i> de las yungas, Jujuy (Argentina) | 55 |
| Raquel A. Romeo, Alberto A. Gurni | |

Index

| | |
|--|-----------|
| Quality Determination of “Marcela” <i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC. (Asteraceae). Phytochemical Parameters | 5 |
| Daiana S. Retta | |
| Micromorphoanatomy of Vegetative Organs from <i>Piper patulum</i> Bertol. (Piperaceae) Collected in Samayac, Suchitepéquez, Guatemala | 19 |
| Luis E. Álvarez, Carolina Rosales de Zea, Armando Cáceres | |
| Anatomical Study and Preliminary Phytochemical Analysis of Aquatic Monocots in “Meadows” of the Patagonian Steppe | 27 |
| Elizabeth A. Barrientos, Mabel S. Feijóo, Roxana B. Peneff, Evangelina Laztra, Adriana C. Gratti | |
| Polyphenol Composition in <i>Ligaria cuneifolia</i> (Loranthaceae) and its Relationship with the Antioxidant Capacity | 35 |
| Cecilia B. Dobrecky, Ezequiel Moreno, Mariana Garcés, Silvia Lucangioli, Rafael Ricco, Pablo Evelson, Marcelo L. Wagner | |
| HPLC and FTIR Characterization of Aqueous Extracts of Three Diuretic Plant Species from West Central Argentina | 41 |
| María F. Garro, María A. Gette, Marta E. Petenatti, Mariana C. Popovich, Gerardo Camí, Elbio Saidman, Luis A. Del Vitto, Elisa M. Petenatti | |
| Medicinal Plants Traded in the Municipal Market of Pilar City, Ñeembucu, Paraguay | 47 |
| Isabel Basualdo, Nélide Soria | |
| Morphoanatomical Study of Two Species of Myrcianthes of the Yungas, Jujuy (Argentina) | 55 |
| Raquel A. Romeo, Alberto A. Gurni | |

Determinación de calidad de “marcela” *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Asteraceae). Parámetros fitoquímicos

Daiana S. Retta

Cátedra de Farmacognosia - IQUIMEFA (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, 2° piso (1113). Buenos Aires, República Argentina.
Correspondencia: dretta@ffyb.uba.ar

Compendio de la tesis de doctorado

“Parámetros fitoquímicos para la determinación de calidad de ‘marcela’
Achyrocline satureioides (Lam.) DC. (Asteraceae)”.

Lugar y fecha de aprobación de la tesis:

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, 17 de diciembre de 2012.

Resumen

La “marcela” es una especie vegetal aromática de amplio uso en medicina tradicional en la región del Río de la Plata. Con este nombre se designa principalmente a la especie *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. –Asteraceae–, aunque también a otras especies de los géneros *Achyrocline* y *Gnaphalium*. Las partes aéreas y las inflorescencias son tradicionalmente usadas como digestivas, antiinflamatorias, antiespasmódicas y antidiabéticas. En América del Sur hay una notable demanda de “marcela”, tanto para el mercado farmacéutico como para la elaboración de productos cosméticos y bebidas amargas. Sin embargo, su provisión presenta una gran variabilidad en su calidad, dado que se encuentra frecuentemente adulterada, sustituida o contaminada, o porque hasta el momento no existe una norma local que regule su calidad. Por esta razón es importante la caracterización química de la especie *Achyrocline satureioides* en la Argentina. Con el objetivo de definir criterios de calidad de la “marcela” se realizaron análisis fitoquímicos de la especie, obtenida en varias poblaciones silvestres a lo largo de su zona de distribución natural en la Argentina. Se evaluaron los perfiles cromatográficos de las fracciones volátiles y no volátiles característicos de esta especie. Se optimizó la metodología de análisis para su control de calidad y se realizó su validación. Por otra parte, se logró su diferenciación por medio de análisis cromatográficos y su caracterización sensorial, de las otras especies más comunes utilizadas como adulterantes o sustitutas. También se evaluó la capacidad antioxidante de *A. satureioides* y se correlacionaron los resultados obtenidos con el contenido de polifenoles totales. Por último, se evaluó la actividad tripanocida en las especies *A. satureioides* y *A. flaccida*, que no resultó significativa. Los resultados obtenidos contribuyen a la definición de las especificaciones químicas para la “marcela”, de manera que garantizaran tanto su identidad, eficacia y calidad, como la contribución a asegurar su homogeneidad en el mercado local.

Palabras clave: *Achyrocline satureioides* - *Achyrocline flaccida* - *Gnaphalium gaudichaudianum* - adulterantes - calidad.
Key words: *Achyrocline satureioides* - *Achyrocline flaccida* - *Gnaphalium gaudichaudianum* - adulterants - quality.

Quality Determination of “Marcela” *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Asteraceae). Phytochemical parameters

Summary

“Marcela” is an aromatic herbal species widely used in traditional medicine in the Río de la Plata region. This name refers mainly to the species *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. –Asteraceae–, but also to other species of the genus *Achyrocline*, and *Gnaphalium*. The aerial parts and inflorescences are traditionally used as digestive, anti-inflammatory, antispasmodic, and antidiabetic. There is an important demand for “marcela” in South America, not only for the pharmaceutical market, but also for cosmetic, and bitter beverages industries. However, a great variability in its quality has been detected, either because of adulteration, substitution or contamination, or due to the lack of a local norm that regulates its quality. For this reason, the chemical characterization of the species *Achyrocline satureioides* in Argentina is of main interest. Phytochemical analysis was carried out in order to define the quality specifications, supported on the analysis of a great number of natural populations in Argentina. Chromatography profiles of volatile and non-volatile fractions typical of the species were evaluated. The method of analysis for its quality control was optimized and then validated. It was also possible to differentiate this species from their most common adulterants or substitutes. Antioxidant capacity of *A. satureioides* was evaluated and the results obtained were correlated with total phenol contents. Finally, assessment of tripanocide activity in *A. satureioides*, and *A. flaccida*, showed no significance. These results contribute to the definition of the chemical specifications for this species, ensuring the identity, efficacy, and quality, as well as contributing to guarantee the homogeneity of “marcela” in the local market.

Introducción

La “marcela” es una especie vegetal de amplio uso en medicina tradicional en la región del Río de la Plata. Con este nombre se define principalmente a la especie *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. –Asteraceae–, aunque también a otras especies, como *Achyrocline flaccida* (Weinm.) DC. y *Gnaphalium gaudichaudianum* DC. (Gattuso y col., 2008). Las partes aéreas, y fundamentalmente las inflorescencias de la especie *A. satureioides* (Fotos 1 y 2), son tradicionalmente usadas como digestivas, antiinflamatorias, antiespasmódicas, antidiabéticas y antiasmáticas (Ratera y Ratera, 1980; Toursarkisian, 1980; García y col., 1990). Varios autores han constatado estas y otras propiedades en ensayos *in vitro* e *in vivo* y justifican la mayoría de sus actividades por su contenido de flavonoides (Langeloh, 1988; Oliveira Simões y col., 1988; Hnatyszyn y col., 2004).

Se observa que en la Argentina y en el resto de los países del Mercosur hay una importante demanda de “marcela”, tanto para el mercado farmacéutico como para la elaboración de productos cosméticos y bebidas amargas. La provisión de este material vegetal presenta una gran variabilidad en su calidad, dado que se encuentra frecuentemente adulterada, sustituida o contaminada, o porque hasta el momento no existe una norma local que regule su calidad.

Para este trabajo de tesis se han tenido en cuenta las circunstancias expuestas previamente. En consecuencia, la caracterización química de la especie *A. satureioides* y de otras especies denominadas “marcela” es de fundamental importancia por su amplio uso en las industrias alimentaria y farmacéutica en Sudamérica. Por otra parte, resulta necesario establecer normas de calidad de los materiales que se emplean en la elaboración de medicamentos y alimentos; por esta razón, se propuso aplicar los datos obtenidos para contribuir a la definición de las

Foto 1- Inflorescencias de *A. satureioides*

Villa Gral. Belgrano, Córdoba, Argentina.

Foto 2- Inflorescencias de “marcela”

Piedra Blanca, Córdoba, Argentina (Cortesía de la Dra. Susana Suárez, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba).

especificaciones químicas, de manera que garanticen su identidad, eficacia y calidad, y así asegurar su homogeneidad en el mercado local.

Objetivos

De acuerdo con las necesidades observadas, los objetivos que se plantearon fueron:

- caracterizar químicamente la especie *Achyrocline satureioides* que crece en la Argentina;
- optimizar las metodologías de análisis para su control de calidad y, de ser necesario, validarlas;
- evaluar el contenido de activos en las distintas partes de la planta para definir la parte usada y evaluar las posibles variaciones estacionales mediante el análisis de muestras en distintos estadios de la floración;
- estudiar la variabilidad química de las muestras por diferentes metodologías;
- realizar evaluaciones sensoriales por su importancia como amargo;
- contribuir al estudio de la capacidad antioxidante y la potencial actividad tripanocida de sus extractos;
- definir criterios de calidad para la especie *A. satureioides* de la Argentina;
- encontrar parámetros fitoquímicos que la diferencien de los adulterantes o sustitutos habitualmente empleados.

Desarrollo experimental

El muestreo¹ realizado fue representativo de las áreas naturales de distribución más importantes de “marcela” en la Argentina durante la época de floración. Se colectó material silvestre y se obtuvieron además, algunas muestras comerciales. Los ejemplares de herbario fueron depositados en las respectivas universidades. También se analizaron algunos aceites esenciales de *A. satureioides* de distintas procedencias²

A partir de estos materiales vegetales se realizó la caracterización química de los componentes volátiles y no volátiles de la “marcela”.

¹ La recolección y la identificación botánica del material estuvo a cargo de los grupos de trabajo de las doctoras Martha y Susana Gattuso, de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario; de la doctora Susana Suárez, de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba y del ingeniero agrónomo Gustavo Giberti, del Museo de Farmacobotánica “Juan A. Domínguez”, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires.

² Los aceites esenciales fueron obtenidos por el ingeniero agrónomo Miguel A. Elechosa y el técnico Miguel A. Juárez, del Instituto de Recursos Biológicos, INTA, Castelar, provincia de Buenos Aires. Otras muestras de aceites esenciales fueron obtenidas a partir de inflorescencias de *A. satureioides* y enviadas por la doctora Susana Suárez, de la Universidad de Río Cuarto, Córdoba y la ingeniera agrónoma Alejandra Gil, de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires.

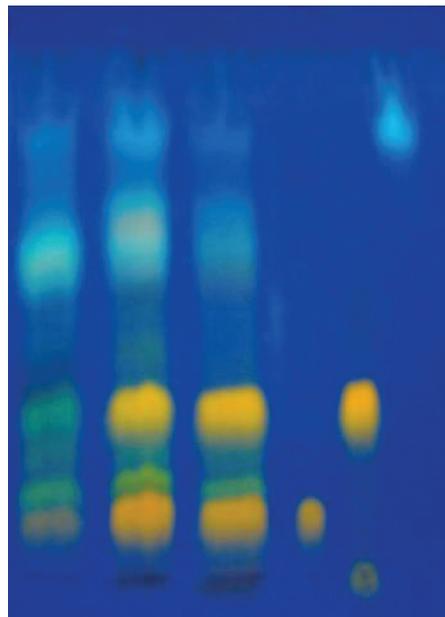
El estudio de la fracción no volátil de *Achyrocline satureioides* comprendió la realización de ensayos de identificación por cromatografía en capa delgada (CCD). El objetivo fundamental de este análisis fue encontrar un sistema cromatográfico que permitiera la identificación de la especie *A. satureioides*, y la evaluación de su pureza, considerando sus principales adulterantes y contaminantes.

Las especies del género *Achyrocline* presentan ciertas dificultades en su identificación botánica, debido a que tienen caracteres morfológicos muy semejantes entre sí (Giangualani, 1976). La dificultad en la correcta identificación del material vegetal genera usualmente casos de contaminación, debido a que la demanda actual en la región está cubierta por la colecta de material silvestre, y frecuentemente se encuentra mezclado con otras especies similares, situación que es agravada por la adulteración intencionada a causa de la escasez y la imposibilidad de acceso al material válido. Por esta razón, además se incluyó la determinación de perfiles cromatográficos discriminantes por CCD de las especies utilizadas como sustitutas (*Achyrocline flaccida* y *Gnaphalium gaudichaudianum*). La CCD es una metodología muy sencilla de implementar en un laboratorio de control de calidad.

Se comenzó con la optimización de un sistema cromatográfico por CCD que permitiera identificar a *Achyrocline satureioides* a partir de un extracto etanol 80 %. Para ello se empleó celulosa como fase estacionaria y, como fase móvil, ácido acético al 30 %; también se incorporaron como testigos los marcadores químicos y activos más importantes: quercetina, quercetina-3-metil éter (Q3ME) y ácido clorogénico. Sin embargo, se encontró que esta especie presentaba una gran similitud con otra de las especies que también es conocida como “marcela”, *A. flaccida* (Figura 1). Los perfiles cromatográficos obtenidos por CCD en el sistema cromatográfico ensayado, demuestran que presentan composiciones químicas semejantes. En cambio, se encontraron diferencias en los perfiles cromatográficos con *G. gaudichaudianum*, otro adulterante común de la “marcela”, que evidenció una composición química diferente (Figura 1).

El análisis de varias muestras permitió encontrar un sistema cromatográfico nuevo y más adecuado; fase estacionaria, silicagel, y fase móvil, tolueno: acetato de etilo: ácido acético (9:1:III), con el que se logró obtener un perfil cromatográfico característico

Figura 1- Perfil comparativo de los extractos etanol 80 % por CCD de las inflorescencias de *G. gaudichaudianum*, *A. flaccida* y *A. satureioides*



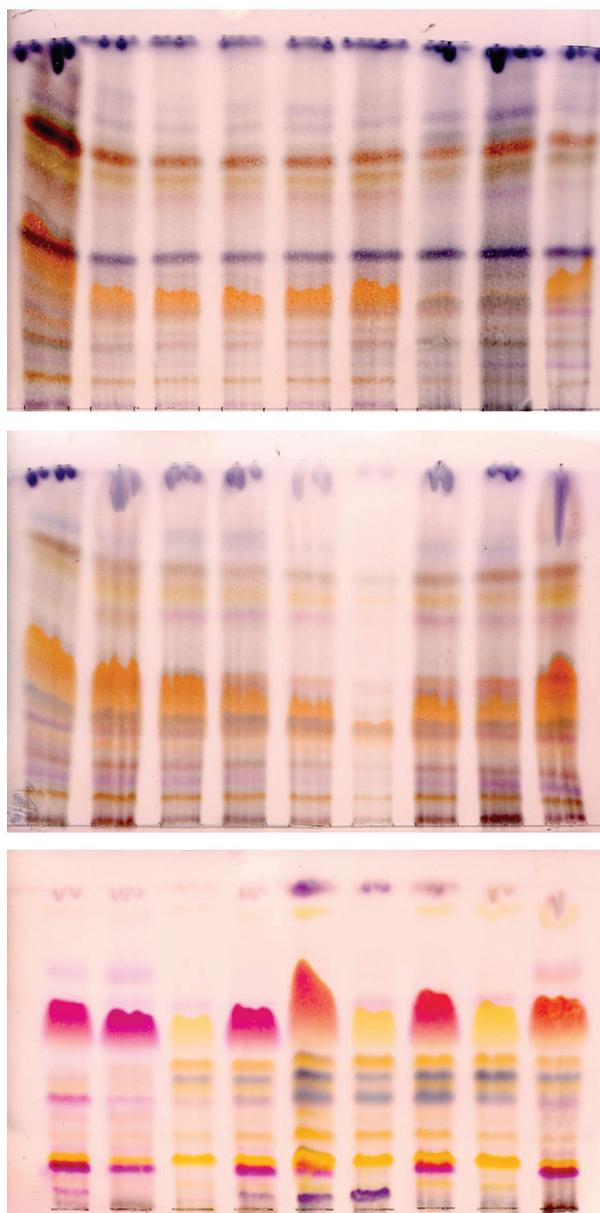
Testigos: quercetina, quercetina-3-metil éter y ácido clorogénico (de izquierda a derecha). Fase móvil empleada ácido acético 30 %. Observación al UV_{366nm}.

de cada una de las especies estudiadas, conocidas como “marcela”, a partir de extractos no polares, y que permite diferenciarlas entre sí (Figura 2). Este análisis por CCD permitiría minimizar errores por contaminación y falsificación (Retta y col, 2010a).

La comercialización de la “marcela” se realiza actualmente mediante el acopio de todas las partes aéreas florecidas. Por esta razón también se realizó la determinación de polifenoles totales por espectrofotometría UV/Vis en las distintas partes de la planta (tallos, hojas e inflorescencias). De esta manera, se pudo evaluar qué aporte tenían cada una de las partes respecto al contenido total de activos. Se encontró que *A. satureioides* presenta mayor contenido de polifenoles totales en sus inflorescencias que en las otras partes de la planta.

Varios autores han informado que *A. satureioides* presenta una cantidad significativa de flavonoides; entre ellos, quercetina y Q3ME (Sonaglio y col., 1986; De Souza y col., 2002; Morquio y col., 2004; Díaz y Heinzen, 2006). Estos compuestos serían responsables de varias de las actividades biológicas que presenta la “marcela” y que avalan sus principales usos medicinales como hepatoprotectora,

Figura 2- Perfiles obtenidos por CCD de varias poblaciones de inflorescencias de “marcela”



A. satureioides (arriba), *A. flaccida* (medio) y *G. gaudichaudianum* (abajo).

antioxidante, antiespasmódica, antiinflamatoria, miorrelajante, fotoprotectora y antibacteriana (Gut-kind y col., 1984; Langeloh, 1988; Oliveira Simões, 1988; Oliveira Simões y col., 1988; Kadarian y col., 2002; Hnatyszyn y col., 2004; Morquio y col., 2004; 2005). Así, se profundizó en el estudio de los flavonoides como parte de la caracterización química para el control de calidad.

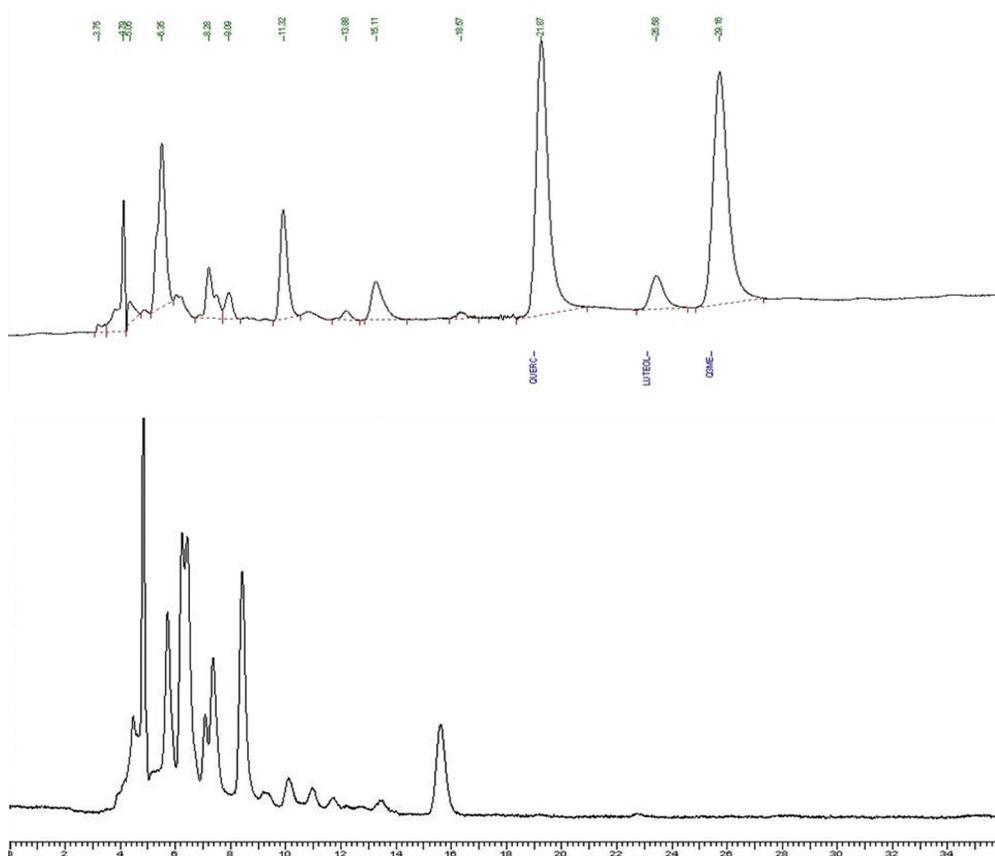
Se tomó como referencia la técnica analítica para la determinación de flavonoides (quercetina y luteolina) por cromatografía líquida de alta eficiencia-detector de arreglo de diodos (CLAE-DAD) en “marcela”, incluida en la Farmacopea Brasileira IV Ed. (2001). Sin embargo, la metodología extractiva no resultaba exhaustiva y, en consecuencia, se decidió optimizarla. La extracción de los flavonoides de interés de sus inflorescencias se favoreció con una extracción a reflujo con etanol 80 %, en lugar de acetato de etilo en Soxhlet.

Se propuso entonces una nueva metodología de extracción y se incluyó la cuantificación no solo de quercetina, sino también de Q3ME, que además de ser un compuesto mayoritario en la “marcela” es un compuesto activo (van Puyvelde y col., 1989; Dok-Go y col., 2003; Takeara y col., 2003; Rubio y col., 2006). La cuantificación de luteolina, indicada en la Farmacopea Brasileira se descartó porque se encuentra en muy baja concentración en las poblaciones de la Argentina (Retta y col., 2011a).

También se determinó el contenido de quercetina y Q3ME por CLAE-DAD en las distintas partes de la planta por separado (tallos, hojas e inflorescencias) y en materiales en distintos estadios fenológicos (pre-floración, floración y posfloración) con el método optimizado. Los objetivos de estas determinaciones fueron poder establecer la parte de la planta que debe ser usada con fines medicinales y evaluar posibles variaciones del contenido de activos con la fenología de la planta. Se encontró que *A. satureioides* presentó alto contenido de los flavonoides quercetina y Q3ME en sus inflorescencias y que estas concentraciones decaen abruptamente en los otros órganos vegetales (partes aéreas sin inflorescencias) (Figura 3).

Por otra parte, se demostró que el contenido de flavonoides en sus inflorescencias es mayor cuando la planta se encuentra en floración plena. Se observó además, que los perfiles cromatográficos obtenidos por CLAE presentaron algunas diferencias cualitativas según el estadio de floración del material (Retta y col., 2011a).

Para incluir el método analítico en una propuesta de norma farmacopeica, se realizó la validación del método optimizado que se empleó en el análisis por CLAE, según normas internacionales de referencia (ICH, 2005). Se evaluó especificidad, linealidad, exactitud, repetibilidad, precisión intermedia, y se calcularon los límites de cuantificación y detección de los compuestos marcadores. También se evaluó la

Figura 3- Perfil cromatográfico por CLAE de *A. satureioides*

Inflorescencias (arriba) y partes aéreas sin inflorescencias (abajo).

robustez de la metodología optimizada de extracción de flavonoides.

De los resultados obtenidos se concluyó que el método es idóneo, preciso y útil para la determinación de los flavonoides bajo estudio en muestras de “marcela” en las condiciones validadas. También se comprobó que el método propuesto para la extracción de los flavonoides de interés es robusto.

Por último, se analizaron varias poblaciones de *A. satureioides* recolectadas en las áreas más representativas de su distribución natural con la metodología validada. Este análisis tuvo como objetivos conocer el contenido promedio poblacional de los flavonoides de interés en las inflorescencias de esta especie en la Argentina y verificar si el perfil cromatográfico resultaba característico, independientemente de la zona de recolección.

El contenido promedio de quercetina y Q3ME en las inflorescencias de *A. satureioides* ($n = 20$) fue de $0,73 \pm 0,21$ y $0,64 \pm 0,28$ (% P/P), respectivamente. Estos valores resultaron mucho mayores que los requeridos por la Farmacopea Brasileira (2001).

También, se realizó la cuantificación de flavonoides por CLAE-DAD en las inflorescencias de las otras especies mencionadas como adulterantes usuales (*A. flaccida*, *G. gaudichaudianum*) y en una única muestra disponible de *A. brittoniana* Deble *et* Marchiori, con fines comparativos.

Se encontró que *A. flaccida* presentó un perfil cromatográfico similar al de *A. satureioides*. El contenido promedio poblacional de quercetina y Q3ME en esta especie ($n = 11$) fue de $1,12 \pm 0,33$ y $0,81 \pm 0,21$ (% P/P), respectivamente, mientras que las muestras de *G. gaudichaudianum* ($n = 7$),

se caracterizaron por presentar muy bajo contenido de quercetina ($0,11 \pm 0,03$ % P/P) y ausencia de Q3ME. En *Achyrocline brittoniana* se observó de manera preliminar, dado que solo se contó con una muestra, que presentó quercetina y Q3ME en sus inflorescencias en cantidades similares a *A. satureioides*, hecho que también se evidenció por CCD.

La Farmacopea Brasileira IV Ed. (2001) también incluye en la monografía de “marcela” la determinación de flavonoides totales –previa hidrólisis– por espectrofotometría UV/Vis, razón por la que se realizó esta determinación en algunas muestras de *A. satureioides*. En forma paralela se repitió el análisis pero variando el solvente de extracción. Se empleó etanol 80 % en lugar de acetona y se compararon los resultados obtenidos. Se encontró que con ese solvente de extracción se obtuvieron cantidades mayores de flavonoides totales. A partir de estos resultados se concluyó que la acetona no resulta eficiente para la extracción de los compuestos que se analizaron (Farmacopea Brasileira IV Ed., 2001), en cambio, sí lo es el etanol 80 %.

La “marcela” tiene un aroma intenso y característico, y un sabor amargo particular, uno de sus usos más importantes es el de saborizante en la industria de aperitivos. Esta especie además presenta un potencial

aromático interesante para la industria perfumística.

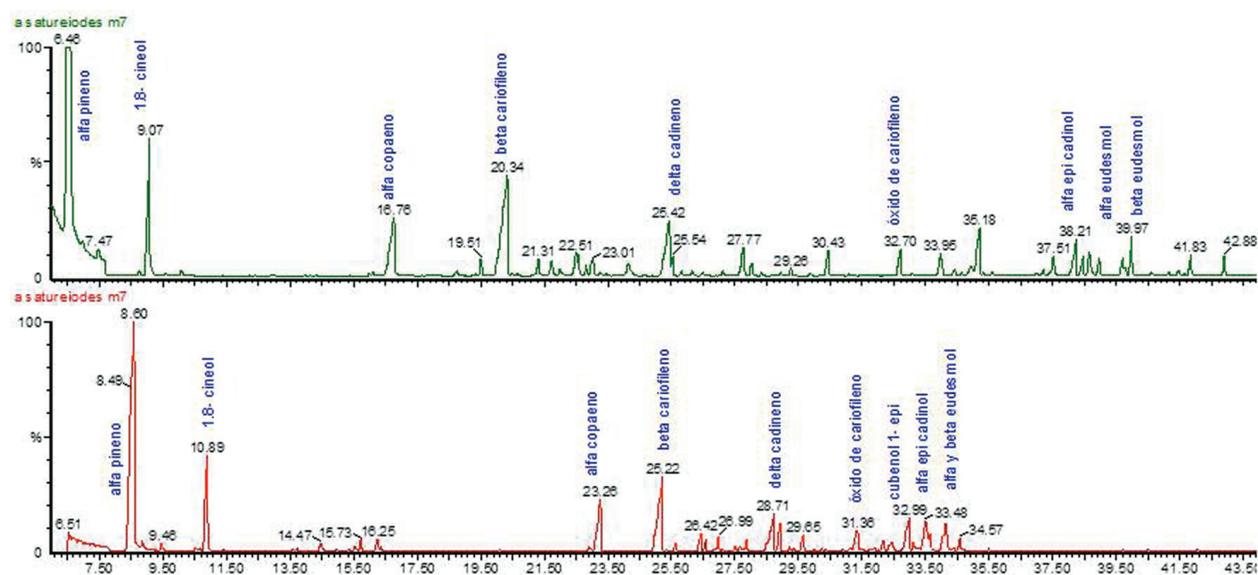
Para el estudio de la fracción volátil se realizó la determinación del rendimiento y composición cuali-cuantitativa del aceite esencial de *A. satureioides* por cromatografía gaseosa-detector de ionización de llama-espectrometría de masa (GC-FID-MS), obtenido a partir de las inflorescencias ($n = 6$) y de las partes aéreas florecidas ($n = 15$). Los objetivos de las determinaciones mencionadas fueron conocer el perfil cromatográfico de la fracción volátil y evaluar la composición química que caracteriza a esta especie en la Argentina.

Los resultados obtenidos del estudio de la composición química de todas las muestras analizadas fueron sometidos a un análisis estadístico multivariado. Se aplicó el análisis de los componentes principales (ACP) y el análisis por conglomerados mediante el uso del programa InfoStat (2008).

Los rendimientos de aceite esencial en muestras de inflorescencias de *A. satureioides*, calculados sobre droga seca, fueron de 0,1-0,4 % (V/P), y en muestras de partes aéreas, fueron de 0,2-0,3 % (V/P).

Las composiciones químicas de los aceites esenciales estudiados presentaron altas concentraciones de alfa-pineno y beta-cariofileno, tanto en las inflorescencias como en las partes aéreas en floración (Figura 4).

Figura 4-. Perfil cromatográfico por GC del aceite esencial de *A. satureioides*



Columna polar (arriba), columna no polar (abajo).

Según el análisis estadístico multivariado realizado sobre la matriz de los datos químicos obtenidos, las muestras se dividieron en dos grupos, tanto por ACP, como en el análisis por conglomerados. Estas agrupaciones se deben a diferencias en su composición química, particularmente en el contenido de alfa pineno. Las posibles causas de estas variaciones que generaron los agrupamientos no se lograron explicar por diferencias relacionadas con la procedencia del material vegetal o con la fecha de colecta; estos resultados se atribuyeron a otras variables no contempladas en este estudio.

También se analizaron por GC-FID-MS los aceites esenciales de las inflorescencias de *A. flaccida* y *G. gaudichaudianum*, con fines comparativos. No existían en la bibliografía datos informados hasta el momento, de manera que su estudio también constituyó una contribución a la caracterización química de estas especies (Retta y col., 2009; 2011b).

Los rendimientos de aceite esencial en muestras de inflorescencias de *A. flaccida*, calculados sobre droga seca, fueron de 0,1-0,8 % (V/P) (n = 11), y resultaron mayores que en *A. saturoioides*.

La composición química del aceite esencial de *A. flaccida* se caracterizó por presentar, como en *A. saturoioides*, altas concentraciones de alfa-pineno y beta-cariofileno. El perfil cromatográfico fue muy similar al obtenido con *A. saturoioides*. Según el análisis estadístico las muestras se agruparon en dos conjuntos bien definidos, nuevamente alfa-pineno fue el compuesto discriminante. En esta especie la agrupación podría presentar una correlación con los orígenes geográficos de las muestras estudiadas (Retta y col., 2009).

En el caso de *G. gaudichaudianum*, las muestras de inflorescencias (n = 4) presentaron valores de rendimiento de aceite esencial bajos, 0,1-0,2 % (V/P), calculados sobre droga seca. Los compuestos mayoritarios fueron, como en las otras dos especies estudiadas, alfa-pineno y beta-cariofileno. Estadísticamente se diferenció solo una de las muestras ensayadas, de origen comercial. Los compuestos que más contribuyeron en ese agrupamiento fueron óxido de cariofileno y espatulenol. El perfil cromatográfico presentó similitudes respecto a los obtenidos con las especies *A. saturoioides* y *A. flaccida*. Si bien las tres especies presentan el mismo aroma típico, estas características olfativas no se percibieron en el aceite esencial.

Con los valores promedio de los compuestos mayoritarios de las tres especies estudiadas, se realizó el análisis estadístico comparativo, empleando el análisis de conglomerados y el APC.

Los resultados obtenidos permitieron evidenciar que las muestras se agruparon siguiendo un comportamiento taxonómico. Además, según el análisis por APC, se demostró que los compuestos que contribuyeron a ese agrupamiento fueron los terpenos más pesados, que se encontraron en mayor proporción en *G. gaudichaudianum* (Figura 5).

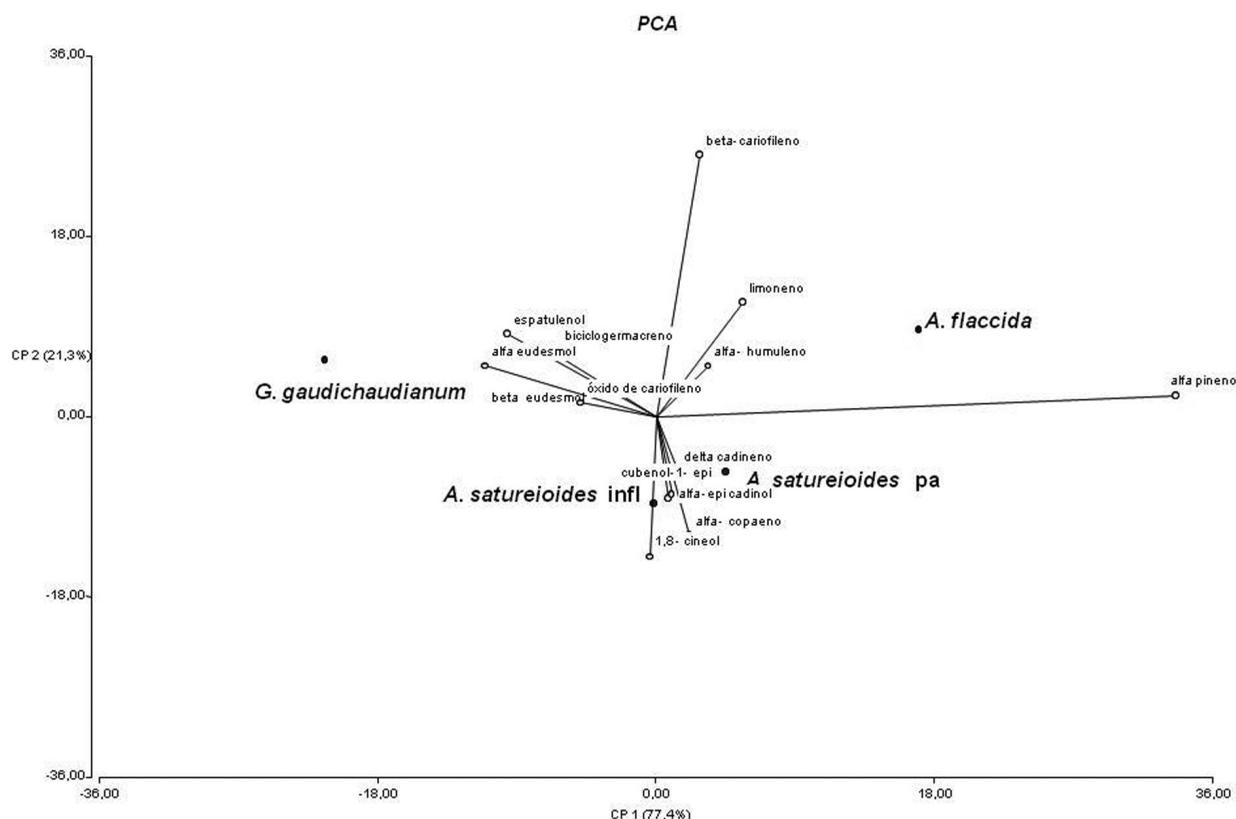
Con el objetivo de profundizar en el estudio de los compuestos responsables del aroma y el sabor de la especie *A. saturoioides* se realizaron análisis organolépticos. Se aislaron por microextracción en fase sólida (SPME) los compuestos volátiles de las inflorescencias y del extracto hexánico, y se analizaron por GC-FID-MS. Tanto las inflorescencias como el extracto hexánico de la “marcela” presentan aroma intenso, agradable, muy persistente y característico. Se eligió esta metodología porque resulta apropiada para la detección de compuestos de alta volatilidad, y que son los que, en general, contribuyen a definir el aroma de un producto o matriz determinada.

Los resultados obtenidos fueron similares para las inflorescencias y para el extracto hexánico obtenido de las inflorescencias, pero no lograron explicar los atributos sensoriales que se perciben olfativamente en la “marcela”, es decir, que no se pudieron identificar los compuestos que se relacionan con el perfil olfativo de la planta. Los perfiles cromatográficos de los volátiles analizados se encontraron, en ambos casos, enriquecidos en los terpenos más volátiles también característicos del aceite esencial de la especie, con diferencias cuantitativas entre las inflorescencias y el extracto hexánico.

Estos resultados indican que el aroma de la “marcela” podría estar dado por una mezcla de varios compuestos o, lo que es más probable, que esté dado por algún compuesto que se encuentre en mínima cantidad, incluso trazas y, por lo tanto, no detectado.

Con respecto al estudio de las características del sabor, se realizaron dos evaluaciones sensoriales con muestras de *A. saturoioides*, *A. flaccida* y *G. gaudichaudianum* con el fin de caracterizar el perfil palativo de cada especie, y encontrar posibles diferencias en sus atributos sensoriales. La primera de las evaluaciones estuvo a cargo de un panel de expertos en sabores de la industria alimentaria, que realizó la degustación de las muestras y describió

Figura 5-. Biplot obtenido por APC a partir del análisis comparativo de las esencias analizadas



los atributos sensoriales que, según su experiencia, mejor caracterizaban a cada una de las especies.

La segunda evaluación estuvo a cargo de profesionales especializados en estudios sensoriales y consistió en realizar ensayos de agrupamientos, ensayos de amargor y astringencia, con las tres especies. Los resultados obtenidos fueron luego analizados mediante técnicas estadísticas de escalamiento multidimensional, análisis de correspondencia y análisis de conglomerados, utilizando los programas SPSS (2006) e Infostat (2008).

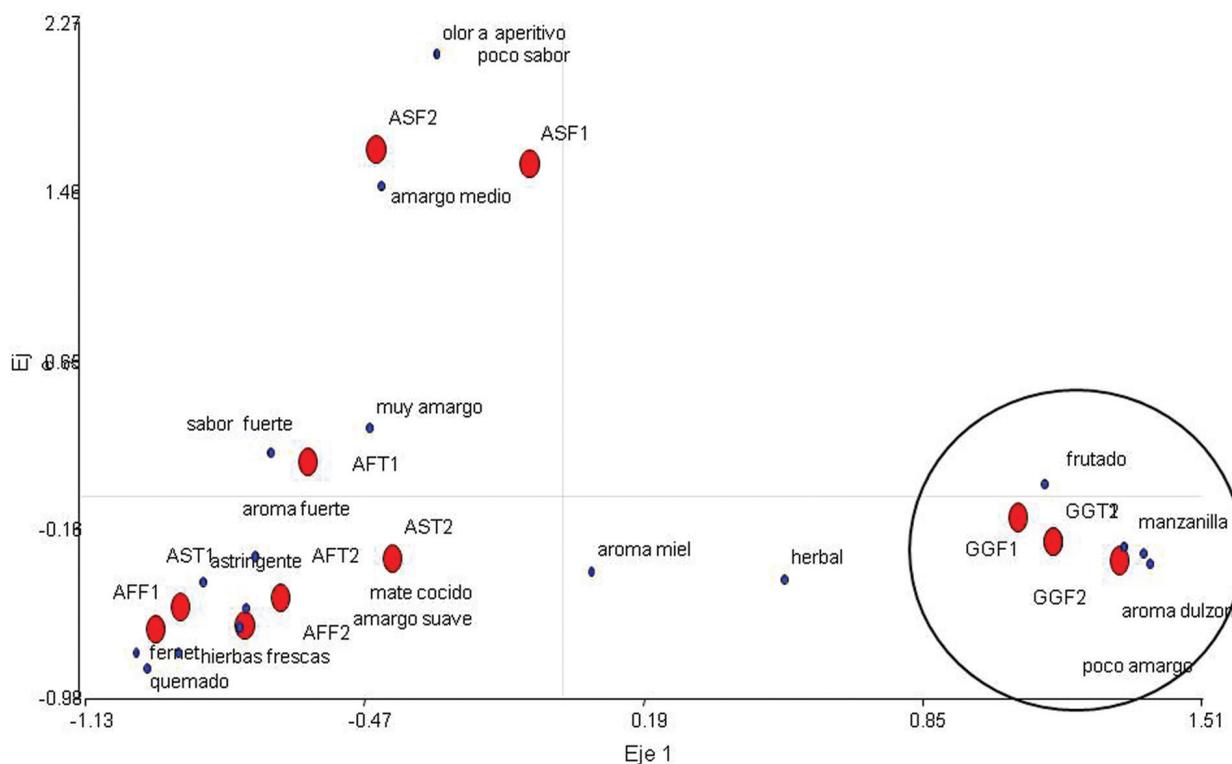
Según una primera evaluación, *A. flaccida* presentó mayor intensidad de amargor y astringencia que el resto, y *G. gaudichaudianum* presentó la menor intensidad de las tres. Además, se observó que si se emplean las partes aéreas florecidas se obtiene un extracto con una mayor intensidad de amargor y astringencia que si se emplean únicamente las inflorescencias. Estos resultados fueron coincidentes con los obtenidos en una segunda evaluación sensorial, en la que además, se establecieron agrupamientos por similitud entre las tres muestras evaluadas.

Estos agrupamientos permitieron diferenciar a la especie *G. gaudichaudianum*, tanto en la muestra obtenida a partir de partes aéreas florecidas como de las inflorescencias, en un grupo distinto a los otros por su perfil frutal, dulzón y menos amargo y astringente (Figura 6). Estas percepciones fueron además, correspondidas con los resultados obtenidos en el ensayo de amargor y astringencia, donde se encontraron valores menores para esta especie respecto del resto.

Para correlacionar los resultados del análisis sensorial con el contenido de compuestos hidroxifenólicos, se realizó su determinación por espectrofotometría UV en las tres especies.

Los resultados obtenidos demuestran que no se evidenció correlación entre las percepciones de amargor y astringencia y el contenido de fenoles totales. La especie *A. flaccida* resultó ser la más intensa de las tres; sin embargo, fue la especie *A. satureioides* (tanto en sus partes aéreas como en sus inflorescencias) la que presentó mayor contenido de compuestos polifenólicos. Por otra parte, no se encontraron

Figura 6- Análisis de correspondencia de los atributos sensoriales



A. satureioides (AS), *A. flaccida* (AF) y *G. gaudichaudianum* (GG).

diferencias significativas entre el contenido de fenoles entre *A. flaccida* y *G. gaudichaudianum*, mientras que sus perfiles sensoriales resultaron francamente diferentes. Estos resultados permiten inferir que las distintas percepciones de sabor e intensidad en estas especies no están solo relacionadas con el contenido de compuestos polifenólicos, sino también pueden estar condicionadas por el perfil aromático característico de cada especie.

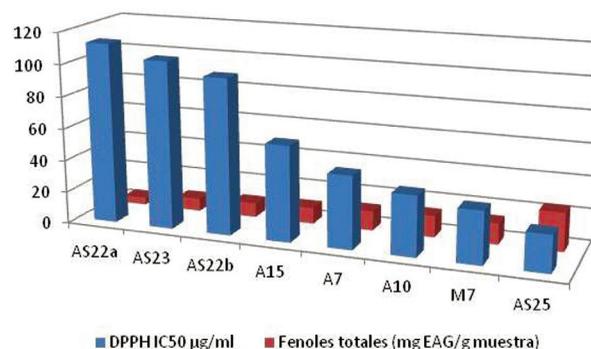
Finalmente, se aprovecharon las distintas fracciones obtenidas para evaluar la capacidad antioxidante (medida como el porcentaje de disminución de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) y el cálculo de la concentración inhibitoria del 50 % (IC₅₀) y su relación con el contenido de polifenoles en 8 muestras de *A. satureioides*, y, por último, la posible acción tripanocida, incluida como parte de la caracterización biológica y con fines comparativos entre *A. satureioides* y *A. flaccida*.

Mediante la evaluación de la capacidad antioxidante y la determinación del contenido de polifenoles en muestras de *A. satureioides*, se observó una amplia dispersión en los resultados obtenidos tanto en

la capacidad antioxidante (con valores de IC₅₀ desde 4,47 a 23,98 µg/ml) como en el contenido de fenoles (23,0 a 112,6 mg EAG –equivalente de ácido gálico– /g muestra). Se encontró que existe correlación entre ambas determinaciones en un amplio rango de concentración (Ferraro y col., 2008) (Figura 7).

Respecto a la posible acción tripanocida, no se observó efecto significativo en ninguna de las dos especies en las condiciones de trabajo empleadas.

Figura 7- Contenido de polifenoles totales e IC₅₀



Conclusiones

De acuerdo con los objetivos iniciales planteados para este trabajo, se lograron caracterizar química y sensorialmente las poblaciones de la especie *A. saturoioides* que se encuentran en la Argentina.

Se describieron los perfiles cromatográficos característicos de la especie por todas las metodologías empleadas (CCD, CLAE-DAD y GC-FID-MS).

Los resultados obtenidos por CLAE y espectrofotometría UV/Vis, permiten concluir que la parte de la planta con mayor contenido de flavonoides y polifenoles activos son las inflorescencias; por lo tanto, para usos medicinales se debería emplear únicamente esta parte de la planta. Las partes aéreas totales de la especie diluyen la droga vegetal. Esta conclusión es relevante, dado que el material comercializado actualmente como “marcela”, en general suele presentarse como partes aéreas con mínima cantidad (en peso) de inflorescencias.

Los resultados obtenidos por GC-FID-MS permiten concluir que las principales características aromáticas de *A. saturoioides* no se deben a su aceite esencial, sino a otros compuestos que podrían formar parte del resinoide y, que posiblemente se encuentren en trazas.

El aceite esencial de la “marcela” no mostró tener una característica que permitiera diferenciarla de las otras especies. Por otra parte, no se encontraron en la bibliografía bioactividades de importancia relacionadas con el aceite esencial que justifiquen su determinación. Su bajo contenido y la baja incidencia en su valor comercial—dado que sus propiedades aromáticas no se encuentran relacionadas con su contenido o composición— hacen que la determinación del contenido de aceite esencial en *A. saturoioides* no sea necesario como ensayo en el control de calidad farmacéutico de ese material.

Respecto a los ensayos sensoriales realizados con *A. saturoioides*, *A. flaccida* y *G. gaudichaudianum*, se concluye que sería preferible el empleo de las partes aéreas florecidas—en lugar de las inflorescencias únicamente— porque presentan atributos sensoriales más intensos. Sin embargo, las percepciones de sabor e intensidad en estas especies no estarían determinadas únicamente por el contenido de compuestos polifenólicos, sino que también estarían condicionadas al perfil aromático característico de cada especie (Retta y col., 2010b).

A partir del análisis de las otras dos especies estudiadas, *A. flaccida* y *G. gaudichaudianum*, se presume que *G. gaudichaudianum* es la que presentó diferencias más evidentes por todas las metodologías empleadas, e incluso presentó atributos sensoriales más alejados del resto. Estos resultados permiten presumir que la utilización de esta especie como materia prima saborizante o aromática no es equivalente a *A. saturoioides*; se considera entonces como un adulterante o contaminante no deseable. Por otra parte, tampoco sería válida su sustitución para usos medicinales porque esta especie no presenta los mismos compuestos activos que *A. saturoioides*.

Además, las diferencias entre *A. saturoioides* y *A. flaccida* resultaron menos evidentes, tanto en la fracción volátil como no volátil, pues ambas especies presentan los mismos compuestos marcadores y en similar concentración. Sensorialmente se encontraron leves diferencias. Sin embargo, el empleo de la especie *A. flaccida* como un sustituto válido de *A. saturoioides* estaría supeditado a otros estudios multidisciplinarios que permitan avalar esta situación desde otros puntos de vista, como el toxicológico o ecológico.

Los resultados obtenidos generan un aporte a la definición de especificaciones químicas de *A. saturoioides* de manera que garanticen tanto su identidad, eficacia y calidad y, además, contribuyen a asegurar su homogeneidad en el mercado local. Incluso estos resultados pueden ser tenidos en cuenta al momento de seleccionar los mejores materiales para los procesos de domesticación de esta especie vegetal.

Referencias bibliográficas

- De Souza, K.C.B.; Schapoval, E.E.S.; Bassani, V.L. (2002). “LC determination of flavonoids: separation of quercetin, luteolin and 3-O-methylquercetin in *Achyrocline saturoioides* preparations”. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 28: 771-777.
- Díaz, C.; Heinzen, H. (2006). “Variaciones en el perfil de flavonoides y en la cantidad de quercetina libre en diferentes extractos de *Achyrocline saturoioides*”. *Lat. Am. J. Pharmacy* 25: 574-757.
- Dok-Go, H.; Lee, K.H.; Kim, H.J.; Lee, E.H.; Lee, J.; Song, Y.S.; Lee, Y.H.; Jin, C.; Lee, Y.S.; Cho, J. (2003). “Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+)-dihydroquercetin

- and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*". *Brain Res.* 965: 130-136.
- Farmacopeia Brasileira (2001). 4ª Ed. Ateneu, Rio de Janeiro.
- Ferraro, G.; Anesini, C.; Ouviaña, A.; Retta, D.; Filip, R.; Gattuso, M.; Gattuso, S.; Hnatyszyn, O.; Bandoni, A. (2008). "Total phenolic content and antioxidant activity of extracts of *Achyrocline satureioides* flowers from different zones in Argentina". *Lat. Am. J. of Pharmacy* 27(4): 626-628.
- García, G.; Campos, R.; De Torres, R.; Broussalis, A.; Ferraro, G.; Martino, V.; Coussio, J. (1990). "Antiherpetic activity of some Argentine medicinal plants". *Fitoterapia* 61: 542-546.
- Gattuso, M.; Cortadi, A.; Rodríguez, M. V.; Mc Cargo, J.; Retta, D.; Bandoni, A.; Ferraro, G.; Gattuso, S. (2008). "Caracteres florales en la identificación de *Achyrocline satureioides*, *Achyrocline flaccida* y *Gnaphalium gaudichaudianum* (Asteraceae-Inuleae)". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 7(5): 247-256.
- Giangualani, R. (1976). "Las especies argentinas del género *Achyrocline* (Compositae)". *Darwiniana* 20: 549-576.
- Gutkind, G.; Norbedo, C.; Mollerach, M.; Ferraro, G.; Coussio, J.; De Torres, R. (1984). "Antibacterial activity of *Achyrocline flaccida*". *Journal of Ethnopharmacol.* 10: 319-321.
- Hnatyszyn, O.; Moscatelli, V.; Rondina, R.; Costa, M.; Arranz, C.; Balaszczuk, A.; Coussio, J.; Ferraro, G. (2004). "Flavonoids from *Achyrocline satureioides* with relaxant effects on the smooth muscle of Guinea pig *corpus cavernosum*". *Phytomedicine* 11: 366-369.
- ICH *Harmonised tripartite guideline* (2005). Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2 (R1).
- InfoStat (2008). *InfoStat, versión 2008*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Editorial Brujas, Córdoba.
- Kadarian, C.; Broussalis, A.; Miño, J.; López, P.; Gorzalczany, S.; Ferraro, G.; Acevedo, C. (2002). "Hepatoprotective activity of *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC". *Pharmacological Res.* 45: 57-61.
- Langeloh, A. (1988). "Atividade antiespasmódica do extrato alcoólico de marcela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC)". *Vittale* 3: 66.
- Morquio, A.; Ferreira, M.; Arredondo, F.; Blasina, F.; Echeverry, C.; Abin, J.A.; Dajas, F. (2004). "Estudio comparativo de compuestos polifenólicos, actividad citoprotectora y antioxidante en especies autóctonas del género *Achyrocline*". *Estudios de domesticación y cultivos de especies medicinales y aromáticas nativas*. INIA (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria) Serie FPTA-INIA 11.
- Morquio, A.; Rivera-Megret, F.; Dajas, F. (2005). "Photoprotection by topical application of *Achyrocline satureioides* ('marcela')". *Phytother. Res.* 9: 486-490.
- Oliveira Simões, C.M. (1988). "Antiinflammatory action of *Achyrocline satureioides* extracts applied topically". *Fitoterapia* 59: 419-421.
- Oliveira Simões, C.M.; Schenkel, E.; Bauer, L.; Langeloh, A. (1988). "Pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae." *Journal of Ethnopharmacol.* 22: 281-293.
- Ratera, E.; Ratera, M. (1980). *Plantas de la Flora Argentina empleadas en la medicina popular*. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 81.
- Retta, D.; Gattuso, M.; Gattuso, S.; Di Leo Lira, P.; van Baren, C.; Ferraro, G.; Bandoni, A. (2009). "Essential oil composition of *Achyrocline flaccida* (Weinm.) DC. (Asteraceae) from different locations of Argentina". *Biochemical Systematics and Ecology* 36: 877-881.
- Retta, D.; Fernández Penuto, R.; Correa, M.; Gattuso, M.; Gattuso, S.; Bandoni, A. (2010a). "Diferenciación de las especies *Achyrocline satureioides*, *A. flaccida* y *Gnaphalium gaudichaudianum* por sus perfiles cromatográficos". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 9(2): 93-99.
- Retta, D.; van Baren, C.; Bandoni, A.; Galmarini, M.; Zamora, M. (2010b). "Evaluación sensorial de tres especies de Marcela (*Achyrocline satureioides*) y su relación con el contenido de compuestos fenólicos". Resumen del VI Simposio Iberoamericano de Análisis sensorial, San Pablo, Brasil.
- Retta, D.; López, P.; Gattuso, M.; Gattuso, S.; Filip, R.; Ferraro, G.; Bandoni, A. (2011a). "Optimization and validation of the quantitative assay of flavonoids in *Achyrocline satureioides* and *A. flaccida*". *Lat. Am. J. Pharm.* 30(7): 1360-1365.

- Retta, D.; Di Leo Lira, P.; van Baren, C.; Bandoni, A. (2011b). "Análisis cuali-cuantitativo del aceite esencial de *Gnaphalium gaudichaudianum* DC. por GC-FID-MS". Resumen VI Simposio Brasileiro Oleos Esenciais, Campinas, Brasil.
- Rubio, S.; Quintana, J.; López, M.; Eiroa, J.; Triana, J.; Estévez, F. (2006). "Phenylbenzopyrones structure-activity studies identify betuletol derivatives as potential antitumoral agents." *Eur. J. Pharmacol.* 548: 9-20.
- Sonaglio, D.; Petrovick, P.; Bassani, V. (1986). "Padronizacao de extractos vegetais: extrato hidroalcoólico de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., Compositae (Marcela): Comparação entre cromatografia líquida de alta eficiencia e cromatografia em papel/ultravioleta". *Caderno de Farmácia* 2: 55-74.
- SPSS versión 15.0 (2006). Inc. Chicago, IL.
- Takeara, R.; Albuquerque, S.; Lopes, N.P.; Lopes, J.L.C. (2003). "Trypanocidal activity of *Lychnophora staavioides* Mart. (Vernonia, Asteraceae)". *Phytomedicine* 10: 490-493.
- Toursarkissian, M. (1980). *Plantas Medicinales de la Argentina*. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 25.
- van Puyvelde, L.; De Kimpe, N.; Costa, J.; Munyjabo, V.; Nyirankuliza, S.; Hakizamungu, E.; Schamp, N. (1989). "Isolation of flavonoids and a chalcone from *Helichrysum odoratissimum* and synthesis of helichrysetin". *J. Nat. Prod.* 52: 629-633.

Micromorfoanatomía de hoja de *Piper patulum* Bertol. (Piperaceae) colectadas en Samayac, Suchitepéquez, Guatemala

Luis E. Álvarez^{1*}, Carolina Rosales de Zea², Armando Cáceres¹

¹ Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Ciudad Universitaria zona 12, Guatemala, CP 01012.

² Jardín Botánico del Centro de Estudios Conservacionistas (CECON), zona 10, Guatemala, Guatemala, CP 01010.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: Condominio El Frutal 3, 13 Av. 13-48 zona 5 Villa Nueva, Guatemala. Correo electrónico: guichoguayo2@yahoo.com

Resumen

Estudios científicos sobre *P. patulum*, llevados a cabo en Guatemala, han dado resultados interesantes que podrían tener aplicación en la industria de cosméticos, condimentos, aromas y medicamentos. Por ese motivo, este estudio tuvo como finalidad contribuir en la búsqueda de variables anatómicas para el diagnóstico, y así poder elaborar descripciones y cartillas micrográficas que describan la especie con claridad, que sirvan para diferenciar una especie de otra, y evitar adulteraciones, debido a que existe una gran semejanza morfológica entre las especies del género *Piper*. En este estudio se detectaron dos caracteres diagnósticos para la lámina: tipos de tricomas y su distribución espacial, y tres para el pecíolo: forma en corte transversal, tipos de tricomas y su distribución espacial.

Micromorphoanatomy of Vegetative Organs from *Piper patulum* Bertol. (Piperaceae) Collected in Samayac, Suchitepéquez, Guatemala

Summary

Scientific studies on *P. patulum* conducted in Guatemala have shown interesting results that could have application in cosmetic, condiment, aromatic or medicament industry. For this reason, the aim of this study was to contribute in the search of microscopic diagnostic variables in order to elaborate descriptions and micrographic charts that clearly describe the morphology and help to differentiate among *Piper* species. Also, to avoid adulterations, since there are high morphological similarities among these species. Results showed two diagnostic characteristics: in the leaf blade, type of trichome and its spacial distribution. In the petiole, shape in transversal section, trichome type, and its spacial distribution.

Palabras clave: *Piper patulum* - micromorfología - micromorfoanatomía - Piperaceae. - Guatemala.

Key words: *Piper patulum* - micromorphology - micromorphoanatomy - Piperaceae - Guatemala.

Introducción

La distribución geográfica del género *Piper* es pantropical (Jaramillo y Manos, 2001). Se ha estimado que este género incluye más de 1.000 especies. En Guatemala se informó la presencia de más de 80 especies, que consiste en árboles o arbustos, algunas veces escandentes; otras veces, herbáceas, pero siempre tienen una base leñosa.

Las ramas generalmente son nodosas, las hojas son alternas, con frecuencia marcadamente asimétricas en la base, las inflorescencias en espigas, aunque algunas especies tienen flores pedunculadas, opuestas a las hojas (Standley y Steyermark, 1952).

Respecto a la taxonomía de *Piper* se han generado ciertas dificultades porque existe una alta semejanza morfológica entre las especies (Albiero, 2005a); incluso en nivel estructural, dado que *Piper* tiene muchas estructuras anatómicas similares. Álvarez (2012) realizó un estudio para determinar caracteres diagnósticos en niveles macroscópico y estructural de la lámina y el pecíolo de siete especies de *Piper*. Refiere que en la lámina, de los 33 caracteres evaluados, el 93,9 % fueron similares en las siete especies, mientras que en el pecíolo, de los 11 caracteres evaluados, fueron similares el 72,7 %. Estas similitudes fueron corroboradas con la literatura consultada (Dasgupta y Datta, 1980; Mohandas y Shah, 1982; Nascimento y Vilhena-Potiguara, 1999; Souza y col., 2004; Albiero y col., 2005a; 2006; Duarte y Siebenrock, 2010; Álvarez, 2012).

La semejanza entre las tres especies ocasiona dificultades en el momento de la comercialización para la industria, debido a que el grado de adulteración puede ser muy alto. En consecuencia, el estudio para encontrar variables estructurales que se puedan utilizar como caracteres diagnósticos en la identificación de cada especie con precisión, es relevante.

Cerca de 700 especies de este género tienen una amplia aplicación en la medicina tradicional y en la industria como condimento, alimento, fitofármaco y también como insecticida, dado que el género *Piper* tiene una amplia variedad química, con alto contenido de aceites esenciales de suma importancia (Silva y Machado, 1999).

P. patulum es una especie endémica que se ha estudiado en Guatemala; los estudios realizados permitieron la determinación de su potencial farmacológico. Cruz y col. (2005) demostraron que el aceite esencial de las hojas tiene actividad citotóxica,

contra nauplios de *Artemia salina* a una concentración de 0,5 mg/mL y actividad antibacteriana, contra *Mycobacterium smegmatis* y *Bacillus subtilis* a dosis de 100 µm/mL.

En Guatemala también se realizaron estudios de la química de las hojas de *P. patulum*. Las hojas contienen alcaloides, flavonoides, antraquinonas, saponinas, principios amargos, aceites volátiles y cumarinas (Cruz y col., 2008). El aceite esencial contiene alfa- y beta-pineno, alfa-terpineno, 1-metil-5-ciclohexano, delta-3-careno, alfa-terpinoleno, transanetol, beta-cariofileno, miristicina, alfa-humuleno, benzonitrilo, 1,6,10-dodecatrien-3-ol, biciclogermacreno, transazarona y beta-eudesmol (Cruz, 2005).

Orjala y col. (1993) demostraron que *P. aduncum* contiene compuestos, con actividad molusquicida y antibacteriana, mientras que Okunade y col. (1997) detectaron actividad contra hongos y bacterias patógenas para el hombre. Danelutte y col. (2003) señalaron que *P. crassinervium* contiene compuestos químicos importantes para combatir hongos patógenos (*Cladosporium cladosporioides* y *C. sphaerospermum*).

Germosen (2005) documentó que *P. auritum* tiene actividad hipotensora, espasmogénica, vasodilatadora periférica, antiséptica, hepatoprotectora, anestésico local, analgésico dental, parasimpatolítico, sedante, antihelmíntica y disolvente de cálculos biliares, entre otras.

En la industria fitofarmacéutica se destaca el caso de “kava-kava” (*P. methysticum*), que tiene propiedades eficaces para afecciones del sistema nervioso por varias causas de origen no sicótico, como ansiedad, tensión e insomnio (ESCOPE, 2003).

En estudios realizados por Cruz y col. en 2012 se llevó a cabo una caracterización química de los aceites esenciales y extractos de 16 especies de *Piper* en los que se encontraron compuestos de interés farmacológico. Entre las más importantes se puede mencionar a *P. Jacquemontianum*, colectada en Alta Verapaz, que contiene linalol como mayoritario (70,8 %), que no solo es un constituyente de importancia en la industria de la perfumería, sino que además, tiene actividad citotóxica y antimicrobiana.

Cruz y col. (2012) realizaron un estudio para determinar la diversidad química de los aceites esenciales de 15 especies de *Piper* en Guatemala; se obtuvieron al menos 13 compuestos en el aceite esencial de *P. patulum*; los compuestos mayoritarios fueron: 1,3,5-trimetoxi-2-propenilbencenhumuleno (33,7 %),

metileugenol (24,7 %), beta-cariofileno (16,2 %), biciclogermacreno (7,3 %), beta-pineno (3,8 %); (*Z*)-metiliso Eugenol (3,3 %) y alfa-pineno (3,2 %). Los extractos diclorometánico y metanólico demostraron actividad antioxidante moderada (Cáceres y col., 2012).

Materiales

Material vegetal

Todo el material que se utilizó para este estudio fue procesado en fresco. Las hojas de *P. patulum* fueron colectadas en la Ecoparcela El Kakawatal, Samayac, Suchitupéquez (14°33'05,8" N y 091°27'58,9" O), en el año 2010.

La identificación botánica fue realizada por Luis E. Álvarez, y los ejemplares están depositados en el Herbario CFEH, con el N°. de Herbario 1074.

Métodos

Los estudios morfoanatómicos se realizaron en material fresco, conservado en bolsas Ziploc®, un día después de la recolección. Se colectaron cinco hojas al azar de cinco especímenes de *P. patulum*.

Los cortes transversales (CT) en lámina foliar y pecíolo fueron hechos a mano alzada. Las hojas se semidiafanizaron; para la arquitectura foliar se utilizó la terminología propuesta por Hickey (1973). El

material, las láminas y los pecíolos se disociaron a fin de determinar las características celulares (Gattuso y Gattuso, 1999).

El material obtenido por las tres técnicas fue teñido con safranina al 1 % y montado con gelatina-glicerina en portaobjetos, identificados claramente.

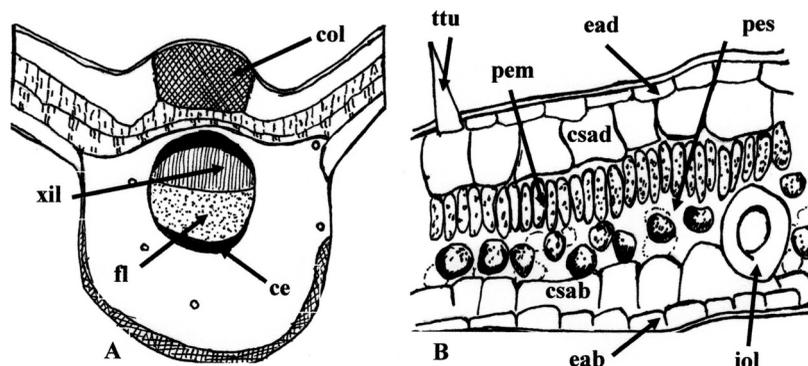
Los caracteres morfológicos de la lámina y del pecíolo fueron observados, medidos, descriptos e ilustrados en cartillas micrográficas. Para las mediciones de las variables cuantitativas se utilizó un ocular micrométrico y un micrómetro objetivo. En algunas ilustraciones se utilizaron los símbolos de Metcalfe y Chalk (1950; 1957).

Resultados

Corte transversal de la lámina.

La epidermis adaxial es uniestratificada y está constituida por células cúbicas, con márgenes rectilíneos y con una cutícula delgada. La epidermis abaxial, uniestratificada, es más delgada que la de la epidermis adaxial, y está constituida por células cúbicas levemente onduladas y una cutícula de grosor similar a la de la epidermis adaxial. La subepidermis está formada por células cúbicas, es uniestratificada en ambos lados de la lámina. En la región cercana a la vena central la capa consta de 1-2 estratos, la epidermis presenta un aspecto conspicuamente ondulado y sus células son más pequeñas que en el resto de la lámina (Figura 1, A).

Figura 1.- Transcorte de la lámina de la hoja de *Piper patulum*



A: corte transversal de la región de la vena central; B: corte transversal de la lámina (col: colénquima; ce: capa esclerenquimática; xil: xilema; fl: floema; ead: epidermis adaxial; eab: epidermis abaxial; csad: capa subepidérmica adaxial; csab: capa subepidérmica abaxial; pem: parénquima en empalizada; pes: parénquima esponjoso; iol: idioblastos oleíferos; ttu: tricoma tector unicelular corto).

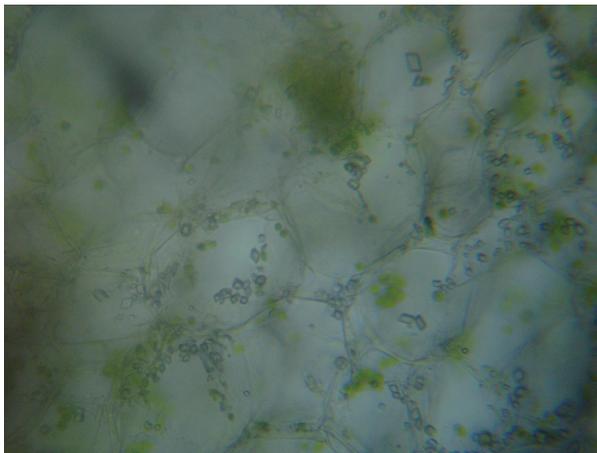
En la región del nervio medio se observan 9-10 capas de espesor de colénquima angular hacia la región adaxial y 2-3 capas en la abaxial. La presencia de colénquima origina una protuberancia bastante pronunciada en la cara adaxial de la lámina foliar. El haz vascular es tipo colateral. La vaina de esclerenquima que envuelve a la vena central es discontinua (Figura 1, A).

El mesófilo es dorsiventral, delgado. El parénquima en empalizada es uniestratificado, formado por células largas, delgadas, de rectilíneas a escasamente onduladas. Las células isodiamétricas que conforman el parénquima esponjoso están formadas por 1-2 capas (Figura 1, B).

Las células de contenido lipofílico son muy escasas, a veces ausentes, en el mesófilo y en el parénquima que envuelve a la vena central (Figuras 1, A y 1, B).

En el mesófilo de la hoja se observan pequeños cristales de oxalato de calcio de formas rómbicas, cúbicas y prismáticas (Figura 2).

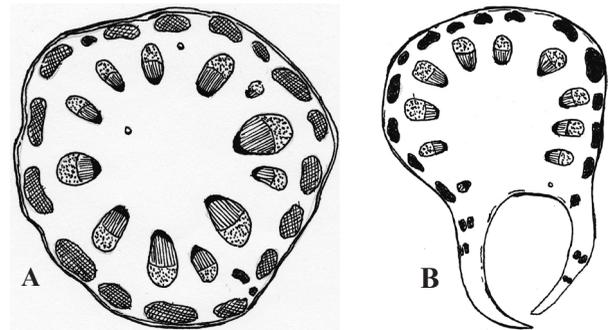
Figura 2.- Monocristales de oxalato de calcio en la lámina de la hoja de *Piper patulum*



Corte transversal del pecíolo

El pecíolo tiene una forma casi elíptica con una leve prominencia en la región adaxial, desde donde se une con la lámina hasta su parte media (Figura 3, A). Por debajo de la parte media hasta su base, el pecíolo tiene forma circular, con dos grandes proyecciones laterales. No tiene ondulaciones o acanaladuras (Figura 3, B).

Figura 3.- Transcorte del pecíolo de la hoja de *Piper patulum*



A: corte transversal de la región media del pecíolo; **B:** corte transversal de la región basal del pecíolo.

La epidermis es uniestratificada, glabra, conformada por células cúbicas. Debajo de la epidermis hay una capa subepidérmica uniestrata, delgada. Los haces son colaterales y están organizados en forma concéntrica. Se observa una capa esclerenquimática conspicua y discontinua que los circunscribe. Orientado hacia ambas epidermis se observa una capa subepidérmica discontinua de colénquima angular de 5-7 estratos. En el parénquima fundamental son abundantes los monocristales prismáticos de formas cúbicas y rómbicas de oxalato de calcio y, además, la presencia muy escasa de células de contenido lipofílico. El pecíolo también tiene una capa de parénquima clorofiliano cercano a la hipodermis y debajo del colénquima.

En el pecíolo también se observan abundantes monocristales de oxalato de calcio de formas rómbicas, cúbicas y prismáticas en la región parenquimática (Figura 4).

Figura 4.- Monocristales de oxalato de calcio en el pecíolo de *Piper patulum*

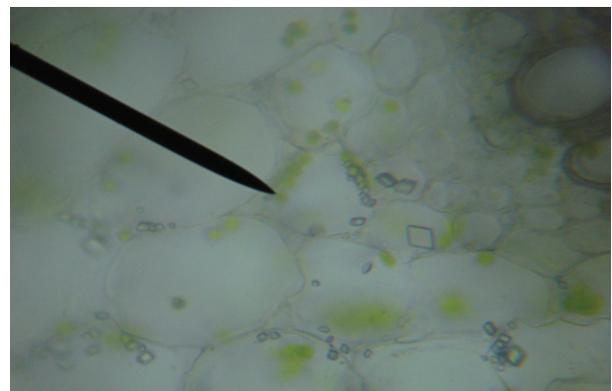


Lámina en vista superficial

Arquitectura foliar

El tipo de venación es camptódroma-broquidódroma; es decir, las hojas son de venación pinnada, formada por 3-4 pares de nervios secundarios que nacen de una nervadura principal. La vena central es prominente y se angosta hacia el ápice. Las venas secundarias se disponen en forma alterna; aunque hay algunas hojas donde se observa que las venas secundarias más internas son opuestas y se van arqueando gradualmente; solo el par más interno llega hasta el ápice. De las venas secundarias se irradian venas terciarias perpendiculares. Las venas terciarias se subdividen en venas cuaternarias, que forman areolas pentagonales con vénulas que se ramifican de 3-4 veces (Figura 5).

Figura 5.- Venación de la lámina de *Piper patulum*



Epidermis

Las células de la epidermis adaxial son poligonales y de paredes anticlinales rectas a levemente onduladas (Figura 6, A). Próximas al nervio medio, las células son poligonales, alargadas y con márgenes pronunciadamente rectilíneos (Figura 6, B).

En la epidermis adaxial se observa un único tipo de tricoma: simple unicelular corto, recto, cónico, ápice agudo y de 13,0-90,0 ($51,2 \pm 18,5$) μm de largo. Este tipo de tricoma está presente en toda la superficie de la lámina, aunque es más abundante en el margen y entre las venas. En las hojas jóvenes la densidad es mayor (Figuras 6, A y 7).

Las células epidérmicas de la región abaxial tienen formas y tamaños variados, con paredes anticlinales onduladas. El mesófilo de *P. patulum* es hipoestomático. La epidermis abaxial presenta

Figura 6.- Epidermis adaxial de lámina de *Piper patulum*

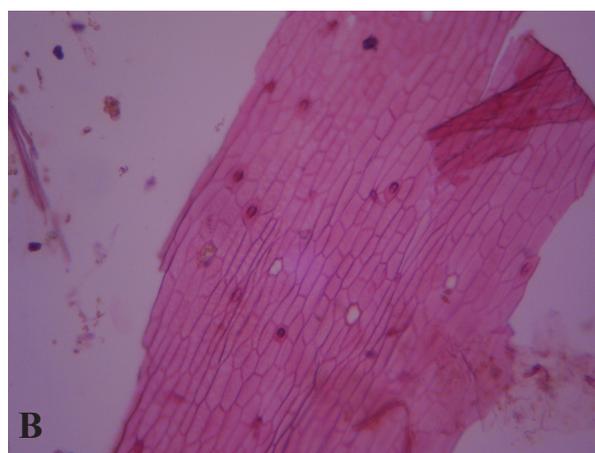
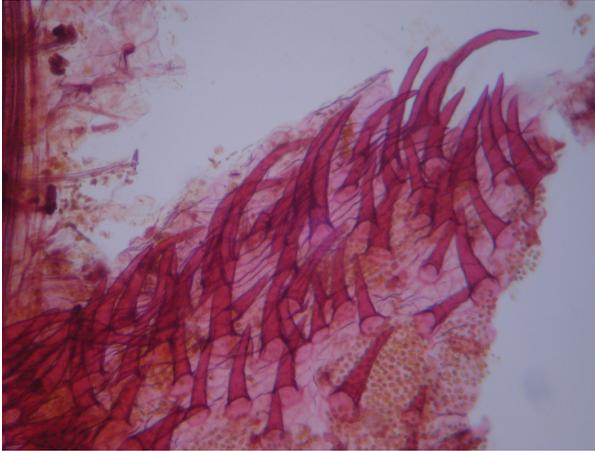


Figura 7.- Tricomas tectores unicelulares en epidermis adaxial de lámina de *Piper patulum*



estomas de tipo tetracíticos y algunos ciclocíticos, aunque en menor cantidad por área. En la epidermis abaxial se observa un único tipo de tricoma: tricomas glandulares, presentes en toda la superficie; los tricomas miden de 30,7-33,3 ($31,5 \pm 1,2$) μm de largo, formados por un pie y una porción secretora unicelular de forma ovoide o reniforme e inserto entre células epidérmicas dispuestas en roseta, cuyo número varía de 5-6 (Figura 8).

Figura 8.- Región abaxial de la lámina de *Piper patulum*



Discusión

La lámina de *P. patulum* tiene muchos caracteres en común con otras especies del género *Piper*, como epidermis adaxial y abaxial uniestratificadas, una capa subepidérmica, una capa de colénquima de tipo angular en la región de la vena central, haces vasculares de tipo colateral que están rodeados por una capa esclerenquimática discontinua, presencia de células lipofílicas, lámina dorsiventral y bifacial, y abundantes cristales de oxalato de calcio.

La lámina y el pecíolo de *P. patulum* presentan cristales rómbicos, cúbicos y prismáticos, aunque este tipo es poco común ya que se encontró únicamente en cinco de las quince especies del género *Piper* citadas en este trabajo (Álvarez, 2012; Dasgupta y Datta, 1980; Vianna y Akisue, 1997; Nascimento y Vilhena-Potiguara, 1999; Pessini y col., 2003; Souza y col., 2004; Albiero y col., 2005a; Albiero y col., 2005b; Duarte y Siebenrock, 2010); se exceptúan los cristales arenosos y cristalinos de formas variadas que Metcalfe y Chalk (1950) encontraron en *P. betle* L. y los dos tipos encontrados en *P. amalago* que son cristales granulados de sílice según Gobbi (2003) o bien cristales en forma de drusas según Solereder (1908). El tipo más común de cristales encontrados en el género *Piper* son los rafidios.

El mesófilo de la lámina es hipostomático, donde los estomas predominantes son tetracíticos y son escasos los ciclocíticos. El mismo patrón se observó en otras especies nativas, como *P. amalago* y *P. auritum* (Álvarez, 2012), pero también en *P. hispidinervium* que además del patrón en mención, presenta estomas anisocíticos aunque escasos (Souza y col., 2004). Otros patrones han sido observados para especies nativas, como *P. hispidum* donde los tetracíticos son predominantes y los escasos son los anisocíticos (Álvarez, 2012). Las características del tejido dérmico del pecíolo de *P. patulum* son muy similares a las de la lámina.

La lámina de *P. patulum* presenta dos tipos de tricoma: a) tricomas tectores unicelulares cortos presentes únicamente en la región adaxial, distribuidos en toda la superficie de la lámina y muy abundantes en la región del margen, y b) tricomas glandulares pedunculados, con una porción secretora unicelular de forma ovoide o reniforme, presentes únicamente en la región abaxial y distribuidos en toda su superficie.

Los tricomas unicelulares cortos también son un rasgo en común para las especies nativas. Álvarez (2012) encontró esos tricomas en *P. amalago*, *P. auritum*, *P. hispidum*, *P. oradendron* y *P. umbellatum*. Pero también en otros trabajos se informa este tipo de tricoma, como en *P. aduncum* (Dousseau y col., 2014), *P. gaudichaudianum* (Albiero y col., 2005b), entre otros.

Aunque los tricomas tectores unicelulares cortos y glandulares con ápice ovoide o reniforme se presentan en otras especies del género *Piper*, sus patrones de distribución en la lámina varían de una especie a otra, por lo que este carácter puede ser útil para diferenciar morfológicamente entre especies, al menos las estudiadas en Guatemala y de las revisadas en la literatura.

Los tricomas glandulares con ápice ovoide o reniforme se presentan en otras especies del género *Piper*. Álvarez (2012) encontró que todas las especies estudiadas en Guatemala a la fecha, presentan estos tricomas (*P. auritum*, *P. amalago*, *P. hispidum*, *P. oradendron*, *P. umbellatum* y *P. jacquemontianum*). En especies de otros países también se observó este tipo de tricoma para *P. mikanianum* (Duarte y Siebenrock, 2010), *P. gaudichaudianum* (Albiero y col., 2005b) y *P. crassinervium* (Albiero y col., 2005a).

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Ecoparcela El Kakawatal por permitir realizar las colectas del material botánico; al Laboratorio de Productos Naturales Farmaya por permitirnos identificar e ingresar las muestras botánicas para esta investigación; al Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT) y al Departamento de Botánica, Recursos Naturales Renovables y Conservación de la Escuela de Biología, de la Facultad de Ciencias Químicas de la USAC por habernos proporcionado equipo y reactivos para la parte experimental; y a los proyectos FODECYT 17-2009 y 27-2011 del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT) que contribuyeron con algunos insumos para generar la información.

Referencias bibliográficas

- Albiero, A.L. M.; Paoli, A.A.S.; Souza, L.A.; Mourão, K.S.M. (2005a). "Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Piper crassinervium* HBK (Piperaceae)". *Acta Botânica Brasilica* 19: 305-312.
- Albiero, A.L.M.; Souza, L.A.; Mourão, K.S.M.; de Almeida, O.J.G.; Lopes, W.A.L. (2005b). "Morfo-anatomia do caule e da folha de *Piper gaudichaudianum* Kuntze (Piperaceae)". *Acta Farmacêutica Bonaerense* 24: 550-554.
- Albiero, A.L.M.; Paoli, A.A.S.; Souza, L.A.; Mourão, K.S.M. (2006). "Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Piper hispidum* Sw. (Piperaceae)". *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 16: 379-391.
- Álvarez, L.E. (2012). Establecimiento de los patrones de identidad farmacobotánico de siete especies del género *Piper* (Piperaceae) del banco de germoplasma de la Ecoparcela el Kakawatal, Samayac, Suchitepéquez. (Tesis de Licenciatura, Biología). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia USAC. Guatemala. 131 pp.
- Cáceres, A.; Cruz, S.M.; Gaitán, I.; Guerrero, K.; Álvarez, L.E.; Marroquín, M.N. (2012). "Antioxidant activity and quantitative composition of extracts of *Piper* species from Guatemala with potential use in natural product industry". *Acta Horticulturae* 964: 77-84.
- Cruz, S.M.; Véliz, F.R.; Samayoa, M.C.; Cáceres, A.; Gaitán, I.; Molina, R.; Álvarez, L. (2005) "Caracterización de aceites esenciales y evaluación de la actividad biocida de cinco especies nativas de Piperaceae". *Tikalía* 23(2): 51-67.
- Cruz, S.M.; Véliz, R.; Gómez, A.; Álvarez, L.; Cáceres, A.; Morales, J.; Apel, M.; Henriques, A. (2008). "Caracterización química de los aceites esenciales y extractos de especies mesoamericanas del género *Piper* como nuevos recursos aromáticos". *Revista Científica* 4(1): 25-29.
- Cruz, S.M.; Cáceres, A.; Álvarez, L.E.; Apel, M.A.; Henriques, A.T. (2012). "Chemical diversity of Essentials oils of 15 *Piper* species from Guatemala". *Acta Hortícola* 964: 39-46.
- Danelutte, A.P.; Lago, J.H.; Young, M.C.; Kato, M.J. (2003). "Antifungal flavanones and prenylated hydroquinones from *Piper crassinervium* Kunth". *Phytochemistry* 64: 555-559.
- Dasgupta, A.; Datta, P.C. (1980). "Medicinal Species

- of *Piper*, Pharmacognostic Delimitation”. *Quarterly Journal of Crude Drug Research* 18: 17-25.
- Dousseau, S.; De Souza, I.; De Castro, E.; De Alvarenga, A.A.; Alves, E.; Pereira J.E.B, y col. (2014). “Caracterización del limbo de *Piper aduncum* L. (Piperaceae): Análisis estructurales, histoquímicos y de sus aceites esenciales”. *Gayana Botánica* 71(1): 147-162.
- Duarte, M.; Siebenrock, M.C.N. (2010). “Caracteres anatómicos de folha e caule de *Piper mikanianum* (Kunth) Steud., Piperaceae”. *Latin American Journal of Pharmacy* 29: 45-51.
- European Scientific Cooperative on Phytotherapy. (2003). *Monographs: The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Plants* (2^a. ed.). Exeter: ESCOP
- Gattuso, M.; Gattuso, S.J. (1999). *Manual de procedimientos para el análisis de drogas en polvo*. Argentina: Cooperación Iberoamericana de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo - Editorial de la Universidad Nacional de Rosario: 46 pp.
- Germósen, R.L. (2005). *Farmacopea vegetal caribeña* (2^a ed.). León, Nicaragua: Editorial Universitaria UNAN. 486 pp.
- Gobbi, A.P. (2003). *Morfo-anatomia comparativa da folha de três espécies da família Piperaceae*. Maringá, Brasil: Monografia - Universidade Estadual de Maringá.
- Hickey, L.J. (1973). “Classification of the architecture of dicotyledonous leaves”. *American Journal of Botany* 60(1): 17-33.
- Jaramillo, M.; Manos, P. (2001). “Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae)”. *American Journal of Botany* 88: 706-716.
- Metcalf, C.R.; Chalk, L. (1950). *Anatomy of the Dicotyledons* (Vol. 2). Oxford: Clarendon Press. 1500 pp.
- Metcalf, C.R.; Chalk, L. (1957). *Anatomy of the Dicotyledons – leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Oxford Clarendon Press. 1500 pp.
- Mohandas, K.K.; Shah, G.L. (1982). “Structure and ontogeny of trichomes in some Piperaceae”. *Acta Botanica Indica* 10: 92-95.
- Nascimento, M.E.; Vilhena-Potiguara, R.C. (1999). “Aspectos anatômicos dos órgãos vegetativos de *Piper hispidinervium* C. DC. (Piperaceae) e suas estruturas secretoras”. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, série Botânica* 15: 39-104.
- Okunade, A.L.; Hufford, C.D.; Clark, A.M.; Lentz, D. (1997). “Antimicrobial properties of the constituents of *Piper aduncum*”. *Phytotherapy Research* 2: 142-144.
- Orjala, J.; Erdelmeier, C.A.J.; Wright, A.D.; Rali, T.; Sticher, O. (1993). “Five new prenylated p-hydroxybenzoic acid derivatives with antimicrobial and molluscicidal activity from *Piper aduncum* leaves”. *Planta Medica* 59: 546-551.
- Pessini, G.L.; Albiero, A.L.M.; Mourão, K.S.M.; Nakamura, C.V.; Dias Filho, B.P.; Cortez, D.A.G. (2003). “Análise farmacognóstica de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *Pallescens* (C. DC.) Yunck: Aspectos botânicos e enfoque físico-químico preliminar”. *Latin American Journal of Pharmacy* 22(3): 209-216.
- Silva, E.M.J.; Machado, S.R. (1999). “Estrutura e desenvolvimento dos tricomas secretores em folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *Regnellii* (Piperaceae)”. *Revista Brasileira de Botânica* 22: 117-124.
- Solereder, M. (1908). *Systematic Anatomy of the dicotyledons*. Oxford, Clarendon Press.
- Souza, L.A.; Moscheta, I.S.; Oliveira, J.H.G. (2004). “Morfología y anatomía comparativa de la hoja y tallo de *Peperomia dahlstedtii* C. DC., *Ottonia martiana* Miq. y *Piper diospyrifolium* Kunth”. (Piperaceae). *Gayana Botánica* 61(1): 6-17.
- Standley, P.C.; Steyermark, J.A. (1952). “Flora of Guatemala”. *Fieldiana: Botany* 24(3): 275-337.
- Vianna, W.O., Akisue, G. (1997). “Caracterização morfológica de *Piper aduncum* L.” *Lectia* 15: 141-62.

Estudios anatómicos y análisis fitoquímicos preliminares de Monocotiledóneas hidrófitas en “mallines” de la estepa patagónica

Elizabeth A. Barrientos*, Mabel S. Feijóo, Roxana B. Peneff, Evangelina Laztra,
Adriana C. Gratti

Facultad Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Km 4. (9000) Comodoro Rivadavia, Chubut, República Argentina.

*Autor a quien dirigir la correspondencia: elizaba@unpata.edu.ar

Resumen

Los “mallines”, alumbramientos de agua, constituyen el principal recurso productivo de la Patagonia árida. En este trabajo se describen las características anatómicas y fitoquímicas de las especies más abundantes: *Eleocharis pseudoalbibracteata* S. González & Guagl. (Cyperaceae), con status de endémica; *Juncus balticus* Willd. subsp. *mexicanus* (Willd. ex Roem. & Schult.) Snogerup (Juncaceae), ambas forrajeras de alta calidad; y *Schoenoplectus californicus* (C. A. Mey.) Soják var. *californicus* (Cyperaceae), especie nativa no forrajera. Los sitios de muestreo se ubican en el Dpto. Escalante, al SE de la provincia de Chubut. Se realizaron estudios anatómicos, sobre material fresco y conservado en FAA, utilizando técnicas tradicionales, registro de imágenes con MO y mediciones con *software* específico. Se caracterizaron parámetros de tamaño, ACE, CMSC y dureza. El *screening* fitoquímico se realizó según técnicas convencionales. Se determinaron diferencias anatómicas con relación a: forma en la sección transversal del tallo aéreo, número de haces vasculares y presencia/ausencia de espacios aeríferos y de esclerénquima subepidérmico. La ausencia de estos caracteres en *J. balticus* es compensada por una abundante médula asteriforme diafragmática y por mayor proporción de fibras vasculares, respectivamente. Las características comunes fueron: la anatomía caulinar C₃, con presencia de dos vainas vasculares, interna de fibras y externa parenquimática, y el clorénquima en empalizada u homogéneo. El CMSC fue significativamente mayor en *J. balticus*. El TC y la dureza en *E. pseudoalbibracteata* fueron significativamente menores. En epidermis de *S. californicus* se detectaron mucílago. Los análisis fitoquímicos evidenciaron la presencia de polifenoles, taninos y flavonoides. En *E. pseudoalbibracteata* no se detectaron cumarinas, mientras que las saponinas solo se detectaron en *J. balticus*. Los resultados del análisis significan un aporte al conocimiento de metabolitos secundarios en las especies de monocotiledóneas evaluadas.

Anatomical Study and Preliminary Phytochemical Analysis of Aquatic Monocots in “Meadows” of the Patagonian Steppe

Summary

The “meadows”, water births, constitute the primary productive resource in arid Patagonia. This work describes the anatomical and phytochemical characteristics of the most abundant species: *Eleocharis*

Palabras clave: Cyperaceae - Juncaceae - Patagonia.

Key words: Cyperaceae - Juncaceae - Patagonia.

pseudoalbibracteata S. González & Guagl. (Cyperaceae), with endemic status; *Juncus balticus* Willd. subsp. *mexicanus* (Willd. ex Roem. & Schult.) Snogerup (Juncaceae), both high quality forage; and *Schoenoplectus californicus* (C. A. Mey.) Var Sojak. *californicus* (Cyperaceae), non-forage native species. The sampling sites are located in the Escalante Department, to the southwest of Chubut Province. Anatomical studies were performed on fresh and FAA preserved material, using traditional techniques, image registration with MO, and measurement with specific software. Parameters of Caulinar Size, Caulinar Specific Area, Caulinar Dry Matter Content, and Hardness were characterized. Phytochemical screening was performed by conventional techniques. Anatomical differences were determined in relation to: shape in cross section of the aerial stem, number of vascular bundles, and presence/absence of air spaces and subepidermic sclerenchyma. The absence of these characters in *J. balticus* is offset by an abundant star shape diaphragmatic pith and higher proportion of vascular fibers, respectively. Common characteristics were: C₃ stem anatomy, with presence of two vascular sheaths, inner of fibers and outer parenchymatic, and palisade or homogeneous chlorenchyma. CDMC was significantly higher in *J. balticus*, CS, and Hardness in *E. pseudoalbibracteata* were significantly lower. Mucilages were detected in *S. californicus* epidermis. Phytochemical analysis showed the presence of polyphenols, tannins, and flavonoids. Coumarins were not detected in *E. pseudoalbibracteata*; while saponins were only detected in *J. balticus*. The results of this analysis constitute a contribution to the knowledge of secondary metabolites in the evaluated monocot species.

Introducción

Los ambientes de mallín constituyen el recurso productivo más importante de la estepa patagónica (Paz y Bufoni, 1986; Cassola, 1988; Solmo y Siffredi, 1993); sobre ellos se desarrollan las principales actividades económicas de la región, la ganadería ovina y la explotación petrolera. El desarrollo de estas actividades promovió cambios en la vegetación, que derivó en la reducción de la cobertura vegetal y, además, el reemplazo de especies, con la intrusión de plantas con mayores defensas físicas y químicas (Bertiller y col., 1995; Bertiller y Bisigato, 1998).

Las características morfológicas vegetales reflejan adaptaciones de las plantas a determinados ambientes. Los grupos de especies que comparten estas características constituyen grupos morfofuncionales.

En relación con los atributos químicos, las plantas presentan una gran diversidad de compuestos secundarios, en respuesta a la imposibilidad de huida frente a las agresiones (Harborne, 1993; Cheeke, 1995). Debido al elevado coste energético que implica su síntesis, las plantas encauzan su metabolismo hacia un tipo u otro de compuesto secundario de acuerdo con los recursos disponibles (Bryant y col., 1992).

El objetivo de este trabajo es realizar la caracterización anatómica y fitoquímica de *Eleocha-*

ris pseudoalbibracteata S. González & Guagl. (Cyperaceae), con estatus de endémica; *Juncus balticus* Willd. subsp. *mexicanus* (Willd. ex Roem. & Schult. f.) Snogerup (Juncaceae), ambas especies forrajeras de alta calidad; y *Schoenoplectus californicus* (C. A. Mey.) Soják var. *californicus* (Cyperaceae), nativa no forrajera. Estas especies registran antecedentes de uso medicinal (Barboza y col., 2009; Lahitte y col., 1998; Verettoni, 1990) y no se registra información sobre estudios químicos. Los sitios de muestreo presentan una cobertura del 100 % y se ubican en cañadones de relieve cóncavo, en el Dpto. Escalante, al SE de la provincia de Chubut (45° 52' 0" S 67° 30' 0" O).

Materiales

Schoenoplectus californicus var. *californicus*: Argentina: Prov. Chubut, Dpto. Escalante, Ea. La Makina, 28-12-09, HRP 7258.

Eleocharis pseudoalbibracteata: Argentina: Prov. Chubut, Dpto. Escalante, Ea. Los Manantiales, 28-12-09, HRP 7261.

Juncus balticus subsp. *mexicanus*: Argentina: Prov. Chubut, Dpto. Escalante, Ea. Los Manantiales, 28-12-09, HRP 7260.

Metodología

Se recolectaron tallos aéreos de cinco individuos de cada especie, seleccionados al azar entre los de tamaño modal. Se realizaron estudios anatómicos y pruebas histoquímicas utilizando técnicas histológicas estandarizadas (D'Ambrogio, 1986; Gattuso y Gattuso, 1999) sobre material fresco y conservado en FAA. Las descripciones se efectuaron mediante el uso de microscopía óptica (MO) y las mediciones con software de medición IM50. Se realizaron análisis cuali y cuantitativos de los caracteres estructurales.

Se caracterizaron parámetros de tamaño, área caulinar específica (ACE), contenido de materia seca caulinar (CMSC) y dureza, como estimación indirecta (Cornelissen y col., 2003; Molina, 2000). Por tratarse de plantas áfilas el área caulinar verdadera fue calculada en sección transversal con MO, dividiendo la circunferencia por 2 y ese valor

multiplicado por el largo del tallo fotosintetizador.

El *screening* fitoquímico se efectuó sobre las partes aéreas desecadas al aire y pulverizadas. El análisis cualitativo de metabolitos secundarios para la detección de polifenoles, taninos, flavonoides, cumarinas, alcaloides, saponinas, antraquinonas, glicósidos cianogenéticos y cardiotónicos y terpenos/esteroides se realizó aplicando técnicas convencionales (de Abreu Matos, 2009). Los datos se analizaron estadísticamente con las funciones incluidas en la planilla de cálculo Excell y se realizó ANOVA con el programa Statistica.

Resultados

Los caracteres anatómicos cualitativos y cuantitativos en transección caulinar de las plantas estudiadas se ilustran y detallan en la figura 1, y en las tablas 1 y 2.

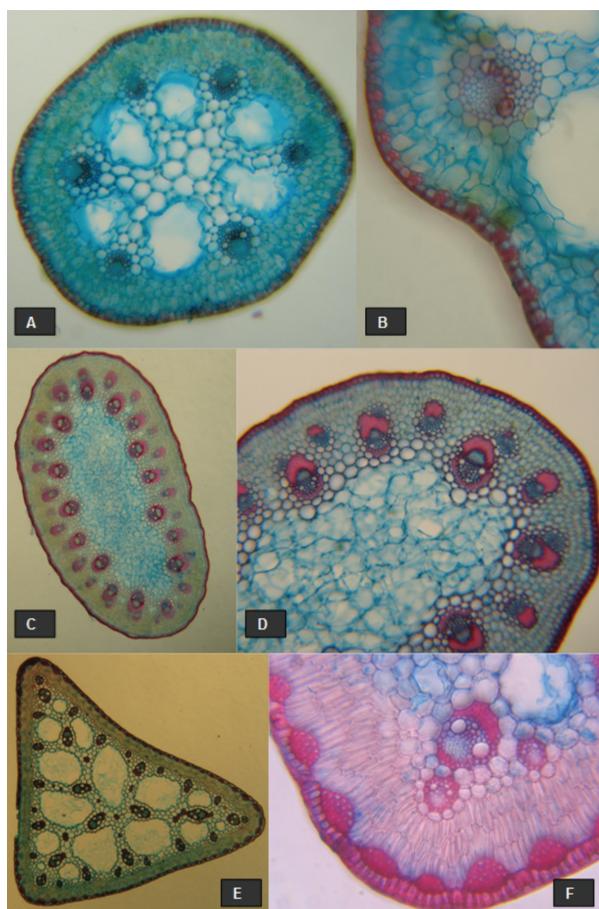
Tabla 1.- Características anatómicas comparadas en corte transversal

| Carácter | <i>Schoenoplectus californicus</i> var. <i>californicus</i> | <i>Juncus balticus</i> subsp. <i>mexicanus</i> | <i>Eleocharis</i> <i>pseudoalbibracteata</i> |
|---|--|---|--|
| Forma del tallo | Triangular, trígono a cilíndrico. | Cilíndrico, subcomprimido. | Subcircular irregular o pentagonal. |
| Epidermis | Cutícula gruesa. | Cutícula intermedia. | Cutícula intermedia. |
| Cordones de esclerénquima subepidérmico | Forma pulviniforme. Nº de fibras 25-30 (40). | Ausentes. | Forma pentagonal. Nº de fibras 5 - 7. |
| Clorénquima Nº de estratos | Empalizada radiado. 2 estratos de células alargadas. | Empalizada radiado. 3 estratos de células más cortas. | Empalizada. 2 estratos de células largas. |
| Haces vasculares Número y disposición | Entre 28 y 33 (20-21 periféricos y 8-12 centrales). | Entre 25 y 30 dispuestos en dos ciclos, con mayor número en el externo. | Entre 5 y 9 (más frecuente 8), dispuestos en un círculo. |
| Vainas vasculares | 2, una externa parenquimática con células de mayor diámetro y pared delgada, otra interna con células de pared gruesa y fibrosa. | | |
| Esclerénquima vascular: 2 casquetes | > tamaño el interno. | > tamaño el externo. | — |
| Aerénquima Espacios aeríferos | Presentes. Nº: 15-25 (39). Tejido fundamental entre cavidades: 1-3 estratos de células. | Ausentes. Médula continua astericiforme. | Presentes. Nº coincidente con el de haces vasculares. Tejido fundamental entre cavidades: 1-3 estratos de células. |
| Diafragma Forma de las células | Lobuladas, 9 a 12 lóbulos, espacios intercelulares trilobulados u ovales. | — | Estrelladas, 5 a 7 brazos de extremos lobulados, espacios intercelulares trilobulados. |

Tabla 2.- Caracteres cuantitativos en transección caulinar

| Especie | Transección | Epidermis (espesor) | | | Clorénquima | Aerénquima |
|---|--------------|---------------------|---------------|-------------|----------------|-----------------|
| | | Célula epidérmica | Pared externa | Cutícula | | |
| <i>Eleocharis pseudoalbibracteata</i> | 684 ± 85,50 | 18,51 ± 3,85 | 2,33 ± 0,19 | 2,40 ± 0,01 | 79,68 ± 10,10 | 437 ± 55,00 |
| <i>Juncus balticus</i> subsp. <i>mexicanus</i> | 1254 ± 40,06 | 14,16 ± 0,76 | 3,30 ± 0,60 | 2,40 ± 0,01 | 194,40 ± 23,46 | 608 ± 20,10 |
| <i>Schoenoplectus californicus</i> var. <i>californicus</i> | 1608 ± 31,70 | 20,40 ± 1,26 | 2,52 ± 0,38 | 4,80 ± 0,01 | 84,00 ± 8,76 | 1377,50 ± 28,66 |

Todos los valores están expresados en μm y corresponden a media \pm 1 DS.

Figura 1.- Anatomía caulinar

A-B: corte transversal de tallo de *Eleocharis pseudoalbibracteata*; **A:** vista general (10 x); **B:** detalle de epidermis y haz vascular (40 x). **C-D:** corte transversal de tallo de *Juncus balticus*; **C:** aspecto general (10 x); **D:** detalle de un sector (40x). **E-F:** corte transversal de tallo de *Schoenoplectus californicus*; **E:** aspecto general (10 x); **F:** detalle de un sector (40 x).

Los estomas se disponen en toda la superficie del tallo entre los cordones de esclerenquima subepidérmica en *Sch. californicus* var. *californicus* y *E. pseudoalbibracteata*. En este último los cordones mencionados tienen forma pentagonal y están formados por 5 a 7 fibras. En *J. balticus* ssp. *mexicanus* los estomas se disponen alineados en toda la superficie del tallo.

E. pseudoalbibracteata presenta células secretoras, con contenidos de TLS (por su denominación en inglés: *tannin-like substances*) en el clorénquima. Las reacciones histoquímicas evidenciaron presencia de lignina, sustancias pécticas y lípidos, en todas las especies. En epidermis de *Sch. californicus* se detectaron mucílagos.

Los atributos morfofuncionales de los órganos fotosintéticos se presentan en la tabla 3. El CMSC fue significativamente mayor en *J. balticus* que en *Sch. californicus* y *E. pseudoalbibracteata*. El TC y la dureza en *E. pseudoalbibracteata* fueron significativamente menores, mientras que el ACE fue significativamente mayor, con respecto a las otras dos especies.

Los compuestos determinados en la caracterización fitoquímica cualitativa se detallan en la tabla 4. Los resultados positivos en las reacciones ensayadas evidencian la presencia de flavonoides en todas las especies evaluadas, del tipo flavona, flavonol, flavanona, flavanonol, leucoantocianidinas y catequinas. La detección de cumarinas resultó positiva, excepto en *E. pseudoalbibracteata*. El análisis de saponinas solo produjo formación de espuma medianamente abundante y estable en los extractos etanólico y acuoso de *J. balticus*.

Tabla 3.- Atributos morfofuncionales de los órganos fotosintéticos

| Especie | Tamaño caulinar mm ² | ACE mm ² /mg | CMSC mg/g | Dureza (peso específico) mg/mm ² |
|--|------------------------------------|----------------------------|-----------------|---|
| <i>Juncus balticus</i> subsp. <i>mexicanus</i> | 570,18 ± 92,73 | 9,72 ± 3,04 | 243,42 ± 53,26* | 0,11 ± 0,03 |
| <i>Eleocharis</i> <i>pseudoalbibracteata</i> | 120,35 ± 43,94* | 20,62 ± 6,29* | 173,41 ± 28,18 | 0,05 ± 0,02* |
| <i>Schoenoplectus californicus</i> var. <i>californicus</i> | 443,24 ± 42,67 | 7,89 ± 1,19 | 175,52 ± 12,12 | 0,13 ± 0,02 |

Los valores están expresados en porcentaje y corresponden a media ± 1 DS.

* Medias significativamente diferentes (Test de Tukey p < 0,05).

Tabla 4.- Análisis cualitativos de metabolitos secundarios

| Metabolito | Ensayo | <i>Eleocharis</i> <i>pseudoalbibracteata</i> | <i>Juncus balticus</i> subsp. <i>mexicanus</i> | <i>Schoenoplectus</i> <i>californicus</i> var. <i>californicus</i> |
|---------------------------|------------------------------------|---|---|--|
| Polifenoles | Folin-Ciocalteu | + | + | + |
| Taninos | Gelatina | + | + | + |
| | FeCl ₃ | - | - | - |
| | Ferrocianuro de K | - | - | - |
| Flavonoides | Shinoda | + | + | + |
| | H ₂ SO ₄ (c) | + | + | + |
| | Álcalis | + | + | + |
| | Rosenheim | + | + | + |
| Cumarinas | Catequinas | + | + | + |
| | Reacción con hidróxido de amonio | - | + | + |
| Alcaloides | Dragendorff | - | - | - |
| | Mayer | - | - | - |
| | Wagner | - | - | - |
| Saponinas | Extracto etanólico | - | + | - |
| | Norma Iram 37501 | - | + | - |
| Antraquinonas | Borntragen | - | - | - |
| Glicósidos cianogenéticos | Reacción de Guignard | - | - | - |
| Glicósidos cardiotónicos | Reactivo de Baljet | - | - | - |
| Terpenos / Esteroides | Lieberman-Burchard | - | - | - |
| | Salkowski | - | - | - |

Con respecto a las pruebas realizadas para la detección de esteroides y triterpenos, se registró coloración verde en la interfase, aplicable a carotenoides.

Discusión y conclusiones

El número de haces vasculares, carácter específicamente estable, varía entre las especies comparadas. En *E. pseudoalbibracteata* es reducido en comparación con los valores que pueden alcanzar en otras especies del género (Metcalf, 1971; Govindarajalu, 1975; 1990). Las dos vainas vasculares, una interna de fibras y otra externa parenquimática están presentes en las tres especies, como lo describe Metcalfe (1971). Coincidiendo con lo descrito por otros autores (Metcalf, 1971; Govindarajalu, 1975; 1990) las cavidades aéreas son atravesadas a intervalos por diafragmas de células estrelladas.

Las tres especies presentan vía fotosintética C_3 , que se refleja en su anatomía caulinar. En coincidencia con la descripción realizada por Vegetti (2004) para el tipo anatómico C_3 en Ciperáceas, presentan clorénquima en empalizada u homogéneo; dos vainas de los haces, una externa parenquimática y una interna mestomática; vasos de metaxilema que se ubican por dentro de la vaina mestoma, y baja frecuencia de haces vasculares.

Los autores describen variaciones en la anatomía del tallo como resultado de las condiciones ambientales xéricas o hídricas (Metcalf, 1971). Algunos parámetros indicadores son la cantidad de esclerénquima, el grosor de las paredes epidérmicas y el espesor de la cutícula. *Sch. californicus* presenta la cutícula más gruesa, mientras que *J. balticus* tiene espesor de pared epidérmica tangencial externa mayor. Ambas especies tienen similar cantidad de esclerénquima; en la Ciperácea es de posición subepidérmica mientras que en la Juncácea es mayor la proporción de esclerénquima vascular.

La forma en sección transversal del tallo aéreo es triangular, trígono a cilíndrico en *Sch. californicus*; subcircular irregular o pentagonal en *E. pseudoalbibracteata* y cilíndrico subcomprimido en *J. balticus*. *E. pseudoalbibracteata* presenta mayor proporción de clorénquima con relación al diámetro del tallo.

Las principales diferencias anatómicas entre *Sch. californicus*, *E. pseudoalbibracteata* y *J. balticus* se observan en: la presencia de espacios aeríferos en los dos primeros y su ausencia en el último, que tiene

una abundante médula asteriforme diafragmática; el esclerénquima subepidérmico presente en las dos Ciperáceas está ausente en *J. balticus*, donde es compensado por mayor proporción de fibras vasculares.

La presencia de polifenoles, taninos, flavonoides, cumarinas, alcaloides, saponinas, antraquinonas, glicósidos cianogenéticos y esteroides y triterpenoides, coincide con lo expuesto por Baldizan y col. (2006) en relación con los polifenoles y los compuestos nitrogenados de naturaleza no proteica, y constituyen los dos grupos de metabolitos secundarios de mayor distribución en las plantas superiores.

Los grupos de metabolitos secundarios detectados en este análisis preliminar, no se encuentran registrados en la literatura consultada y significan un aporte al conocimiento fitoquímico de especies nativas de la región patagónica.

Referencias bibliográficas

- Baldizan, A.; Domínguez, C.; García, D.; Chacón, E.; Aguilar, L. (2006). "Metabolitos secundarios y patrón de selección de dietas en el bosque decíduo tropical de los llanos centrales venezolanos". *Zootecnia Tropical* 24(3): 213-232.
- Barboza, G.E.; Cantero, J.J.; Núñez, C; Pacciaroni, A.; Ariza Espinar, L. (2009). "Medicinal plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora". *Kurtziana* Tomo 34(1-2): 7-365.
- Bertiller, M.B.; Elissalde, N.O.; Rostagno, C.M.; Defossé, G.E. (1995). "Environmental patterns and plant distribution along gradient in Western Patagonia". *Journal of arid Environment* 29: 85-97.
- Bertiller, M.B.; Bisigato, A.J. (1998) "Vegetation dynamics under grazing disturbance. The state and transition model for the Patagonian steppes". *Ecología austral* 8: 191-199.
- Bryant, J.P.; Reichardt, P.B.; Clausen, T.P. (1992). "Chemically mediated interactions between woody plants and browsing mammals". *J. Range Manage.* 45: 18-24.
- Cassola, A. (1988). "Los Mallines". *Rev. Presencia INTA* 16: 11-14.
- Cheeke, P.R. (1995). "Endogenous toxins and mycotoxins in forage grasses and their effects on livestock". *J. Anim. Sci.* 73: 909-918.

- Cornelissen, J.H.C.; Lavorel, S.; Garnier, E.; Díaz, S. Buchman, N.; Gurvich, D.E.; Reich, P.B. ter Steege, H.; Morgan, H.D.; Van der Heiden, M.G.; Pausas, J.G.; Poorter, H. (2003). "A handbook of protocols for standardized and easy measurements of plant functional traits worldwide". *Australian Journal of Botany* 51: 335-380.
- D'Ambrogio, A. (1986). *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. Hemisferio Sur. Buenos Aires: 1-83.
- de Abreu Matos, F.J. (2009). *Introdução à fitoquímica experimental*. Editora da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. Ceará: 1-148.
- Gattuso, M.; Gattuso, S. (1999). *Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas en Polvo*. Universidad Nacional de Rosario: 1-50.
- Govindarajalu, E. (1975). "The systematic anatomy of South Indian Cyperaceae: *Eleocharis* R. Br., *Rhynchospora* Vahl and *Scleria* Bergius". *Adansonia*, ser.2, 14(4): 581-632.
- Govindarajalu, E. (1990). "Cyperaceae Indiae Australis Precursors. A novelty in *Eleocharis* R. Br. and its vegetative anatomy". *Proc. Indian Acad. Sci., Plant sci.* 100(1): 71-75.
- Harborne, J.B. (1993). *Introduction to Ecological Biochemistry*. Academic Press. London: 1-318.
- Lahitte, H.B.; Hurrell, J.A.; Belgrano, M.J.; Jankowski, L.; Haloua, P.; Mehlreter, K. (1998). "Plantas Medicinales Rioplatenses". LOLA, Buenos Aires: 1-240.
- Metcalf, C.R. (1971). *Anatomy of the Monocotyledons V. Cyperaceae*. Clarendon Press, Oxford: 1-597.
- Molina, J. M. (2000). "Palatabilidad de las hojas del arándano americano (*Vaccinium* spp.) para *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (*Lepidoptera: Noctuidae*)". *Bol. San. Veg. Plagas* 26: 89-98.
- Paz, C.; Buffoni, H. (1986). "Manejo de las 'vegas' en el sur de Santa Cruz". *Rev. Presencia INTA* 8: 40-44.
- Solmo, R.; Siffredi, G. (1993). "Algo más sobre henos de mallines de Precordillera". *Rev. Presencia INTA* 27: 12-13.
- Vegetti, A. C. (2004). "*Vías fotosintéticas y anatomía foliar*". En: Bianco, C. A.; Kraus, T. A. y Vegetti, A. C. (eds.). *La Hoja: Morfología externa y anatomía*. 1ª ed. Universidad Nacional de Río Cuarto - Universidad Nacional del Litoral: 121-138.
- Verettoni, H., (1990). *Contribución al conocimiento de las plantas medicinales de la región de Bahía Blanca y Norte de la Patagonia*. Harris y Cía. Bahía Blanca: 1-389.

Contenido de polifenoles en *Ligaria cuneifolia* y su relación con la capacidad antioxidante

Cecilia B. Dobrecky^{1*}, Ezequiel Moreno¹, Mariana Garcés², Silvia Lucangioli³, Rafael Ricco¹, Pablo Evelson², Marcelo L. Wagner¹

¹ Cátedra de Farmacobotánica, ²Cátedra de Química General e Inorgánica IBIMOL UBA-CONICET, ³Departamento de Tecnología Farmacéutica-CONICET. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956, CABA (1113) República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: lcdobrec@ffyb.uba.ar

Resumen

Ligaria cuneifolia (R et P.) Tiegh. (Loranthaceae) es una especie hemiparásita conocida vulgarmente con el nombre de “muérdago criollo”, “liga” o “liguilla”. Esta especie es utilizada popularmente como agente hipotensor y, debido a su similitud morfológica, constituye el sustituto natural del muérdago europeo (*Viscum album* L. –Viscaceae–). *L. cuneifolia*, al igual que las otras especies de la familia Loranthaceae, son ricas en flavonoides, especialmente flavonoles, compuestos que podrían ser determinantes de su acción biológica. El objetivo de este trabajo consiste en valorar el contenido de polifenoles en diferentes extractos y evaluar la relación de estos compuestos con la actividad antioxidante. Para ello, se procede a la cuantificación de fenoles totales, de ácidos hidroxicinámicos, flavonoides totales y de taninos condensados en las fracciones acetato de etilo, butanólica y acuosa. En estas mismas fracciones se realiza también la determinación de actividad antioxidante total hidrosoluble mediante el método de ABTS y la capacidad antioxidante total liposoluble mediante el método de DPPH. Los resultados obtenidos permiten suponer que, si bien la fracción butanólica presenta mayor capacidad antioxidante mediante el método de DPPH, asociado a un mayor contenido de taninos condensados de alto peso molecular, la fracción acetato de etilo presenta mayor contenido de polifenoles, que implica un significativo poder antioxidante liposoluble y mayor capacidad antioxidante mediante el método de ABTS.

Polyphenol Composition in *Ligaria cuneifolia* (Loranthaceae) and its Relationship with the Antioxidant Capacity

Summary

Ligaria cuneifolia (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae) is a hemiparasitic plant commonly known as “Argentinean mistletoe”, “liga” or “liguilla”. This plant is frequently used as a hypotensive agent and due to its morphological similarity, it is considered as the natural substitute for the European mistletoe (*Viscum album* L. –Viscaceae–). *L. cuneifolia*, as some other members of the Loranthaceae family, contains high levels of flavonoids, and especially flavonols, which may be responsible for its biological properties. The goal of the present study is

Palabras clave: capacidad antioxidante - *Ligaria cuneifolia* - flavonoides.

Key words: antioxidant capacity - *Ligaria cuneifolia* - flavonoids.

to evaluate the flavonoid content in different extracts and correlate this with the antioxidant capacity. For this purpose, the total phenol, hydroxycinnamic acid, total flavonoid, and condensed tannins contents are quantified in the butanolic, ethyl acetate and aqueous fractions of the extracts. The total hydrosoluble antioxidant capacity, the ABTS method, and the total liposoluble antioxidant capacity, the DPPH method, are performed on the same three fractions. Even though the butanolic fraction has the highest level of condensed tannins of high molecular weight, which explains the significant DPPH antioxidant capacity, the ethyl acetate fraction has the highest levels of total flavonoids, total phenol, and hydroxycinnamic acids which accounts for the predominant ABTS antioxidant capacity and a significant liposoluble antioxidant power.

Introducción

Ligaria cuneifolia (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae) es una especie hemiparásita vulgarmente conocida con el nombre de “muérdago criollo”, “liga” o “liguilla”. Es una especie sudamericana que se encuentra en Perú, Bolivia, Argentina, Chile, Brasil y Uruguay. En la Argentina presenta una gran dispersión; se extiende desde Salta y Jujuy, en el Norte, hasta La Pampa en el Sur, y desde Entre Ríos y al noreste de Buenos Aires hasta la precordillera andina (Varela y col., 2001).

Son plantas hemiparásitas que se desarrollan sobre vástagos leñosos, dependen del hospedante para vivir, de donde obtienen el agua y los nutrientes minerales; son organismos fotosintetizadores ya que producen sus propios carbohidratos.

Por su condición de hemiparásitas, en general están desprovistas de raíces; al germinar la semilla da lugar a un disco de adhesión en el hipocótilo que le permite aferrarse a la superficie de las ramas y de los tallos del hospedante. Luego generan un cono de penetración que crece entre los tejidos hasta llegar al xilema por donde circulan el agua y las sales (Abbiatti, 1946; Becker, 1986; Luther y col., 1987).

Esta especie es utilizada popularmente como agente hipotensor y, debido a su similitud morfológica, constituye el sustituto natural del muérdago europeo (*Viscum album* L. –Viscaceae–). *L. cuneifolia*, al igual que las otras especies de la familia Loranthaceae, son ricas en flavonoides, especialmente flavonoles, compuestos que podrían ser determinantes de su acción biológica. Debido a su utilización tradicional y a sus compuestos activos, *L. cuneifolia* también ha sido considerada para el tratamiento de

ciertos desórdenes en los que el estrés oxidativo es la principal causa involucrada en el mecanismo de la enfermedad.

El estrés oxidativo puede ser definido como el incremento que se produce, por encima de los valores fisiológicos, en las concentraciones en el estado estacionario intracelular de las especies reactivas del oxígeno, como anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo (OH^{\cdot}), y oxígeno singulete (1O_2). Esta situación conduce a cambios en los niveles de las defensas antioxidantes que pueden incrementarse como una respuesta protectora, o disminuir, debido a su acción como antioxidantes (Sies, 1985).

Los compuestos antioxidantes encontrados en los extractos pueden disminuir la ocurrencia del estrés oxidativo por varios mecanismos que incluyen el atrapamiento de los radicales libres, la inhibición de los procesos de peroxidación lipídica y la capacidad de actuar como quelantes de metales (Dasgupta y De, 2007); estos mecanismos constituyen los fundamentos moleculares para las acciones farmacológicas descriptas.

Las propiedades químicas de los polifenoles, en términos de la habilidad de los hidrógenos fenólicos como atrapadores de radicales libres, sugiere su capacidad antioxidante. Borneo y col. (2009) realizaron un *screening* de la capacidad antioxidante entre distintas especies que crecen en la provincia de Córdoba, entre las cuales se encuentra *L. cuneifolia*. Esta especie presentó altos valores de capacidad antioxidante, resultados que concuerdan con los datos obtenidos en este trabajo.

El objetivo de este trabajo consiste en valorar el contenido de polifenoles en diferentes extractos de *L. cuneifolia*, y evaluar la relación de estos compuestos con la actividad antioxidante.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se emplearon ejemplares recolectados en Barreal, departamento de Calingasta, provincia de San Juan (1.478 ms.n.m. 31°28'S 69°25' O).

Hospedante: *Prosopis flexuosa* D.C. y *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart (Fabaceae, subf. Mimosoidea).

Los ejemplares se identificaron por medio de claves adecuadas y la comparación con material de herbario. Un ejemplar fue depositado en el herbario del Museo de Farmacobotánica "Juan A. Domínguez" (BAF).

Preparación de las fracciones

Las hojas y los tallos herbáceos (20 g de cada uno) fueron molidos en un molinillo de cuchillas rotativas, a un tamaño de partículas no mayor a 5 mm.

Se realizó una limpieza del material para eliminar grasas y clorofilas con hexano y diclorometano. Luego, el material fue sometido a extracciones sucesivas con mezclas de metanol-agua (100 %, 80 % y 50 %), en un agitador orbital (150 rpm) durante 24 horas, a temperatura ambiente.

Se eliminó el solvente orgánico mediante el empleo de un evaporador rotatorio; los residuos acuosos obtenidos se mezclaron y posteriormente, se realizaron particiones con acetato de etilo y butanol. Se obtuvieron así 3 fracciones para su estudio posterior: acetato de etilo, butanol y acuosa. Los rendimientos de cada fracción fueron: 30 %, 15 % y 25 % (m/m), respectivamente.

Contenido de polifenoles

Se determinó el contenido de fenoles totales de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu (Makkar

y col., 1993); taninos condensados, mediante la reacción de la proantocianidina (Waterman y Mole, 1994); flavonoides totales, de acuerdo con la técnica de Maksimovic y col. (2005); ácidos hidroxicinámicos totales mediante una modificación de la metodología descripta por Dao y Friedman (1992).

Capacidad antioxidante in vitro

Se evaluó la capacidad antioxidante de las fracciones mediante los ensayos de ABTS (Campos y Lissi, 1997) y DPPH (Sánchez-Moreno y col., 1998). Los resultados fueron expresados como μmol de trolox por g de fracción.

Las concentraciones de trolox utilizadas para la curva de calibración fueron de 6,65; 13,3 y 19,95 μM .

Análisis estadístico

Los resultados se expresan como valor medio \pm DS y representan el promedio de 4 determinaciones. Para el análisis de los resultados se utilizó ANOVA seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey. La significancia estadística se considera en $p < 0,05$. Los cálculos estadísticos se realizan con el programa InfoStat, versión 2014 (Di Rienzo y col., 2014).

Resultados

A continuación se presentan los resultados obtenidos para la cuantificación de polifenoles y la determinación de capacidad antioxidante mediante los métodos de ABTS y DPPH.

Los mayores valores de polifenoles totales fueron obtenidos en las fracciones butanólica y acetato de etilo (Tabla 1).

Tabla 1.- Cuantificación de polifenoles de las fracciones de *L. cuneifolia*

| Fracción | Fla | Tan | Fen | Ác. Hid. |
|------------------|----------------|-----------------|-------------------|----------------|
| Acuosa | 0,3 \pm 0,3 | 0,15 \pm 0,03 | 417,3 \pm 130,0 | 4,8 \pm 3,4 |
| Butanólica | 14,3 \pm 3,0 | 0,74 \pm 0,03 | 624,0 \pm 78,9 | 7,0 \pm 2,5 |
| Acetato de etilo | 90,7 \pm 8,5 | 0,49 \pm 0,04 | 796,9 \pm 122,2 | 23,7 \pm 2,2 |

Fla: flavonoides totales (mg rutina/g fracción); **Tan:** taninos condensados (Abs 550 nm/g fracción); **Fen:** fenoles totales (mg de ácido tánico/g fracción); **Ác. Hid.:** ácidos hidroxicinámicos totales (mg ácido clorogénico/g fracción). Resultados expresados como media \pm DS.

La fracción acetato de etilo presentó los valores más altos de flavonoides totales, fenoles totales y ácidos hidroxycinámicos totales. La fracción butanólica presentó la mayor concentración de taninos condensados.

A partir del análisis estadístico de los valores obtenidos se observaron diferencias significativas en el contenido de fenoles totales, flavonoides totales, taninos condensados y ácidos hidroxycinámicos totales, entre las diferentes fracciones analizadas (Tabla 1).

En cuanto a la actividad antioxidante, la fracción acetato de etilo presentó mayor actividad con el método de ABTS, mientras que la fracción butanólica con el método del DPPH (Tabla 2). En todos los casos, el análisis estadístico demuestra diferencias significativas en los resultados obtenidos.

Tabla 2.- Actividad antioxidante de las fracciones de *L. cuneifolia*

| Fracción | Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol trolox/g}$ fracción) | |
|------------------|--|----------------|
| | DPPH | ABTS |
| Acuosa | 16 \pm 4 | 1215 \pm 79 |
| Butanólica | 62 \pm 6 | 5604 \pm 60 |
| Acetato de etilo | 45 \pm 7 | 10230 \pm 48 |

Resultados expresados como media \pm DS.

Discusión y conclusiones

Los resultados obtenidos indican que las fracciones presentan diferencias significativas entre sí para cada una de las determinaciones realizadas.

La fracción acuosa presentó el menor contenido de todos los metabolitos analizados, y resultó ser la fracción con la menor actividad antioxidante.

La fracción butanólica presentó el mayor contenido de taninos condensados, que otorga mayor capacidad antioxidante liposoluble, determinada mediante el método de DPPH.

La fracción acetato de etilo presentó el mayor contenido de flavonoides totales, ácidos hidroxycinámicos y fenoles totales, y un notable aporte de taninos condensados, que se correlaciona con la mayor capacidad antioxidante determinada mediante el método de ABTS.

Agradecimientos

Proyecto UBA 20020130100641BA y al Sr. Mauricio Ferrés, de *Platario S.A.*

Referencias bibliográficas

- Abbiatti D. (1946). "Las Lorantáceas Argentinas". *Rev. Museo La Plata* 7: 1-110.
- Becker, H. (1986). "Botany of European Mistletoe (*Viscum album* L.)". *Oncology* 43 (supl. 1): 2-7.
- Borneo, R.; León, A.E.; Aguirre, A.; Ribotta, P.; Cantero, J.J. (2009). "Antioxidant capacity of medicinal plants from the Province of Córdoba (Argentina) and their in vitro testing in a model food system". *Food Chem.* 112: 664-670.
- Campos, A.M.; Lissi, E.A. (1997). "Kinetics of the reaction between 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) derived radical cations and phenols". *Int. J. Chem. Kinet.* 29: 219-224.
- Dao, L.; Friedman, M. (1992). "Chlorogenic acid content of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry". *J. Agric. Food Chem.* 40: 2152-2156.
- Dasgupta, N; De, B. (2007). "Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: A comparative study". *Food Chem.* 101: 471-474.
- Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; González, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. *InfoStat* versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. En línea <<http://www.infostat.com.ar>> [Consulta: Junio 2014].
- Luther, P.; Becker, H. (1987). "Parasitische Phase". *Die Mistel: Botanik, Lektine, Medizinische Anwendung*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York: 27-35.
- Makkar, H.P.S.; Bluemmel, M.; Borowy, N.K.; Becker, K. (1993). "Gravimetric determination

- of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods". *J. Sci. Food Agric.* 61: 161-165.
- Maksimovic, Z.; Malencic, D.; Covacevic, N. (2005). "Polyphenol contents and antioxidant activity of *Mayadis stigma* extracts". *Biores Tech* 96: 873-87.
- Sánchez-Moreno, C.; Larrauri, J.; Saura-Calixto, F. (1998). "A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols". *J. Sci. Food Agric.* 76(2): 270-276.
- Sies H. (1985). "Oxidative stress: Introductory remarks". In: *Oxidative stress*, Sies H. (Ed.). Academic Press: San Diego: 1-7.
- Varela, B.; Fernández, T.; Taira, C.; Cerdá Zolezzi, P.; Ricco R.; Caldas López E.; Álvarez E., Gurni A.; Hajos S.; Wagner M. (2001). El "muérdago criollo", *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. –Loranthaceae– Desde el uso popular hacia el estudio de los efectos farmacológicos. *Dominguezia* 17(1): 31-50.
- Waterman, P.G.; Mole, S. (1994). "Analysis of phenolic plant metabolites. Methods in ecology". Blackwell Scientific Publications. London: 80.

Caracterización por HPLC y FTIR de los extractos acuosos de tres especies diuréticas del centro-oeste argentino

María F. Garro¹, María A. Gette¹, Marta E. Petenatti¹, Mariana C. Popovich¹, Gerardo Camí², Elbio Saidman³, Luis A. Del Vitto¹, Elisa M. Petenatti^{1*}

¹ Herbario UNSL/Proyecto 22/Q-016, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional San Luis, Ejército de los Andes 950, D5700HHW San Luis, República Argentina.

² Área de Química Inorgánica, FQByF, UNSL.

³ Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos, FQByF, UNSL.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: elipete@unsl.edu.ar

Resumen

Euphorbia serpens Kunth var. *microphylla* Müll. Arg. (Euphorbiaceae), *Amaranthus muricatus* (Moq.) Hieron. (Amaranthaceae) y *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae) son plantas usadas tradicionalmente en el Cono Sur de América como diuréticas. Las dos primeras son hierbas denominadas vulgarmente “yerbas meonas”, mientras que la última, un árbol perennifolio, es conocido como “molle de beber” o “molle dulce”. El objeto de este trabajo es caracterizar los extractos acuosos de estas drogas vegetales, identificando y cuantificando manitol por HPLC, debido a que este alcohol sería el principal responsable de la actividad diurética que han mostrado las tres plantas. Se realizó además, la caracterización fisicoquímica de las especies vegetales por comparación de los espectros de FT-IR. Los cromatogramas obtenidos por HPLC muestran picos con tiempos de retención a 35,44 min (estándar) característicos para manitol, y el área por debajo de las respectivas curvas permitió establecer concentraciones respecto a materia seca entre 23,056 g Kg⁻¹ en *E. serpens* var. *microphylla*; 4,638 g Kg⁻¹ en *L. molleoides*; y 2,080 g Kg⁻¹ en *A. muricatus*. Estas cifras explican las diferencias en la potencia diurética descrita en la bibliografía para las especies en estudio. Los espectros IR presentan una relación de áreas de las bandas CO/CH que resultó distintiva para las dos especies (8,42 para *E. serpens* var. *microphylla*; 9,28 para *A. muricatus*; y 11,18 para *L. molleoides*). El valor mayor correspondiente a *L. molleoides* indica mayor cantidad de compuestos oxigenados. Los datos espectrales obtenidos permiten contribuir a la caracterización de los extractos acuosos de estas especies y aportan datos para un control de calidad efectivo de las drogas vegetales y los medicamentos herbarios que los contengan en su formulación.

HPLC and FTIR Characterization of Aqueous Extracts of Three Diuretic Plant Species from West Central Argentina

Summary

Euphorbia serpens Kunth var. *microphylla* Müll. Arg. (Euphorbiaceae), *Amaranthus muricatus* (Moq.) Hieron. (Amaranthaceae), and *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae) are traditionally used in Southern South America as diuretic plants. The first two are herbs commonly called “yerbas meonas”, while the latter,

Palabras clave: Manitol - HPLC - FT-IR - *Euphorbia serpens* var. *microphylla* - *Amaranthus muricatus* - *Lithraea molleoides*.

Key words: Mannitol - HPLC - FT-IR - *Euphorbia serpens* var. *microphylla* - *Amaranthus muricatus* - *Lithraea molleoides*.

an evergreen tree, is known as “molle de beber” or “molle dulce”. This work tends to characterize the aqueous extracts (AEs) of these plant drugs, identifying and quantifying mannitol by HPLC, since this alcohol would be primarily responsible for the diuretic activity shown in the three plants. Furthermore, to characterize the species by comparing their FT-IR spectra. The HPLC spectra show the characteristic areas for mannitol at retention time (Tr) 35.44 min, while the area under the respective curves allowed to establish varying concentrations among 23.056 g Kg⁻¹ on the basis of dry matter in *E. serpens* var. *microphylla*, 4.638 g Kg⁻¹ in *L. molleoides*, and 2.080 g Kg⁻¹ in the case of *A. muricatus*. These figures explain the differences in diuretic potency described in the literature for these species. The FTIR spectra show CO/CH relations which are characteristic for each species (8.42 for *E. serpens* var. *microphylla*; 9.28 for *A. muricatus*; and 11.18 for *L. molleoides*); the higher value corresponding to *L. molleoides* indicates a greater amount of oxygenates. The spectral data obtained allow us to contribute to the characterization of AEs of these species, and provide data for effective quality control

Introducción

La acción diurética que muestran algunas especies de plantas se debe a principios varios, entre los que se destacan los aceites esenciales, los flavonoides, los saponósidos y las sales de potasio; en algunas drogas pueden coincidir varios de ellos, y a veces, resulta difícil determinar en qué medida cada uno es responsable de esa bioactividad (Wright y col., 2007).

Entre otras plantas diuréticas de la medicina tradicional del Cono Sur (Bandoni y col., 1976), tres especies argentinas se usan con frecuencia: *Euphorbia serpens* Kunth var. *microphylla* Müll. Arg. (Euphorbiaceae), *Amaranthus muricatus* (Moq.) Hieron. (Amaranthaceae) y *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae) (Cheruse y col., 1983; Debenedetti y col., 2000; Del Vitto y col., 1997; Garro y col., 2012; López y col., 2007).

El objeto de este trabajo es caracterizar los extractos acuosos (EA) de estas drogas, identificando y cuantificando manitol por HPLC porque este alcohol, que se comporta como un diurético osmótico, sería el principal responsable de la actividad diurética que muestran las tres plantas (Garro y col., 2012). Por otra parte, se llevó a cabo la caracterización fisicoquímica de las especies vegetales por comparación de los espectros de FTIR.

Materiales

Se recogieron partes aéreas de cada una de las especies a partir de poblaciones naturales en los departamentos Coronel Pringles y General Pueyrredón, San Luis, entre 750 y 950 m.s.m., en el verano de 2010. El material fue secado en estufa de aire forzado a

40 °C, hasta humedad higroscópica, y luego, molido con molino a cuchillas.

Cada especie fue documentada mediante la confección de ejemplares de herbario, preservados en el Herbario de la Universidad Nacional de San Luis, e identificadas de la siguiente manera: 1) *Euphorbia serpens* Kunth var. *microphylla* Müll. Arg. (Euphorbiaceae), UNSL #533; 2) *Amaranthus muricatus* (Moq.) Hieron. (Amaranthaceae), UNSL #538; 3) *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae), UNSL #515.

Métodos

Los EA se obtuvieron a partir de 5 g de parte aérea (solo hojas en *L. molleoides*) desecada y molida de cada especie, extraídos con 100 ml de agua hirviente, según la Farmacopea Nacional Argentina, 7ª Ed. (2005), con posterior liofilización (Rificor® LT-16). La muestra liofilizada se disolvió en acetonitrilo-agua con una dilución final (1:25). Se inyectaron alícuotas de 20 µL en un equipo HPLC-UV/DAD Ultimate 3000 Autosampler (Dionex®), con una columna Gemini C18 (Phenomenex®), y se usó como fase móvil acetonitrilo:agua (20:80) a 1 mL/min. Se trabajó a una longitud de onda de 280 nm y los espectros UV fueron registrados en el intervalo de 200-400 nm. Los datos fueron procesados con un software Chromeleon®.

Los espectros FT-IR se obtuvieron utilizando un espectrómetro Protégé 460 (Nicolet®), con un divisor de haz de luz de CsI, y se midieron con una resolución de 4 cm⁻¹, entre 4.000 y 460 cm⁻¹. Se prepararon pastillas de KBr, con una concentración de muestra del 5 % en peso.

La relación de áreas CO/CH se midió empleando el área bajo la banda de los estiramientos C-O de los grupos carbonilos (entre 1.750-1.600 cm^{-1}) y los estiramientos C-H alifáticos a alta frecuencia (entre 2.960-2.100 cm^{-1}); se establecieron así pautas de equivalencia y similitud entre las especies.

Todos los reactivos empleados fueron de pureza analítica y HPLC de acuerdo con la metodología aplicada.

Resultados

Euphorbia serpens var. *microphylla* es una hierba anual, postrada, tapizante, latescente, con pequeñas hojas ovadas a orbiculares y tallos engrosados en los nudos; es conocida vulgarmente como “yerba meona” (también “meona”, “meonita”, “yerba de la golondrina”, “cola de novia”, “leche de paloma”, “pichoa rastrera”, “lechuguilla”, “rompepedras”, “tupasú cambú”); su parte aérea se emplea principalmente como diurético y antilitiásico, y su látex es considerado como antiverrucoso y antiherpético; se extiende por el norte y centro argentino hasta el norte de la Patagonia, además de Brasil, Paraguay y Uruguay. A su vez, la variedad típica se ha naturalizado en casi todo el mundo (Del Vitto y col. 1997; Filipov, 1997; Roig, 2001; Ruiz Leal, 1972; Subils, 1977).

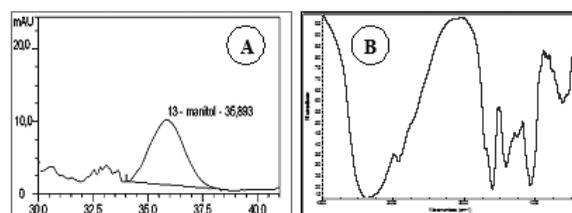
Amaranthus muricatus es una hierba perenne, postrada o erguida, con hojas lanceolado-lineares, brillantes en el haz; es conocida vulgarmente con el nombre de “hierba meona” (también “meona”, “piquillo” o “ataco”), considerada diurética y laxante; es nativa de Sudamérica austral y se ha naturalizado en gran parte del mundo (Del Vitto y col., 1997; Filipov, 1997; Martínez-Crovetto, 1964; Pedersen, 1987; Roig, 2001).

Lithraea molleoides es un árbol perennifolio de mediano porte, con hojas compuestas por 3-5 folíolos lanceolados, verde brillante en el haz, flores verde-amarillento, inconspicuas y frutos oscuros en la madurez. Es conocida vulgarmente como “molle de beber” o “molle dulce” (también “molle”, “molle blanco” o “chichita”); forma asociaciones boscosas en ambientes serranos del centro y norte de la Argentina, y se extiende hasta el sur de Brasil, Paraguay y Uruguay. Su follaje es empleado como diurético, mientras que sus frutos son utilizados como edulcorante y digestivo; tanto las exudaciones gomorresinosas, consideradas antiartríticas, como la

madera, causan dermatitis de contacto, esta última es conocida regionalmente como “flechadura del molle” (Del Vitto y col., 1997; 2011; Muñoz, 2000).

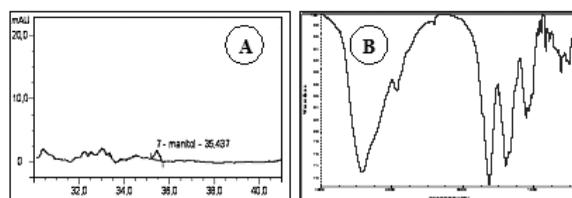
Los cromatogramas HPLC evidenciaron picos característicos con tiempos de retención (Tr) muy similares en todas las muestras (Figuras 1, 2 y 3 y Tabla 1): 34,90 min para el extracto acuoso de *E. serpens* var. *microphylla*; 35,42 min para *A. muricatus*; y 35,07 min para *L. molleoides*, mientras que el estándar de D-manitol (Sigma Aldrich®) presentó un Tr = 35,44 min. El agregado externo de este compuesto permitió confirmar su presencia por co-elución en los tres extractos vegetales. Se puede considerar al manitol como un marcador bioactivo para las especies en estudio dado que es el compuesto responsable de la actividad diurética. Su cuantificación puso en evidencia una concentración descendente desde *E. serpens* var. *microphylla* (2,305 g/100 g de materia seca) >> *L. molleoides* (0,463 g/100 g) > *A. muricatus* (0,208 g/100 g) (Tabla 1).

Figura 1.- Perfiles de HPLC y FTIR de *E. serpens* var. *microphylla*



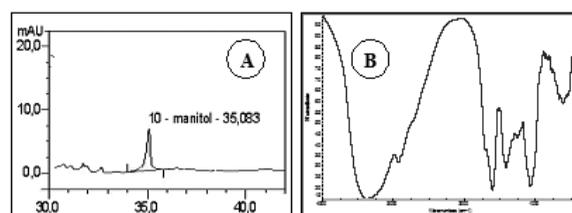
A: HPLC; **B:** FTIR.

Figura 2.- Perfiles de HPLC y FTIR de *A. muricatus*



A: HPLC; **B:** FTIR.

Figura 3.- Perfiles de HPLC y FTIR de *L. molleoides*



A: HPLC; **B:** FTIR.

Tabla 1.- Concentración de manitol y relación de áreas de las bandas CO/CH

| Especie | Tiempo de retención HPLC | Manitol HPLC (ppm en m.s.) | Relación CO/CH FTIR |
|-------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|------------------------|
| <i>E. serpens microphylla</i> | 34,90 | 23.056,5 | 8,42 |
| <i>A. muricatus</i> | 35,42 | 2.080,0 | 9,28 |
| <i>L. molleoides</i> | 35,07 | 4.637,6 | 11,18 |

Referencia: m.s.: materia seca.

Por su parte, los perfiles FTIR presentan bandas típicas para este alcohol en la zona de la “huella dactilar”, entre 850-1.000 cm^{-1} (Figuras 1, 2, y 3), mientras que la relación de áreas de las bandas CO/CH resulta distintiva para cada especie: 8,42 para *E. serpens* var. *microphylla*; 9,28 para *A. muricatus*; y 11,18 para *L. molleoides* (Tabla 1); estos valores indican que el mayor contenido en compuestos oxigenados corresponde a *L. molleoides*, y los menores, a *A. muricatus* y *E. serpens* var. *microphylla*.

Discusión y conclusiones

En las tres especies de plantas estudiadas (*Euphorbia serpens* var. *microphylla*, *Amaranthus muricatus* y *Lithraea molleoides*), empleadas entre otros usos como diuréticas en la Argentina, se ha comprobado la existencia de manitol, un alcohol destacado como diurético osmótico, que es propuesto como uno de los marcadores bioactivos de estas plantas. Su concentración, medida mediante HPLC, resultó significativa en *E. serpens* var. *microphylla*, mientras que las otras dos especies mostraron un contenido relativamente bajo; estos contenidos se corresponden con los resultados hallados por Debenedetti y col. (2000) para *A. muricatus*, y la moderada actividad diurética demostrada por Garro y col. (2012) para *L. molleoides*.

La relación de áreas de las bandas CO/CH de los espectros FTIR resultó característica para cada especie vegetal. Las determinaciones realizadas permiten contribuir a la caracterización de estas drogas, aportan al control de calidad efectivo, tanto de las drogas crudas como de sus derivados fitoterápicos.

Agradecimientos

Los autores manifiestan su agradecimiento al Comité editorial y los evaluadores anónimos por las importantes sugerencias, y al apoyo financiero de los Proyectos 22/Q016 SPU-ME y 2-1014 SECyT-UNSL.

Referencias bibliográficas

- Bandoni, A.L.; Mendiando, M.E.; Rondina, R.V.D.; Coussio, J.D. (1976). “Survey of Argentine medicinal plants. Folklore and phytochemical Screening, II”. *Economic Botany* 30(2): 161-185.
- Cheruse, J.; Baldini, O.; Blanc, L. (1983). “Ensayo farmacodinámico preliminar de *Euphorbia serpens* H.B.K. (Euphorbiaceae)”. *Acta Farmacéutica Bonaerense* 2(1): 19-22.
- Debenedetti, S.L.; Miño, J.; Rojo, A.; Acevedo, M.C.D. (2000). “Ensayo del efecto diurético de los extractos acuosos de *Amaranthus muricatus* (Moquin) Gill. ex Hicken, *Bauhinia candicans* Benth. y *Smilax campestris* Griseb.” *Acta Farmacéutica Bonaerense* 19(1): 17-20.
- Del Vitto, L.A.; Petenatti, E.M.; Petenatti, M.E. (1997). “Recursos herbolarios de San Luis (República Argentina) Primera parte: Plantas nativas”. *Multequina* 6: 49-66.
- Del Vitto, L.A.; Petenatti, E.M.; Petenatti, M.E. (2011). *Flores y plantas de la Reserva Provincial “Mogote Bayo” y Costa de la Sierra de Comechingones, Merlo, San Luis, Argentina*. Fundación Espacios Verdes, Buenos Aires: 42.
- Farmacopea Nacional Argentina (7ª ed.) (2005).

- Ministerio de Salud, ANMAT, INAME. Buenos Aires. 512 p.
- Filipov, A. (1997). "La farmacopea natural en los sistemas terapéuticos de los indígenas pilagá". *Parodiana* 10: 19-34.
- Garro, M.F.; Petenatti, M.E.; Petenatti, E.M.; Del Vitto, L.A.; Pelzer, L.; Saad, J.R.; María, A.O. (2012). "Pharmacobotanical characterization and diuretic activity of 'molles' of the Cuyo region, Argentina". *Biocell* 36(3): A-144.
- López, P.; Anesini, C.; Cogoi, L.; Ferraro, G. (2007). "Estudio de la actividad antioxidante de extractos de *Lithraea molleoides* (Anacardiaceae)". *BLACPMA* 6: 352-353.
- Martínez-Crovetto, R. (1964). "Estudios etnobotánicos, I. Nombres de plantas y su utilidad, según los indios Tobas del E del Chaco". *Bonplandia* 1: 279-333.
- Muñoz, J.D. (2000). "Anacardiaceae" en: Hunziker, A.T. (dir.) *Flora Fanerogámica Argentina*. Museo Botánico, Córdoba, Argentina, Fasc. 65: 1-28.
- Pedersen, T.M. (1987). "Amaranthaceae" en: Troncoso, N.S.; Bacigalupo, N.M. (dir.) *Flora Ilustrada de Entre Ríos, Argentina*. INTA, Buenos Aires: Colección Científica 6(3a): 160-203.
- Roig, F.A. (2001). *Flora medicinal mendocina*. Ed. EDIUNC, Mendoza, Argentina: 1-177.
- Ruiz Leal, R.A. (1972). "Flora popular mendocina". *Deserta* 3: 3-296.
- Subils, R. (1977). "Las especies de *Euphorbia* de la República Argentina". *Kurtziana* 10: 83-248.
- Wright, C.I.; Van-Buren, L.; Kroner, C.I.; Koning, M.M.G. (2007). "Herbal medicines as diuretics: a review of the scientific evidence". *Journal of Ethnopharmacology* 114(1): 1-31.

Plantas medicinales comercializadas en el mercado municipal de la ciudad de Pilar, Dpto. Ñeembucu, Paraguay

Isabel Basualdo^{1*}, Nélida Soria²

¹ Sobrevivencia, Amigos de la Tierra Paraguay.

² Sociedad Científica del Paraguay. Andrés Barbero 230 esq. Artigas, Asunción, República del Paraguay.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: isabelbasualdo160@hotmail.com

Resumen

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde tiempos inmemoriales para el control de problemas de salud humana, como preventivo, paliativo o curativo, y aún hoy constituyen la primera alternativa de tratamiento de enfermedades en las poblaciones rurales del Paraguay. Este trabajo forma parte del estudio etnobotánico que se realiza desde 2008 para documentar las plantas medicinales utilizadas en los diversos departamentos del país. El estudio es observacional, descriptivo, transversal y prospectivo. Los datos etnobotánicos fueron recolectados por medio de entrevistas semiestructuradas a los vendedores del mercado municipal y de observaciones de campo que permitieron determinar las especies. Además, se determinó el índice de endemidad relacionada con el uso exclusivo de las plantas medicinales en la zona. Hasta el presente se identificaron 50 especies utilizadas para diversos fines medicinales. Las familias mejor representadas son Asteraceae, Labiatae, Verbenaceae, Rosaceae, Solanaceae, que representan el 46 % de las especies medicinales identificadas. Los encuestados mencionaron el empleo de plantas para el tratamiento de 25 afecciones; 8 especies son utilizadas para provocar diuresis, ya sea para tratar los problemas renales, como la arenilla, o por su efecto colateral para disminuir la presión sanguínea; 6 especies son utilizadas como hipoglucemiante, 6 como antipirético, 5 como refrescante. El órgano medicinal más utilizado es la hoja, seguido de la raíz y el rizoma, parte aérea e incluso, la planta entera. El índice de endemidad es mayor a 1, lo que demuestra la importancia del uso de plantas medicinales en la zona. Se espera que estos datos contribuyan al fortalecimiento de una “Farmacopea Medicinal Paraguaya”.

Medicinal Plants Traded in the Municipal Market of Pilar City, Ñeembucu, Paraguay

Summary

Medicinal plants have been used since time immemorial to control human health problems such as preventive, curative or palliative, and they are still the first choice of treatment of diseases in rural populations in Paraguay. This work is part of the ethnobotanical study carried out since 2008 to document the medicinal plants used in the various departments. The study was observational, descriptive, cross-sectional and prospective. The ethnobotanical data were collected through semi-structured interviews to municipal market vendors, and field observation that allowed determining the species. In addition, the rate of endemity related to the

Palabras clave: plantas medicinales - etnobotánico - endemia.

Key words: medicinal plants - ethnobotany - endemicity.

exclusive use of medicinal plants in the area was determined. So far, 50 species used for various medicinal purposes were identified. The best represented families are Asteraceae, Labiatae, Verbenaceae, Rosaceae, Solanaceae, which represent 46 % of the medicinal species identified. From 27 treated conditions, 8 species are used to induce diuresis, either to treat kidney disease, such as grit or its side effect problem to reduce blood pressure, 6 species are used as hypoglycemic, 6 as antipyretic, and 5 as refreshing. The most commonly used medicinal organ is the leaf, followed by the root / rhizome, shoot, and whole plant. Endemicity index exceeds 1, which shows the importance of the use of medicinal plants in the area. It is expected that these findings will contribute to strengthen a “Paraguayan Medicinal Pharmacopoeia”.

Introducción

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde tiempos inmemoriales, para el control de problemas de la salud humana, sea como preventivo, paliativo o curativo y aún hoy constituyen la primera alternativa de tratamiento de enfermedades en las poblaciones rurales del Paraguay (González Torres, 1992). Esta cultura del uso de plantas medicinales ha evolucionado con el paso del tiempo y se han incorporado a la farmacopea plantas que no eran de uso tradicional en el Paraguay o especies que tienen características semejantes a las que se conocían originalmente, y se fueron sustituyendo unas por otras debido a que la comercialización se realiza por los nombres vulgares (Degen y col., 2005).

En ocasiones, el uso atribuido a las especies es empírico, se basa en experiencias personales, que luego se incrementan con el uso dentro de la comunidad. Así, muchas afecciones crónicas, como la diabetes y la hipertensión, son tratadas con plantas no empleadas para esas afecciones en otras comunidades (Basualdo y col. 2003; Soria y Basualdo, 2005; Vera, 2009). En consecuencia, ha ido aumentando el número de especies de la “Farmacopea herbolaria Paraguaya” (Basualdo y Soria, 1996).

El uso de varias especies vegetales para una misma afección podría ser indicio de la falta de respuesta terapéutica de la planta al uso propuesto, aunque podrían existir motivos intrínsecos y extrínsecos a la especie –como el tipo de suelo donde habita o la época de recolección– que podrían modificar su respuesta terapéutica.

El uso de plantas medicinales en estado fresco sigue siendo de uso tradicional en la elaboración del tereré, bebida típica del Paraguay, al que se le añaden plantas medicinales que son “refrescantes”, y en muchas ocasiones se utilizan como preventivo para evitar alguna enfermedad (Basualdo y col., 2004).

Habitualmente, para su comercialización, las plantas se recolectan de su hábitat. Tradicionalmente se relacionaba la forma del órgano de la planta con el órgano del cuerpo humano en el cual ejercería su acción; este esquema ha variado, y en la actualidad el uso se relaciona no solo con la morfología, sino también con los sabores u olores a los que se atribuyen acciones terapéuticas, como el sabor amargo para combatir el azúcar en la sangre.

Material y método

Este trabajo forma parte del estudio etnobotánico que se realiza desde 2008 para documentar las plantas medicinales utilizadas en los diversos departamentos del país; se realizó durante el año 2012, en los meses de marzo, junio y noviembre.

El estudio fue observacional, descriptivo, transversal y prospectivo. Los datos etnobotánicos fueron recolectados por medio de entrevistas semiestructuradas a los vendedores del mercado municipal de la ciudad de Pilar, Dpto. Ñeembucu. Se realizaron 150 encuestas, y se entrevistaron a 15 vendedores, que no fueron diferenciados por sexo. Todos los informantes estaban comprendidos en la franja etaria de 30 a 50 años. Se realizaron además, observaciones de campo, apoyadas por los vendedores, que contribuyeron en la determinación de las especies, cuando existían dudas relacionadas con las características morfológicas y el hábitat.

Con las muestras obtenidas se preparó el herbario que fue depositado en la Sociedad Científica del Paraguay, cuyo acrónimo reconocido es SCP.

Se analizó además, la endemidad, es decir, si existen especies utilizadas como medicinales en la zona, pero no se emplean en otras regiones del país; este índice permite medir la importancia atribuida al uso de las plantas y el aislamiento de la población.

Para ello se siguió el criterio de Mesa-Jiménez (1996) representado en la siguiente fórmula:

$$IE = \frac{NE \cdot 100}{NTE}$$

IE: índice de endemidad.

NE: número de especies endémicas (no utilizadas en otras regiones del país).

NTE: número total de especies informadas como medicinales en la zona de estudio.

Los datos requeridos en las encuestas fueron: el nombre popular, la parte utilizada, la indicación de uso, el modo de preparación y aplicación. El material obtenido fue identificado usando claves morfológicas y micrográficas cuando era necesario.

Ubicación y características del sitio de estudio

La ciudad de Pilar es la capital del departamento de Ñeembucu, está ubicada a 26° 51' 12" S y 58° 18' 00" O, con una población de aproximadamente 32.000 habitantes. Es una de las ciudades que ha tenido poco desarrollo debido principalmente al aislamiento producto por el mal estado de los caminos de acceso a la comunidades del departamento y a la ciudad de Pilar.

La población está conformada mayoritariamente por criollos paraguayos; no existen etnias nativas asentadas en los alrededores de la ciudad y la población de inmigrantes es escasa. Si bien Pilar es la capital del departamento, y en ella está ubicado el Hospital Regional, los pobladores utilizan frecuentemente las plantas medicinales debido al poco acceso que tiene la población a la medicina alopática.

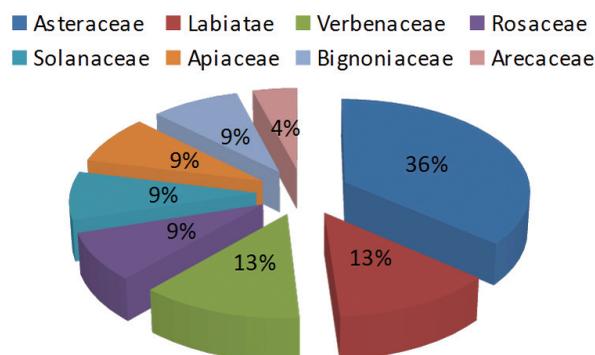
Resultados y discusión

Hasta el presente se identificaron 54 especies utilizadas para diversos fines medicinales, representadas por 32 familias y 50 géneros (Tabla 1).

Las familias mayormente representadas son Asteraceae, Labiatae, Verbenaceae, Rosaceae, Solanaceae (Gráfico 1), que constituyen el 46 % de las especies medicinales identificadas; Asteraceae es la familia con mayor representación, y coincide con los datos registrados en otras regiones del país (Basualdo y col., 2003; Pin y col., 2009), probablemente debido a las características de la familia

que le permite desarrollarse en distintos hábitats (Amoras Leão Roberta Braga y col., 2007). Además, el uso de especies de Asteraceae probablemente esté justificado por su composición química y algunas presentan actividad antimicrobiana y antiinflamatoria (Ming, 1995).

Gráfico 1.- Familias mejor representadas



La hoja es el órgano más utilizado como medicinal, seguido de la raíz y el rizoma, sus partes aéreas y la planta entera (Gráfico 2). Algunos autores (Almeida y col., 2009) han señalado que el contenido de principios activos puede ser similar entre la raíz y la hoja, y justifican el uso de uno u otro órgano.

Gráfico 2.- Órgano medicinal más frecuentemente utilizado

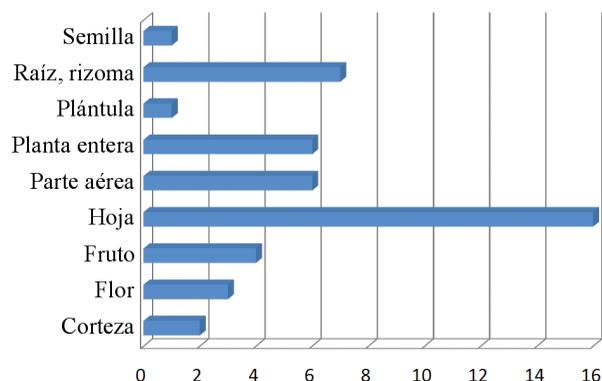


Tabla 1.- Lista de especies comercializadas

| Nombre común | Nombre científico | Familia | Uso |
|---------------------------------|---|------------------|---|
| Aguape puru'a | <i>Pistia stratiotes</i> L. | Araceae | Inflamación del hígado ("pya ruru"), refrescante. |
| Ambay | <i>Cecropia pachystachya</i> Trec. | Moraceae | Antitusivo, expectorante. |
| Arachichu | <i>Solanum</i> sp. | Solanaceae | Fuego de San Antonio, fiebre interna, dolor de garganta. |
| Calabacita | <i>Momordica charantia</i> L. | Cucurbitaceae | Antidiabético. |
| Canchalagua kokue | <i>Sisyrinchium</i> sp. | Iridaceae | Depurativo de la sangre. |
| Capii kati | <i>Scleria distans</i> Poir. | Cyperaceae | Para combatir las lombrices, remedio refrescante. |
| Cardo Santo | <i>Argemone mexicana</i> L. | Papaveraceae | Abortivo, contraceptivo. |
| Coco'i | <i>Acrocomia aculeata</i> Mart. | Arecaceae | Presión alta, diurético, desinflamante. |
| Cola de caballo | <i>Equisetum</i> sp. | Equisetaceae | Arenillas de las vías urinarias, para el riñón. |
| Corazón de India | <i>Annona muricata</i> L. | Annonaceae | Colesterol, adelgazante, relajante de la sangre, anticancerígeno. |
| Durazno azul | <i>Prunus pérsica</i> L. | Rosaceae | Dolor de garganta, granos, infecciones de la piel. |
| Falso tilo | <i>Heteropteris angustifolia</i> Griseb. | Malpighiaceae | Tranquilizante. |
| Jaguarete po | <i>Tithonia rotundifolia</i> (Mill.) SF. Blake | Asteraceae | Diabetes y colesterol. |
| Ka'a piky | <i>Parietaria debilis</i> Forst. | Urticaceae | Refrescante, diurético. |
| Llanten del campo | <i>Plantago tomentosa</i> Lam. | Plantaginaceae | Refrescante, antifebrífugo, dolor de garganta. |
| Mbarakaya nambi (oreja de gato) | <i>Dichondra repens</i> Forst. | Convolvulaceae | Dolor de garganta, fiebre, resfrío. |
| Menta | <i>Mentha</i> sp. | Labiatae | Para los nervios, dolor de corazón. |
| Ñuaty pyta | <i>Solanum sisymbriifolium</i> Lam. | Solanaceae | Diurético, antifebril, refrescante fuerte. |
| Palo amargo | | | Hipoglucemiante. |
| Perdudilla | <i>Gomphrena decumbens</i> Jacq. | Amaranthaceae | Refrescante, diurético. |
| Suico | <i>Tagetes minuta</i> L. | Asteraceae | Flatulencia, gastritis. |
| Suruvina | <i>Couepia grandiflora</i> (Mart. & Zucc.) Benth. | Chrysobalanaceae | Cáncer, hipoglucemiante. |
| Toro rati | <i>Acicarpa tribuloides</i> Juss. | Asteraceae | Amigdalitis, faringitis, problemas del riñón. |
| Turu tu'i | <i>Eryngium elegans</i> Cham & Schltldl. | Apiaceae | Digestivo, hepático. |
| Uña de gato | <i>Macfadiena</i> sp. | Bignoniaceae | Diurético, desinflamante. |
| Yatai | <i>Butia yatay</i> (Mart.) Becc. | Palmaceae | Energizante. |
| Ybyratai | <i>Pilocarpus pennatifolium</i> Lam. | Rutaceae | Colesterol avanzado. |
| Falso azafrán | <i>Carthamus tinctorius</i> L. | Asteraceae | Para la hepatitis. |
| Ajenjo | <i>Artemisia absinthium</i> L. | Asteraceae | Antidiabético. |
| Borraja | <i>Borago officinalis</i> L. | Boraginaceae | Antitusivo, expectorante. |
| Quebracho blanco | <i>Aspidosperma quebracho-blanco</i> Schlecht. | Apocynaceae | Digestivo, antipirético. Uso externo para lavado de heridas. |

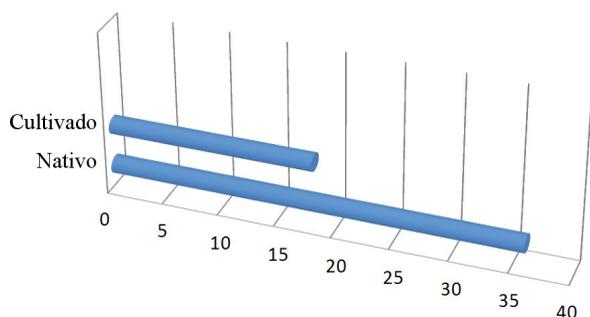
Tabla 1.- Lista de especies comercializadas (cont.)

| Nombre común | Nombre científico | Familia | Uso |
|-----------------|---|----------------|---|
| Ka'are | <i>Chenopodium ambrosioides</i> Cham. | Chenopodiaceae | Antiparasitario. |
| Sangreado | <i>Croton urucurana</i> Baill. | Euphorbiaceae | Cáncer. |
| Boldorã | <i>Plectranthus barbatus</i> Andrews | Labiatae | Digestivo. |
| Tarope | <i>Dorstenia brasiliensis</i> Lam. | Moraceae | Refrescante, antirreumático. |
| Romero | <i>Rosmarinus officinalis</i> L. | Labiatae | Afecciones cardíacas. |
| Yaguarete ka'a | <i>Baccharis trimera</i> Lam., <i>B. cylindrica</i> (Less.) DC. | Asteraceae | Digestivo, tónico amargo. |
| Burrito | <i>Aloysia polystachya</i> (Gris) Mold. | Verbenaceae | Digestivo. |
| Mita kuña rague | <i>Achillea millefolium</i> L. | Asteraceae | Emenagogo, diurético, antipirético. |
| Ruda | <i>Ruta graveolens</i> L. | Rutaceae | Emenagogo, abortivo. |
| Pata de buey | <i>Bauhinia forficata</i> L. | Fabaceae | Afecciones hepáticas, renales, hipoglucemiante. |
| Rosa mosqueta | <i>Rosa banksiae</i> Aiton | Rosaceae | Laxante, purgante. |
| Salviarã | <i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E. Br. | Verbenaceae | Antiespasmódico en dolores menstruales. |
| Hinojo | <i>Foeniculum vulgare</i> Willd. | Apiaceae | Diurético. |
| Ka'ahee | <i>Stevia rebusiana</i> (Bertoni) Bertoni | Asteraceae | Antidiabético. |
| Mburukuya | <i>Passiflora</i> sp. | Passifloraceae | Tranquilizante. |
| Cedron paragaay | <i>Aloysia tryphylla</i> (L'Herit) Britton | Verbenaceae | Tranquilizante. |
| Cedron kapii | <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Staph. | Poaceae | Afecciones del corazón, digestivo. |
| Teju ka'a | <i>Eupatorium</i> sp. | Asteraceae | Afecciones del corazón, antiparasitario. |
| Cambara | <i>Buddleja madagascariensis</i> Lam. | Buddlejaceae | Antitusivo, expectorante. |
| Cepa caballo | <i>Xanthium spinosum</i> L. | Asteraceae | Para infecciones de la garganta. |
| Hierba de pollo | <i>Alternanthera pungens</i> HBK | Amaranthaceae | Diurético, depurativo, combate el empacho de los niños. |
| Kamba aKa | <i>Guasuma ulmifolia</i> Lam. | Sterculiaceae | Antidiabético. |

El modo de empleo más frecuente es la infusión que se prepara principalmente con las hojas y las flores, ricas en componentes volátiles, aromas delicados y principios activos que se degradan por la acción combinada del agua y del calor (Almeida, 2009), mientras que la decocción es realizada con las cortezas, raíces, rizomas, es decir, todo órgano vegetal duro. La maceración en agua fría se utiliza para las plantas frescas y se consume en el tereré o como bebida refrescante.

Procedencia de las especies

El 67 % de las plantas mencionadas como medicinales provienen de su hábitat natural, mientras que solo el 33 % es cultivada (Gráfico 3), estos datos coinciden con los mencionados por Basualdo y Soria (2008), para la región oriental del Paraguay y probablemente se deba a que las plantas medicinales provenientes de otras regiones tienen técnicas conocidas para su cultivo, mientras que las nativas requieren

Gráfico 3.- Procedencia de las especies

un proceso de más tiempo para el conocimiento de sus características agronómicas de cultivo.

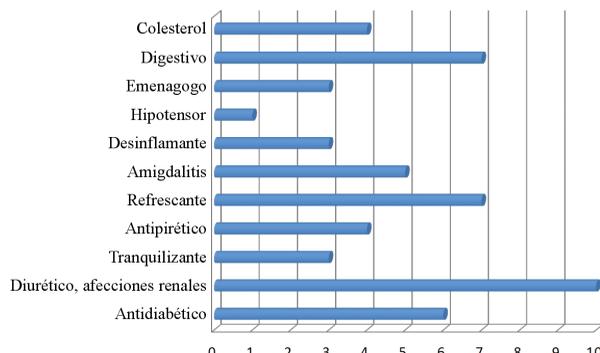
Índice de endemidad

Para determinar el índice de endemidad se utilizó el método sugerido por Mesa-Jiménez (1996). Este índice indica la importancia cultural del uso de plantas en la región y demuestra cómo el aislamiento de la población obliga a buscar alternativas para mejorar la salud utilizando otras especies que consideran medicinales en forma empírica, ya que no se informan sus usos en otras regiones del país.

Al analizar el listado de especies comercializadas (Tabla 1), se puede verificar la inclusión de especies no mencionadas en otras regiones del país (Basualdo y col., 2005; Pin y col., 2009; Vera, 2009) como “durazno azul” (*Prunus persica*), “yati” (*Butia yatai*), “kamba aka” (*Guasuma ulmifolia*), entre otras.

Número de especies y afecciones tratadas

No existe una sola especie medicinal utilizada para una afección específica; numerosas plantas son utilizadas para un mismo fin (Gráfico 4); así, las especies medicinales usadas para aumentar la diuresis y controlar las afecciones renales son las más numerosas, seguidas por las que se emplean para los problemas digestivos, los hipoglucemiantes y los refrescantes; estos datos coinciden con los mencionados por Basualdo y col. (2003) y Soria y Basualdo (2005). Es relevante mencionar que la población realiza el control de la natalidad utilizando especies medici-

Gráfico 4.- Número de especies utilizadas para tratar las diferentes afecciones

nales aunque no esté comprobada su eficacia para ese fin (Arenas y Moreno Azorero, 1977).

Conclusión

El uso de plantas medicinales sigue siendo la primera opción para numerosas afecciones, debido a la tradición misma y por la falta de acceso a los sistemas de salud. Cada afección mencionada tiene varias especies utilizadas en su tratamiento. Se informan, además, especies no mencionadas para su aplicación medicinal en otras regiones del país, que demuestra el aislamiento de la población, y obliga a buscar otras opciones de tratamiento. El origen de las especies sigue siendo su hábitat natural, muy pocas son cultivadas para su uso, probablemente por la falta de asistencia en lo referente a la agrotecnología de las especies nativas. Los datos relevados son referentes de los problemas de salud predominantes en el departamento y pueden contribuir a desarrollar estrategias para mejorar las condiciones sanitarias de la población de este departamento.

Referencias bibliográficas

- Almeida, N.F.L.; Silva, R.S.; De Souza, J.; Queiroz, A.P.; da S. Miranda; Oliveir, G; H. B. de (2009). “Ethnobotanic survey on medicinal plants in the city of Viçosa - MG”. *Rev. Bras. Farm.* 90(4): 316-320.

- Amoras, L.R.B.; Coelho Ferreira, M.R.; Gonçalves Jardim, M.A. (2007). "Levantamento de plantas de uso terapéutico no município de Santa Bárbara do Pará, Estado do Pará, Brasil". *Rev. Bras. Farm.* 88(1): 21-25.
- Arenas, P.; Moreno Azorero, R. (1977). "Plants of common used in Paraguayan folk medicine for regulating fertility". *Economic Botany* 31(3): 298-301.
- Basualdo, I., Soria, N. (1996). "Farmacopea Herbolaria Paraguaya: Especies de la Medicina Folklórica Utilizadas para Combatir las Afecciones Respiratorias". *Rojasiana* 3(2): 177-245.
- Basualdo, I.; Soria, N.; Ortíz, M.; Degen, R. (2003). "Uso Medicinal de Plantas Comercializadas en los Mercados de Asunción y Gran Asunción". *Revista de la Sociedad Científica del Paraguay*. Vol. 14: 5-22.
- Basualdo, I.; Soria, N.; Ortíz, M.; Degen, R. (2004). "Plantas Medicinales Comercializadas en los Mercados de Asunción y Gran Asunción". *Rojasiana* 6(1): 95-114.
- Basualdo, I.; Soria, N. (2008). *Estudio de la situación de la recolección, producción y comercialización de plantas medicinales y aromáticas de Paraguay. Informe Final*. Fundación José Carding. 110 pp.
- Degen, R.; Soria, N.; Ortíz, M.; Basualdo, I. (2005). "Problemática de Nombres Comunes de Plantas Medicinales Comercializadas en Paraguay". *Dominguezia* 21 (1): 11-16.
- González Torres, D. (1992). *Catálogo de Plantas Medicinales (alimenticias y útiles) utilizadas en Paraguay*. Asunción, Paraguay, 451 pp.
- Mesa-Jiménez, S. (1996). "Algunos Elementos para el Análisis Numérico de los Datos en Et-nobotánica". *Monograf. Jard. Bot. Córdoba* 3: 69-73.
- Ming, L.C. (1995). *Levantamento de plantas medicinais na Reserva Extrativista Chico Mendes. Acre*. Universidade Estadual Paulista, 180 pp.
- Pin, A.; González, G.; Marín, G.; Céspedes, G.; Cretton, S.; Christen, P.; Roguet, D. (2009). *Plantas Medicinales del Jardín Botánico de Asunción*, 441 pp.
- Soria, N.; Basualdo, I. (2005). *Las especies medicinales de la Comunidad de Kavayu Cangue, aazapa', Paraguay*, 100 pp.
- Vera, M. (2009). *Plantas medicinales de tres áreas silvestres protegidas y su zona de influencia en el sureste de Paraguay*. Fundación Moisés Bertoni, Asunción, 60 pp.

Estudio morfoanatómico de dos especies de *Myrcianthes* de las yungas, Jujuy (Argentina)

Raquel A. Romeo^{1*}, Alberto A. Gurni²

¹ Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy. Alberdi 47. (4600) San Salvador de Jujuy, República Argentina.

² Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. (6000) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: raquelangela2000@yahoo.com

Resumen

Myrcianthes pungens (O. Berg) D. Legrand y *Myrcianthes pseudomato* (D. Legrand) McVaugh crecen en el estrato superior del distrito de las selvas montañas de la provincia fitogeográfica de las yungas, en Jujuy. Ambas especies son utilizadas en medicina tradicional. El objetivo de este trabajo es aportar datos macro y microscópicos que permitan su diferenciación al realizar control de calidad botánico. El material coleccionado se comparó bajo la lupa y se empleó bibliografía botánica adecuada para su identificación. La técnica empleada para el estudio anatómico de las hojas fue disociado leve (tratamiento con NaOH al 5 % a 100 °C durante 5 minutos). *Myrcianthes pungens* presenta hojas simples, opuestas, elíptico-lanceoladas, con ápice espinescente, discoloras, escasamente pubescentes en el envés, de bordes lisos; las células epidérmicas son de contorno sinuoso, estomas de tipo anomocítico, pelos tectores simples unicelulares, cavidades esquizolisígenas. *Myrcianthes pseudomato* presenta hojas simples, opuestas, ovado-oblongas, acuminadas, con ápice no espinescente, consistencia cartácea, bordes algo ondulados, glabras; células epidérmicas de contorno sinuoso, estomas de tipo anomocítico, cavidades esquizolisígenas. Se puede concluir que *M. pungens* presenta hojas con leve pubescencia en la cara inferior, con ápice espinescente y bordes lisos, y *M. pseudomato*, hojas glabras, con ápice acuminado no espinescente y bordes algo ondulados. El análisis micrográfico muestra que la presencia de pelos tectores simples unicelulares en *M. pungens* es el carácter diagnóstico más relevante que permite diferenciar ambas especies.

Morphoanatomical Study of Two Species of *Myrcianthes* of the Yungas, Jujuy (Argentina)

Summary

Myrcianthes pungens (O. Berg) D. Legrand and *Myrcianthes pseudomato* (D. Legrand) McVaugh, mountains of the phytogeographic province of the Yungas grow in the superior layer of the District of the Mountainous

Palabras clave: micrografía - Myrtaceae - árboles.

Key words: micrography - Myrtaceae - trees.

Forests, in Jujuy. Both species are used in traditional medicine. The objective of this work it is to contribute microscopic data macro and that they allow to its differentiation when making botanical control of quality. The collected material was compared under the magnifying glass and suitable botanical bibliography for its identification was used. The technique used for the anatomical study of the leaves was dissociated slight (treatment with NaOH to 5% to 100°C during 5 minutes). *Myrcianthes pungens* it presents simple, opposite, elliptical-lanceolate, with spinous apex, colourless, barely pubescent leaves in the inferior face, of smooth margin; the epidermical cells of sinuate contour, stomata are ranunculaceous type, unicellular, simple hairs, secretory cavities. *Myrcianthes pseudomato* (D. Legrand) McVaugh it presents simple, opposite, oval-oblong leaves, acuminate, with non-spinous apex, paper consistency, undulated margin, glabrous; the epidermical cells of sinuate contour, stomata are ranunculaceous type, secretory cavities. It is possible to be concluded that *M. pungens* it presents leaves with slight pubescent in the inferior face, acuminate, with spinous apex and smooth margin and *M. pseudomato* it presents glabrous leaves, with non-spinous apex, and undulated margin. Micrographic analysis shows that the presence of unicellular, simple hairs in *M. pungens* it is the character diagnosis more excellent than it allows to differentiate both species.

Introducción

Myrcianthes pungens (O. Berg) D. Legrand, pertenece a la familia Myrtaceae; es conocida como “arrayán”, “mato”, “mato blanco”, “guabiyú”, “guaviju”, “guabirá”, “guiti-guili”, “ibaviyú”. Habita en Brasil, Paraguay, Uruguay y, en la Argentina, se encuentra en las provincias de Catamarca, Tucumán, Salta, Jujuy, Chaco, Formosa, Corrientes, Entre Ríos, Misiones, Santa Fe.

Myrcianthes pseudomato (D. Legrand) McVaugh, pertenece a la familia Myrtaceae; es conocida como “arrayán negro”, “laurel”, “alpa mato”, “guili”, “guili blanco”, se encuentra al sur de Bolivia y al noroeste de la Argentina, en las provincias de Jujuy, Salta y Tucumán.

M. pungens y *M. pseudomato* crecen en Jujuy, en el estrato superior del distrito de las selvas montanas de la provincia fitogeográfica de las yungas. Las hojas de *M. pungens* son empleadas como tónico, astringente y diurético (Barboza y col., 2009) y las hojas de *M. pseudomato* se emplean en medicina tradicional para afecciones renales.

El objetivo de este trabajo es aportar datos macro y microscópicos que permitan su diferenciación al realizar control de calidad botánico.

Materiales

Los materiales estudiados comprenden ejemplares y material de herbario de referencia de acuerdo con el detalle que se presenta a continuación.

Myrcianthes pungens (O. Berg.) D. Legrand. Argentina, Tucumán, Yerba Buena, Reserva de flora y fauna de Horco Molle UNT 800 m s.n.m., Ponessa G., Duplicado, 9869 18/XI/1999 (BAF); Salta, maíz Gordo, Devoto, F. y R. Alberti 4045 Duplic. Ex herbario dirección forestal 1767, XII/1938 (BAF); Jujuy, Dpto. Manuel Belgrano, Ocloyas, Gaspar, S., Durán, A. y Romeo, R.A. 575, 28/X/2010 (BAF); Jujuy, Dpto. Ledesma, Calilegua, Toma del Arroyo del Medio, Cabrera, A.L. et al 32207, 22/XI/1980 (JUA).

Myrcianthes pseudomato (D. Legrand) Mc Vaugh, Jujuy, Dpto. Dr. Manuel Belgrano, Tilquiza, Romeo, R. A. y A. Durán 649, 12/VI/11 (BAF); Jujuy, Dpto. Dr. Manuel Belgrano, Tiraxi, Rotman, A. 1240, 30/XI/1998 (JUA); Jujuy, Dpto. Ledesma, Parque Nac. Calilegua, Abra de Cañas, Cabrera, A.L. et al. 32127, 19/XI/1980 (JUA).

Métodos

Se realizó la determinación botánica según los caracteres exomorfológicos de los ejemplares coleccionados mediante el uso de lupa binocular y se tuvo en cuenta la bibliografía botánica específica (Legname, 1982; Rotman, 1979; Rotman, 1986). Se actualizaron los nombres botánicos de acuerdo con la bibliografía actualizada (IBODA, 2009).

La técnica empleada para el estudio anatómico de las hojas fue disociado leve (tratamiento con NaOH al 5 % a 100 °C durante 5 minutos).

Resultados

Myrcianthes pungens (O. Berg) D. Legrand

Caracteres exomorfológicos

Árbol de hasta 20 m de altura, corteza caediza, lisa, grisácea, algo rojiza. Hojas simples, opuestas, pecioladas; láminas elíptico lanceoladas, acuminadas, ápice espinescente, coriáceas, discoloras: verde oscuro en el haz y más clara y escasamente pubescente en el envés. Flores hermafroditas, tetrámeras, solitarias o dispuestas en racimos paucifloros, blancas. Estambres numerosos, exertos. Gineceo ínfero. Estilo pubescente. Fruto baya globosa comestible, con restos de cáliz y estilo persistentes en el ápice, de color morado oscuro a la madurez, generalmente una semilla reniforme de color castaño (Figura 1).

Figura 1.- *Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand. Aspecto general

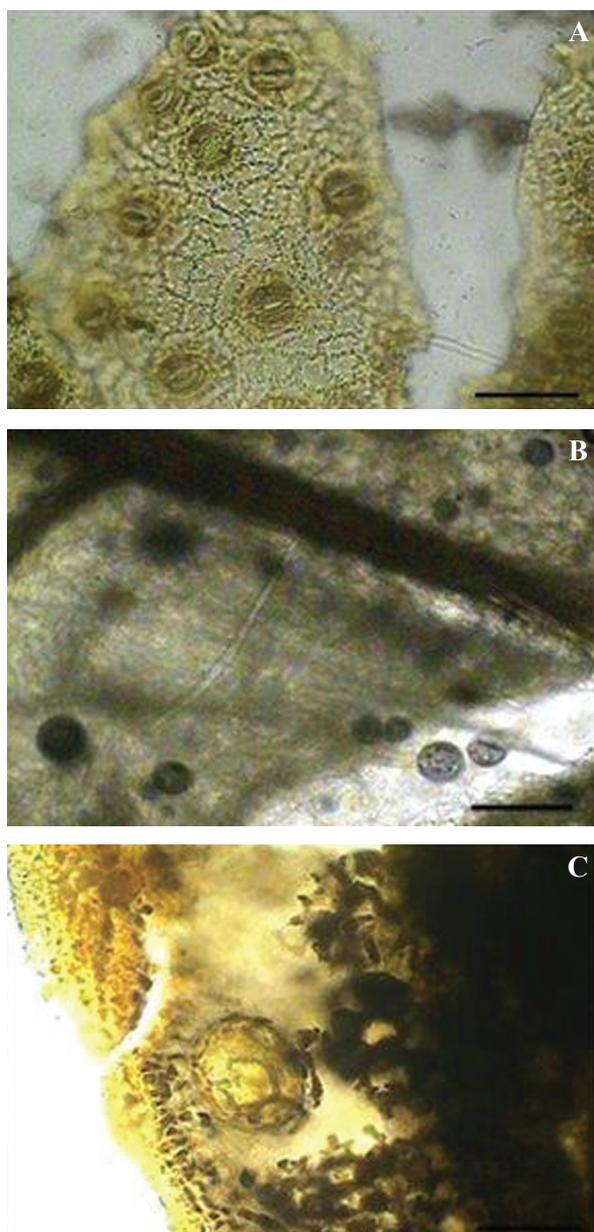


Foto extraída de *Tropical Fruit Seeds* <<http://tropical-fruitseeds.com>>

Caracteres anatómicos

Células epidérmicas de contorno sinuoso, estomas de tipo anomocítico (ranunculáceo), escasos pelos tectores simples unicelulares en epidermis abaxial. Presenta cavidades esquizolisígenas (Figura 2).

Figura 2.- Características anatómicas de *M. Pungens*



A: células epidérmicas, paredes de contorno sinuoso. Estomas anomocíticos; **B:** pelo tector simple unicelular; **C:** cavidad secretora esquizolisígena.

Myrcianthes pseudomato* (D. Legrand) Mc VaughCaracteres exomorfológicos*

Árbol inerme de hasta 10 m de altura; corteza caediza de color gris claro, con manchas castañas. Hojas simples, opuestas, pecioladas glabras; láminas ova-do-oblongas, acuminadas en el ápice, de color verde más brillante en el haz que en el envés; consistencia cartácea, bordes apenas ondulados. Flores hermafroditas, tetrámeras, dispuestas en dicasios 3-floros (raro unifloros), con la flor central sésil y las laterales pediceladas de color blanco. Estambres numerosos, exertos. Gineceo ínfero. Estilo glabro. Fruto baya subglobosa con restos de cáliz persistentes en el ápice, de color negro a la madurez; generalmente una semilla de color castaño (Figura 3).

Figura 3.- *Myrcianthes pseudomato* (D. Legrand) Mc Vaugh

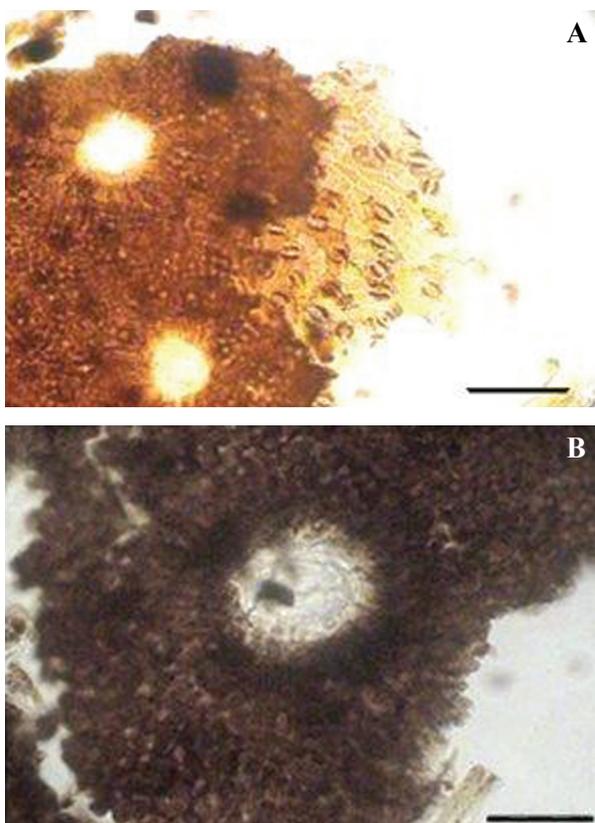


Foto extraída de *Encyclopedia of Life* <<http://eol.org>>

Caracteres anatómicos.

Células epidérmicas de contorno sinuoso, estomas de tipo anomocítico (ranunculáceo). Presenta cavidades esquizolisígenas (Figura 4).

Figura 4.- Caracteres anatómicos de *M. pseudomato*



A: células epidérmicas, paredes de contorno sinuoso. Estomas anomocíticos; **B:** cavidad secretora esquizolisígena.

Discusión y conclusiones

El análisis micrográfico, para ambas especies, muestra la presencia de cavidades secretoras que constituyen un carácter de valor diagnóstico para la familia Myrtaceae, las que fueron estudiadas por Metcalfe y Chalk (1950), analizadas por Fahn (1979) y Bouvat (1989) y citadas por Cortadi y col. (1996), quienes citan la presencia de pelos tectores simples unicelulares en epidermis abaxial para *Myrcianthes pungens* aunque en el material analizado esta presencia fue escasa. Las paredes de contorno sinuoso en *Myrcianthes pseudomato* coincide con lo descrito por Arambarri y col. (2009).

Tabla 1.- Cuadro de caracteres exomorfológicos y anatómicos de las hojas de *Myrcianthes pungens* y *Myrcianthes pseudomato*

| Caracteres | <i>Myrcianthes pungens</i> | <i>Myrcianthes pseudomato</i> |
|-----------------|---|--|
| Exomorfológicos | Simples, opuestas, elíptico-lanceoladas, discoloras escasamente pubescentes en el envés. Bordes lisos. Ápice espinescente. | Simples, opuestas, ovado-oblongas, acuminadas. Glabras. Consistencia cartácea. Bordes algo ondulados. Ápice no espinescente. |
| Anatómicos | Células epidérmicas de contorno sinuoso. Estomas de tipo anomocítico. Pelos tectores simples unicelulares. Cavidades esquizolisígenas. | Células epidérmicas de contorno sinuoso. Estomas de tipo anomocítico. Cavidades esquizolisígenas. |

Se puede concluir que *M. pungens* presenta hojas con leve pubescencia en la cara inferior, con ápice espinescente y bordes ondulados y *M. pseudomato* hojas glabras, ápice acuminado no espinescente y bordes lisos. El análisis micrográfico muestra que la presencia de pelos tectores simples unicelulares en *M. pungens* es el carácter diagnóstico más relevante que permite diferenciar ambas especies (Tabla 1).

Referencias bibliográficas

- Arambarri, A.M.; Freire, S.; Bayón, N.; Colares, M.N.; Monti, C.; Novoa, M.C.; Hernández, M.P. (2009). "Morfoanatomía foliar de árboles medicinales de la provincia biogeográfica de las Yungas (Argentina)". *Bol. Latinoam. Caribe Plant Med Aromat* 8(5): 342-379.
- Barboza, G.E.; Cantero, J.J.; Núñez, C.; Pacciaroni, A.; Ariza Espinar, L. (2009). "Medicinal Plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora". *Kurtziana* 34(1-2). Volumen especial: Plantas Medicinales: 7-365.
- Bouvat, R. (1989). *Ontogeny, all differentiation and structure of vascular plants*. Springer-Verlag. Berlin: 482-55.
- Cortadi, A.; Di Sapio, O.; Gattuso, M. (1996). "Caracteres anatómicos de Tres Especies Medicinales de la Familia Myrtaceae". *Acta Farm. Bonaerense* 15(2): 109-23.
- Fahn, A. (1979). *Secretory tissues in plants*. Academic Press. Londres: 176-178.
- IBODA. (2009). Instituto de Botánica Darwinion. Base de datos. Flora del Cono Sur. [En línea] <<http://www2.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina>> [Consulta: agosto de 2013].
- Legname, P.R. (1982). *Árboles indígenas del noroeste argentino (Salta, Jujuy, Tucumán, Santiago del Estero y Catamarca)*. Fundación Miguel Lillo. San Miguel de Tucumán.
- Metcalfe, C.R.; Chalk, L. (1950). *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. 11. Clarendon Press, Oxford: 620-631.
- Rotman, A. (1979). "Las especies argentinas del género *Myrcianthes* (Myrtaceae)". *Darwiniana* 22(1-3): 109-123.
- Rotman, A. (1986). "Las especies de Myrtaceae del noroeste argentino". *Darwiniana* 27(1-4): 521-524.

Dominguezia

Índice acumulado

Dominguezia 29(1) 2013

Editorial. Micrografía analítica y la farmacobotánica (MARTHA GATTUSO)

Caracteres morfoanatómicos y micrográficos de la corteza de *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) (OSVALDO A. DI SAPIO Y MARTHA A. GATTUSO)

Parámetros micrográficos para la identificación de hojas, corteza y leño de *Picrasma crenata* (Vell.) Engl. (Simaroubaceae) (MARÍA N. CAMPAGNA, OSVALDO DI SAPIO Y MARTHA GATTUSO)

Caracteres micrográficos analíticos de hojas, tallos, inflorescencias-flores de *Tagetes lucida* Cav. (Asteraceae - Helenieae) (MARÍA L. MARTÍNEZ, GABRIEL BETTUCCI, MARTHA GATTUSO, ADRIANA CORTADI)

Estandarización micrográfica de especies de *Baccharis* L. (Asteraceae) (MARÍA V. RODRÍGUEZ, SUSANA J. GATTUSO Y MARTHA A. GATTUSO)

Dominguezia 29(2) 2013

Editorial. Las plantas medicinales en Latinoamérica (MARTHA GATTUSO)

Características de identidad y pureza de las hojas de *Litsea guatemalensis* Mez. (Lauraceae) (MARÍA E. CHICAS, MARÍA E. PAREDES, MARGARITA PAZ Y ARMANDO CÁCERES)

Morfoanatomía de las hojas de *Lantana camara* L. (Verbenaceae), especie medicinal popularmente usada en Guatemala (SONIA E. CASTELLANOS, MARÍA L. FLORES, SHAROL S. REINOSO, ARMANDO CÁCERES Y MARÍA E. PAREDES)

Caracteres farmacognósticos para el control de calidad de *Petiveria alliacea*, *Lippia graveolens* y *Tagetes lucida* (BONIER M. GARRIDO, SINDY C. POLANCO, ISABEL C. GAITÁN, ARMANDO CÁCERES Y MARÍA E. PAREDES)

Estudio anatómico de *Baccharis grisebachii* Hieron. (Asteraceae). Usada en la medicina tradicional de la Provincia de San Juan, Argentina (MARTÍN HADAD, SUSANA GATTUSO, MARTHA GATTUSO, GABRIELA FERESIN Y ALEJANDRO TAPIA)

Dominguezia 30(1) 2014

Anatomía comparada de raíces medicinales de hierbas terrestres rioplatenses (Buenos Aires, República Argentina) (MARTA N. COLARES, MARCELO P. HERNÁNDEZ, MARÍA C. NOVOA, VANESA G. PERROTTA, SILVANA AUGUET Y ANA MARÍA ARAMBARRI)

Relación entre actividad antioxidante y contenido de fenoles y flavonoides totales en semillas de *Cucurbita* spp. (GABRIELA M. VALENZUELA, ALICIA L. CRAVZOV, ADRIANA S. SORO, ALICIA L. TAUGUINAS, MARÍA C. GIMÉNEZ Y MABEL R. GRUSZYCKI)

Control de calidad farmacobotánico y fitoquímico de *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) (LAURA V. VIVAS LEGUIZAMÓN, MARCELO L. WAGNER Y RAFAEL A. RICCO)

Identificación de C-glicosilflavonas por HPLC y FTIR en extractos acuosos y metanólicos de *Passiflora coerulea* y *P. foetida* (Passifloraceae) (MARTA E. PETENATTI, MARÍA A. GETTEL, MARIANA C. POPOVICH, MARÍA F. GARRO, GERARDO CAMÍ, LESLIE ARAGÓN, LUIS A. DEL VITTO Y ELISA M. PETENATTI)

Caracteres anatómicos, morfofuncionales y químicos de *Senecio subpanduratus* (Asteraceae) (ADRIANA GRATTI, MABEL S. FEIJÓO, ELIZABETH A. BARRIENTOS, ROXANA B. PENEFF Y EVANGELINA LAZTRA)