

Aspectos anatómicos de la corteza de “espino cervical” (*Rhamnus cathartica* L.). Perfil fitoquímico de corteza y frutos

Karina A. Borri, Alberto A. Gurni y Beatriz G. Varela*

Cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA), Junín 956 4° piso (1113), Buenos Aires, Argentina.

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

Resumen

La corteza de “espino cervical” (*Rhamnus cathartica* L. –Rhamnaceae–) es utilizada, al igual que sus frutos, en medicina tradicional por sus propiedades laxantes. Los estudios anatómicos de esta especie son escasos y se han encontrado además, una serie de compuestos en la corteza diferentes de los de los frutos. Se decidió encarar un análisis micrográfico en muestras comerciales de corteza de “espino cervical”. La anatomía no coincidió con lo descrito en la bibliografía para esta especie y se planteó la hipótesis de si la variación está en relación con la edad de la planta. Se analizaron cortezas jóvenes y adultas de la planta y además se comparó, mediante un perfil fitoquímico, la composición de las cortezas y de los frutos. Según los resultados, se observó la presencia de grupos de esclereidas en las cortezas adultas, no descritas hasta el momento en la bibliografía. Se encontraron además, diferencias cuantitativas en la composición química de las cortezas jóvenes y adultas, y cualitativas entre las cortezas y los frutos. Se establecen, por lo tanto, características anatómicas y fitoquímicas importantes que se deben tener en cuenta para realizar la autenticación y el control de calidad de la especie en cuestión.

Anatomical features of the “buckthorn” bark (*Rhamnus cathartica* L.). Phytochemical profile of bark and fruits

Summary

The bark of “buckthorn” (*Rhamnus cathartica* L. –Rhamnaceae–) is used, like their fruits, in folk medicine due to their cathartic properties. Anatomical studies of this species are scarce and a series of compounds in the bark different from those in the fruits were also found. A micrographic analysis in commercial samples of “buckthorn” bark was decided. Anatomical data did not match as described in the bibliography for this species and a variation due the plant age was hypothesized. Young and adult barks of the plant were analyzed and the composition of barks and fruits were also compared by means of a phytochemical profile. According to the results, the presence of sclereid groups in the adult barks not previously described in bibliography was observed. Quantitative differences in the chemical composition between young and adult barks and qualitative between the barks and the fruits were also found. It is therefore established, important anatomical and phytochemical characteristics to take into account for the authentication and quality control of the studied species.

Palabras clave: anatomía - corteza - espino cervical - *Rhamnus* - Rhamnaceae.

Key words: Anatomy - bark - buckthorn - *Rhamnus* - Rhamnaceae.

Introducción

Rhamnaceae Juss., orden Rhamnales, comprende alrededor de 52 géneros con aproximadamente 925 especies. Es una familia cosmopolita, bien representada en las regiones tropicales. Comprende arbustos o árboles pequeños, a menudo espinosos, deciduos o perennes, y también algunas lianas y hierbas. Las hojas son simples, alternas u opuestas, estipuladas; las flores son pequeñas, actinomorfas, dispuestas en inflorescencias básicamente cimosas; los frutos son secos, dehiscentes o indehiscentes, o más o menos carnosos (Escalante, 1946; Metcalfe y Chalk, 1972; Medan y Schirarend, 2004).

Su taxonomía y morfología general han sido tratadas por varios autores. La familia fue inicialmente fragmentada en cinco tribus y en una de ellas, *Rhamneae*, se ubicaba el género *Rhamnus*. Posteriormente, se revisó la clasificación de tribus sobre la base del análisis filogenético y de secuencias genómicas y se establecieron 11 tribus, y quedó *Rhamneae* con 13 géneros, incluido *Rhamnus* (Richardson y col., 2000).

Dentro de *Rhamnus* se distinguían cuatro subgéneros: *Pseudofrangula*, *Frangula*, *Eurhamnus* y *Sciadophila*, diferentes en la estructura de los frutos y de las semillas. Más tarde, solo se reconocieron dos subgéneros: *Rhamnus* y *Oleoides*. El subgénero *Rhamnus* se dividió en las secciones *Alaternus* y *Leptophyllius*, y esta última en dos subsecciones: *Espina* y *Cervispina* (Wolf, 1938; Brizicky, 1964; Martínez Solís, 1998). El género *Rhamnus* incluye 100 especies cuyas hojas presentan gran variabilidad y los frutos son drupas sincárpicas, glabras o pubescentes, negras o rojas y que contienen de 2 a 4 pirenos cartilagosos, uniseminados. Dentro del género hay especies con reconocidas propiedades laxo-purgantes debido al contenido en heterósidos antracénicos. La actividad de estos compuestos reside en la aglicona, que aumenta el peristaltismo y estimula la musculatura intestinal (San Martín Casamada, 1968).

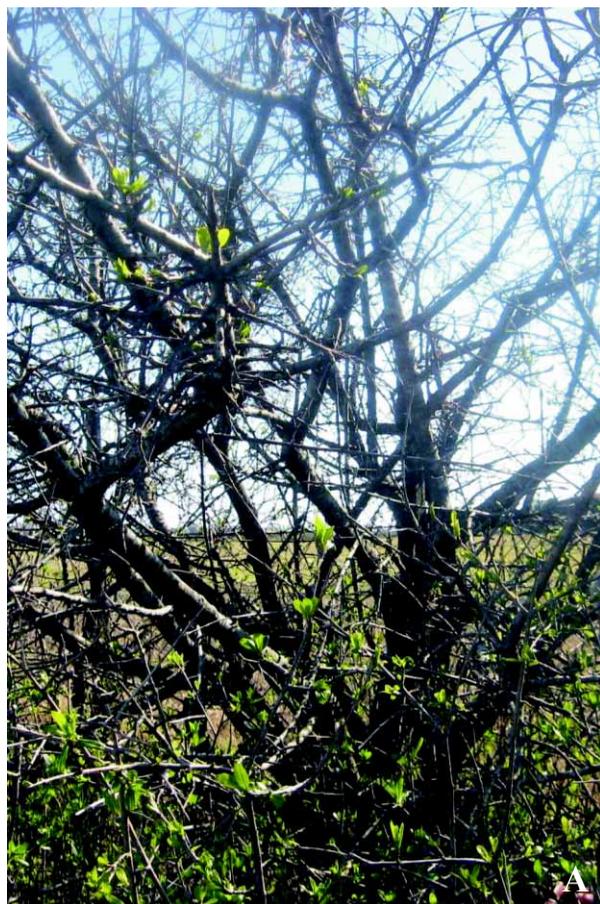
En la Argentina crecen 13 géneros de Rhamnaceae con 27 especies, 4 de ellas endémicas. El género *Rhamnus* está representado por *Rhamnus cathartica* (“espino cervical”), naturalizado en el delta del Río Paraná (Buenos Aires y Entre Ríos) y en la ribera del Río de la Plata (Ciudad de Buenos Aires), y *Rhamnus sphaerosperma* Sw. var. *pubescens* (Reissek) M.C. Johnst. (“picantillo”) nativa en Jujuy,

Misiones, Salta y Tucumán. Los caracteres diferenciales entre las dos especies son: las hojas caducas, membranáceas y las drupas generalmente con 2 carozos en *R. cathartica*, y las hojas persistentes, subcoriáceas y drupas con 3 carozos en *R. sphaerosperma* var. *pubescens* (Tortosa, 1995; 1999). *R. cathartica* es un arbusto o arbolito dioico de 2 a 6 metros de altura, con ramas terminadas en espinas; hojas opuestas, elípticas, glabras; flores unisexuales, tetrámeras, en fascículos axilares paucifloros y frutos drupáceos, esféricos, negros o negro-azulados, de aproximadamente 8 mm de diámetro, generalmente con 2 pirenas uniseminadas (Figuras 1A-D) (Cabrera, 1965; Cabrera y Zardini, 1978).

Con referencia a la nomenclatura botánica, Linneo –el descriptor de la especie– la llamó *R. catharticus*, y así figura en muchas publicaciones. Sin embargo, según el Código Internacional de Nomenclatura Botánica el epíteto específico cuando adopta la forma de adjetivo concuerda gramaticalmente con el nombre genérico. Tradicionalmente los nombres de árboles fueron tratados como femeninos y así retienen ese género gramatical. Por eso se propuso el epíteto específico *cathartica* en vez de *catharticus* (CINB, 2002; IPNI, en línea, 2010).

Los frutos del “espino cervical” eran ya oficiales en la *London Pharmacopeia* de 1650 donde se describía la concentración de los principios activos en las semillas. Figuraron y figuran en varias de las Farmacopeas europeas. En la Farmacopea Nacional Argentina (FNA) figuró el Extracto de frutos de Espino cervical en varias ediciones (FNA Ed., 1921; III Ed., 1943; IV Ed., 1956 y V Ed., 1966). También se hace referencia al uso y a los principios activos de sus frutos en diversos tratados de Farmacognosia y de Farmacia (Hager, 1942; Youngken, 1958; Wallis, 1966; Paris y Moyse, 1967; Claus y Tyler, 1968; San Martín Casamada, 1968; Evans, 1989; Wichtl, 1989; Bruneton, 1991). La actividad de la droga es laxante a dosis moderadas, anti-helmíntica o vermífuga y diurética. La acción purgante no es inmediata sino que se manifiesta entre las seis y las siete horas posteriores a su ingestión. Debe ser administrada con cuidado ya que a dosis elevadas produce cólicos graves, vómitos y hemorragias digestivas. El uso continuado no es recomendable porque puede alterar la mucosa intestinal y provocar pérdida de electrolitos. Está contraindicada

Figura 1.- *R. cathartica*



A: ejemplar adulto; **B:** rama joven con hojas; **C:** rama con espinas; **D:** frutos; **E:** muestra comercial de corteza de espino cervical (Escala: 1 cm).

en embarazo, lactancia, menstruación, hemorroides, colon irritable e insuficiencia renal o cardíaca (Espino cervical, en línea, 2010; Remington y col., 1918). Los frutos son también usados como laxantes en la práctica veterinaria (Metcalf y Chalk, 1972).

Es además, una especie muy invasora que suele crecer junto con otras Rhamnaceae con similares propiedades. En muchos lugares es intensamente combatida ya que se comprobó que produce el detrimento de especies nativas y compite agresivamente por los recursos debido a su rápido crecimiento y reproducción. Los frutos muy posiblemente son alelopáticos, es decir, que tendrían la habilidad de inhibir o impedir el crecimiento de otras plantas directa o indirectamente por la liberación de compuestos al medio. Se ha sugerido que hasta pueden alterar la fertilidad del suelo. Además, la dispersión de las semillas se ve favorecida por pájaros frugívoros que consumen sus frutos (Vincent, 2006).

En cuanto a la corteza de espino cervical, en algunas fuentes bibliográficas se menciona su uso como laxante en medicina popular y además, como diurético y vermífugo. En trabajos de investigación fitoquímicos se ha demostrado la presencia de compuestos antracénicos también en la corteza, y algunos de los compuestos hallados no están presentes en los frutos de la misma planta.

Se la señala a veces como adulterante o sustituto de otras cortezas medicinales de *Rhamnus* (Remington y col. 1918; Wallis, 1966; Paris y Moyse, 1967; Wagner y col., 1984; Evans, 1989), y en consecuencia, han surgido trabajos preliminares comparativos (Borri y col., 2007). También se menciona la decocción de la corteza seca para tratar el acné, e incluso en Europa existen suplementos dietarios a base de la corteza para restaurar la función intestinal y regular la evacuación. Se señala la importancia de utilizar la corteza añeja y seca donde los niveles de compuestos irritantes del tracto digestivo están disminuidos con respecto a la corteza fresca (Duke, 1998; Espino cervical, en línea, 2010).

La corteza de *R. cathartica*, en general, ha sido poco estudiada desde el punto de vista anatómico. En virtud a la mención de su uso en medicina tradicional en forma directa o como sustituto y a la presencia en el comercio de muestras de esta especie, se decidió encarar un estudio más exhaustivo por medio de un análisis micrográfico farmacobotánico. Por otro lado, también se comparó el perfil fitoquímico de la corteza con el de los frutos me-

dante un ensayo sencillo para caracterizar antraquinonas. El objetivo de este trabajo es establecer caracteres diagnósticos que aporten al control de calidad de la droga, especialmente en muestras trozadas.

Materiales y métodos

Materiales

Para el estudio anatómico se emplearon: a) muestras comerciales de cortezas de “espino cervical”, secas, trozadas de diversas formas y de grosores variables; b) cortezas frescas obtenidas del tronco y de ramas recolectadas a campo y c) ejemplares desecados de herbario.

La corteza fresca se recolectó de árboles de *R. cathartica* que crecen a un lado de la Ruta 46 en la entrada de la localidad de Bragado (Provincia de Buenos Aires). En el lugar se encuentran ejemplares jóvenes con apariencia arbustiva y ejemplares adultos de 2 a 3 m de altura. Se recolectaron ramas laterales de 1 a 2,5 cm de diámetro que llevaban hojas y algunas, hojas y frutos. También fueron colectados trozos de corteza del tronco principal que presentaba un diámetro a la altura del pecho (DAP) entre 8 y 9 cm. Parte del material recolectado se fijó en solución FAA (formol-ácido acético-alcohol etílico 96°-agua) (10:5:50:35). Los materiales estudiados se encuentran en la Cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA).

Los ejemplares de herbario consultados provinieron del Instituto de Botánica Darwinion (SI) y del Museo de Farmacobotánica “Juan A. Domínguez” (BAF), Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA) y se utilizaron como material de referencia para la identificación. Los herbarios se citan conforme a las siglas establecidas en el Index Herbariorum (Holmgren y col., 1990). Los datos de las *exsiccata* son los siguientes:

- Buenos Aires, San Fernando. Leg. Hicken s/n. 07/06/1908. (SI).
- Buenos Aires, San Isidro, bosquecillo ribereño. Leg. J.F. Molfino y J.L. Amorín. 04/05/1957. (BAF 7108).
- Buenos Aires, Facultad de Agronomía y Veterinaria. Leg. A.A. García N° 4338. 16/12/1969. (BAF).
- Buenos Aires, San Isidro. Leg. J.L. Amorín. 12/10/1954. (BAF 7087).

-Buenos Aires, San Isidro. Leg. J.L. Amorín N° 130. 16/02/1966 (BAF).

-Buenos Aires, Costa de San Isidro. Leg. J.F. Molfino s/n. XI/1944. (BAF).

Métodos

Las muestras trozadas se observaron bajo lupa estereoscópica Carl Zeiss y se describieron sus caracteres exomorfológicos. De las ramas colectadas se obtuvo cuidadosamente la zona cortical, y junto con la corteza del tronco grueso se examinaron bajo lupa y se describieron. Parte del material de las cortezas se redujo a polvo para la observación microscópica, fundamentalmente de almidón con luz polarizada.

Se realizaron disociados leves de las cortezas por calentamiento con una solución de hidróxido de sodio 5% durante 15 minutos, posteriores lavados con agua destilada, filtrado y conservación en alcohol etílico 70° (IRAM, 1998).

Otras porciones de corteza fueron ablandadas durante 10 minutos en agua a ebullición y se obtuvieron secciones transversales y longitudinales con micrótopo de deslizamiento. Luego se vació el contenido celular con una solución de hipoclorito de sodio 50%, se practicó doble tinción con safranina-fast green y los preparados se montaron con Bálsamo de Canadá Biopack (Dizeo de Strittmatter, 1979). El material fijado en FAA se preparó para incluirlo en parafina según técnica histológica (D' Ambrogio de Argüeso, 1986); se obtuvieron cortes con micrótopo de deslizamiento, se desparafinaron y se colorearon según el procedimiento anterior de doble tinción con safranina-fast green.

En la descripción de las cortezas se utilizó la terminología según Youngken (1958) para la morfología externa, y según Trockenbrodt (1990) para la anatomía interna.

Las muestras trozadas fueron fotografiadas con una lupa estereoscópica Zeiss 47 50 52 con cámara. Los disociados y los cortes obtenidos se observaron y se fotografiaron con un fotomicroscopio Zeiss Axiolab MC 80 DX. La medición de elementos se realizó con un ocular micrométrico calibrado Carl Zeiss PL 10x adosado al microscopio.

Para el estudio fitoquímico se siguieron técnicas cromatográficas de análisis. Fueron obtenidos extractos metanólicos de las muestras trozadas, de las

cortezas de las ramas y de la corteza del tronco. Se realizó también un extracto metanólico de los frutos de la planta para comparar. Los extractos se prepararon con 0,5 g de cortezas en polvo/0,5 g de frutos en polvo + 5 ml de metanol y calentamiento en baño de agua durante 5 minutos. Se sembraron 15 µl de cada extracto en una placa de Silica gel 60 F Merck (fase adsorbente) de 10 cm de largo y se llevó a cabo una cromatografía ascendente en capa fina (TLC), utilizando como sistema de solventes la mezcla acetato de etilo-metanol-agua (100:13,5:10). Finalizada la corrida las placas se dejaron secar y se observaron a la luz visible y a la luz ultravioleta (UV-366 nm). Posteriormente, se realizó un revelado sobre las placas rociando con KOH 10% en etanol (Reacción de Bornträger) y se observaron a la luz visible y a la luz UV-366 nm. En otra placa se sembró solo el extracto de frutos, se realizó la corrida en los mismos solventes y se trató con el reactivo de productos naturales en polietilenglicol (NP/PEG). Se observó la placa a la luz visible y a la luz UV. Todas las bandas obtenidas y los Rf se compararon con referentes (Wagner y col., 1984). Las placas se fotografiaron antes y después del revelado con una cámara digital Konica Minolta DIMAGE X31.

Resultados

Descripción exomorfológica

La corteza trozada de la droga se presentó en piezas de diversas formas y tamaños, estableciendo como rango aproximado de 1 a 5 cm de longitud y 0,5 a 2 cm de latitud. El espesor de las piezas era de 1 a 2,5 mm. En su gran mayoría fueron planas o bien encorvadas, con curvatura ligera, convexas hacia la superficie externa. La fractura de las piezas fue incompleta, sumamente fibrosa, frágil y blanda. Al partirse quedaban proyectadas numerosas fibras. La superficie externa era pardo-grisácea con algunas zonas más claras, moderadamente rugosa al tacto y presentaba peridermis. No se observaron líquenes ni musgos. La superficie interna mostraba dos zonas: una de color amarillo rojizo y la más interna, de color marrón a marrón oscuro (Figura 1E).

El olor fue indiferenciado y el sabor, amargo.

La corteza fresca de los ejemplares colectados a campo provenía de dos partes: a) ramas jóvenes laterales, foliosas, las más delgadas terminadas en

espinas, y b) tronco principal. La corteza de las ramas laterales tenía un espesor de 1 a 1,5 mm (categoría 1, muy delgada); aspecto bastante liso, lustroso, con peridermis visible; color pardo-grisáceo débil en su superficie externa con bandas horizontales más claras, y pardo-amarillento a pardo-rojizo en su superficie interna. La corteza del tronco tenía un espesor de 2 a 3 mm (categoría 2, media); aspecto rugoso, opaco; superficie externa con varias peridermis, color oscuro; superficie interna pardo-amarillenta a pardo más oscura. La fractura de ambas cortezas presentó las mismas características que las muestras trozadas.

Los ejemplares de herbario tenían ramas muy delgadas (≤ 5 mm diám.) y el color de la corteza era gris a gris muy oscuro, casi negro. Las hojas de las ramas, los frutos y el aspecto general coincidieron con los de las ramas de los ejemplares colectados a campo.

Descripción anatómica

Mediante la técnica de disociación, se encontraron ciertos elementos comunes a todas las cortezas analizadas: a) células suberosas hexagonales, alargadas y de color pardo-amarillento a púrpúreo (Fig. 2A); b) fibras liberianas; c) fibras cristalíferas con prismas de oxalato de calcio de 7 a 10 μm , rodeando los radios floemáticos (Figura 2B); d) drusas de oxalato de calcio de dos tamaños (7,25 a 10 μm y 15 a 20 μm) (Fig. 2C); e) células parenquimáticas de paredes delgadas y f) radios floemáticos formados por 2 a 4 células de ancho y 15 a 25 células de largo (180 a 300 μm). En las muestras trozadas y en las cortezas del tronco y de las ramas más gruesas de la planta fresca, se confirmó la presencia de esclereidas en acúmulos variables. Correspondieron a células más o menos isodiamétricas, o bien alargadas, algo irregulares, con pared secundaria gruesa, puntuaciones ramificadas y color marrón rojizo. Su tamaño variaba desde 110 μm a 200 μm (Figura 2D). En las cortezas de las ramas jóvenes y en los ejemplares de herbario no se observaron los últimos elementos.

En el material pulverizado se distinguieron fragmentos de súber, drusas, cristales prismáticos, fibras, células parenquimáticas, granos de almidón, y en las cortezas más gruesas, esclereidas solitarias o en grupos. Los granos de almidón se describieron como simples, poliédricos, con hilio central ramifi-

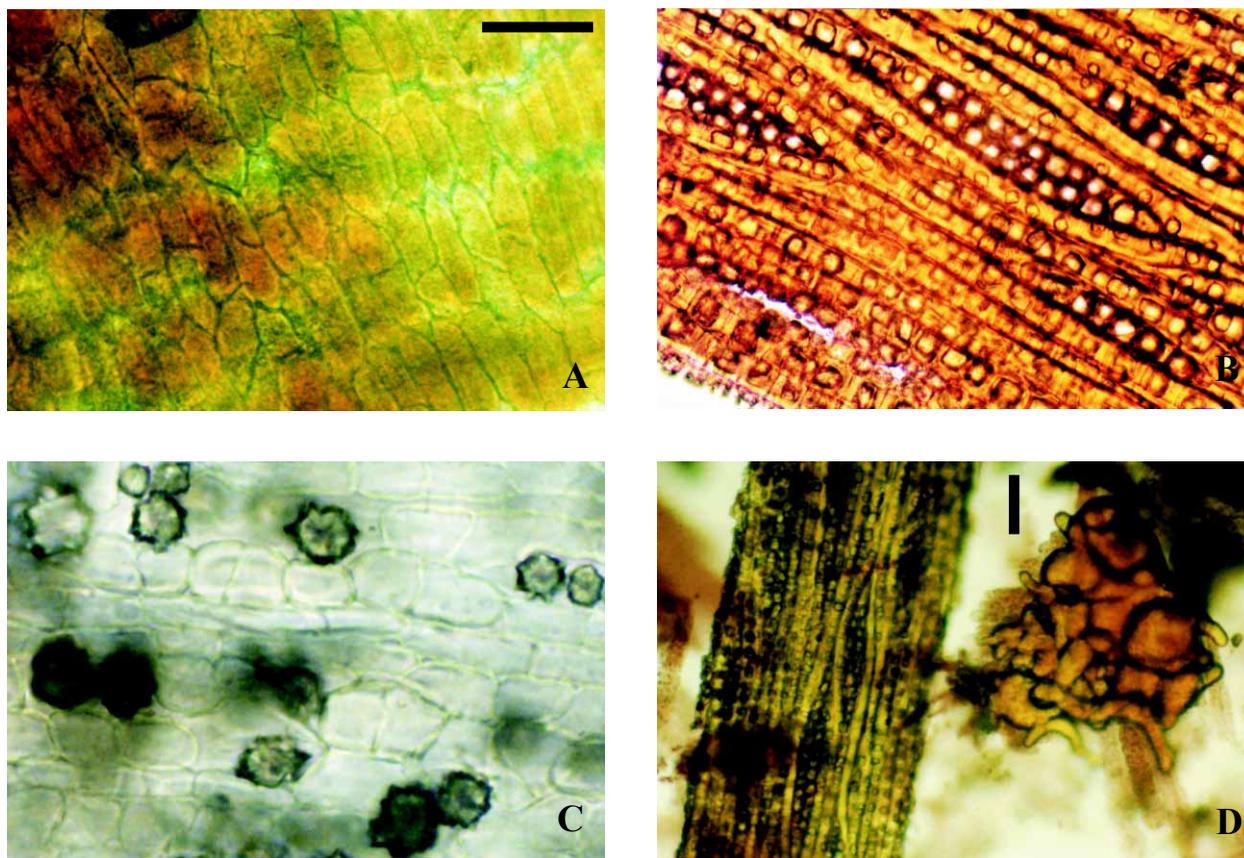
cado y de 15 a 22 μm ; observados con luz polarizada exhibieron típica cruz de malta (Figura 3A, B).

En las secciones transversales se observó la disposición de los tejidos corticales. Las ramas jóvenes presentaron peridermis formada por súber o felema con 8 a 10 estratos de células de pared engrosada, a veces interrumpidas por la presencia de lenticelas. El felógeno no se distinguió y la felodermis estaba formada por 7 a 8 estratos de células con paredes celulósicas engrosadas tipo colenquimático. En el córtex, el parénquima presentó 7 a 8 estratos de células más grandes, paredes más delgadas, y algunas contenían drusas. Las drusas también se situaron encima de los radios floemáticos y entre las fibras cristalíferas. No se observaron esclereidas en las ramas jóvenes de menos de 1 cm de diámetro. Las fibras corticales, lignificadas, formaban grupos variables en distintos niveles del floema. Los tubos cribosos del floema secundario se vieron como células bastante comprimidas, de paredes delgadas, y los del floema primario, como células algo colapsadas. Los radios fueron 2 a 4 seriados, con dilatación en la zona superior (Figura 3C). Las ramas más gruesas, la corteza trozada y la del tronco presentaron esclereidas en grupos o acúmulos variables, isodiamétricas, o bien alargadas, algo irregulares, con pared gruesa, lignificada y puntuaciones ramificadas. Se ubicaron en bandas tangenciales en el parénquima cortical interno. La corteza del tronco presentó además, varias peridermis formando un ritidoma, con células parenquimáticas, grupos de esclereidas y de fibras alternando entre las distintas peridermis (Figura 3D).

En las secciones longitudinales se observó, en vista tangencial, la estructura de los radios floemáticos y los tejidos que los rodeaban. Los radios, 2 a 4 seriados, estaban formados por células parenquimáticas redondeadas, algunas con drusas. Rodeando a los radios se disponían fibras cristalíferas con prismas de oxalato de calcio formando hileras (Figura 3E).

Análisis fitoquímico

Se observó que tanto la corteza joven (ramas) como la corteza adulta (tronco) presentaron los mismos compuestos aunque en mucha mayor concentración en la corteza adulta. La muestra trozada presentó igual perfil que la corteza adulta cuali y

Figura 2.- *R. cathartica*

A: Disociado, súber; B: Disociado, radios floemáticos (rf) y fibras cristalíferas (fc); C: Disociado, drusas; D: Disociado, grupo de esclereidas (e) y radios floemáticos (rf). Escalas: A, B y C (50 μ m); D (200 μ m).

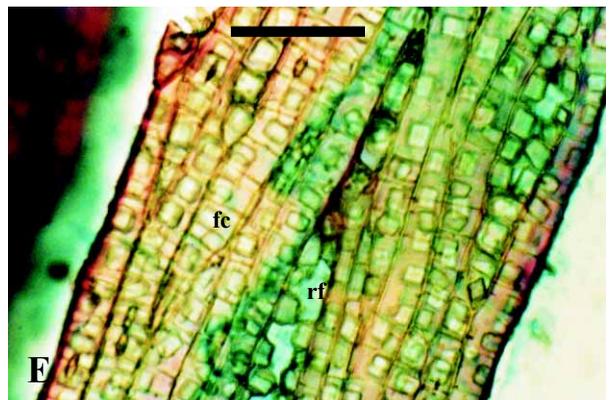
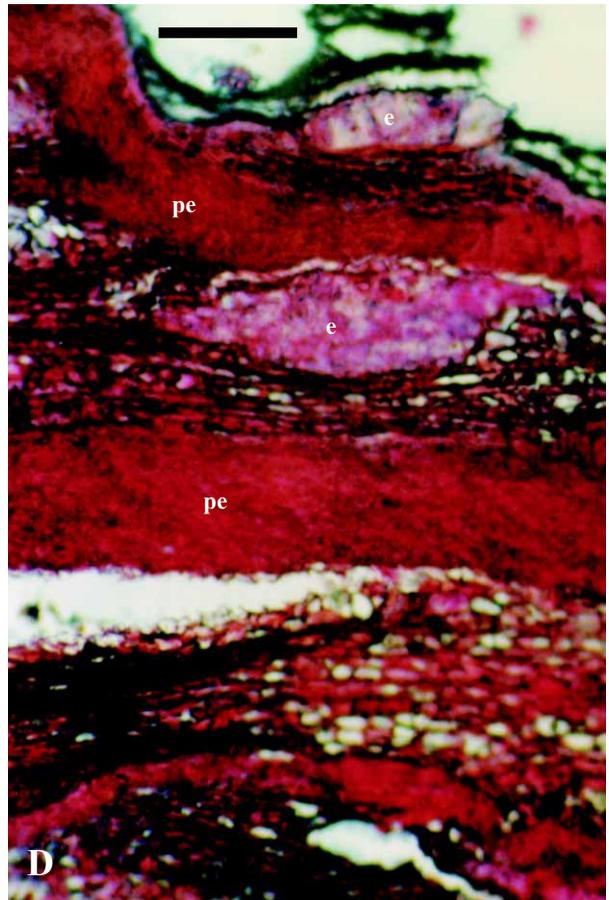
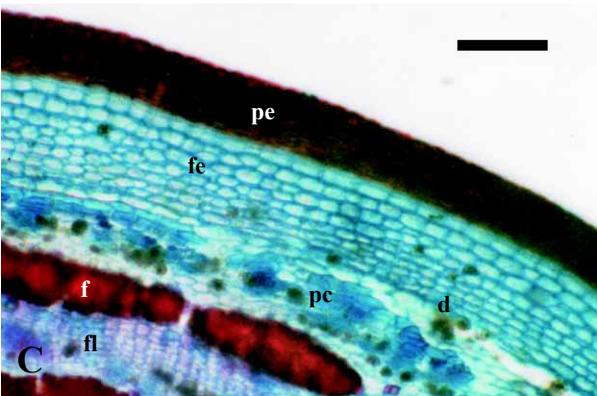
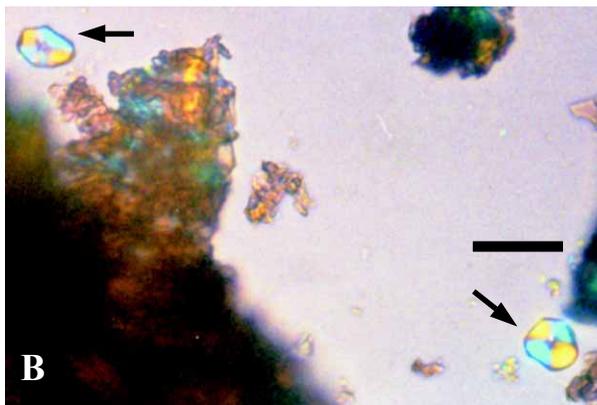
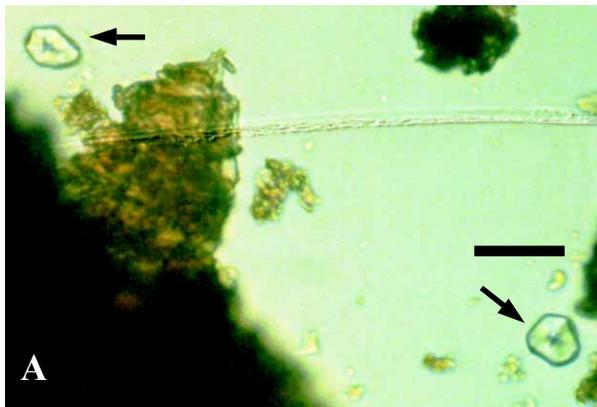
cuantitativamente. En las placas se distinguieron, a la luz visible, bandas amarillo-verdosas en el frente del solvente, rojizo débil en $R_f = 0,3$ y $R_f = 0,75$ y rosado débil para las cortezas y amarillentas para los frutos en $R_f 0-0,2$ (Fig. 4A). En la corteza joven todas las bandas fueron apenas visibles. A la luz UV 366 nm, fueron rojo-anaranjado, rojo y amarillo fluorescentes respectivamente (Fig. 4B). Luego de agregar KOH 10%, dieron reacción positiva para antraquinonas ya que se intensificaron los colores rojos al visible y a rojo-marrón fluorescentes al UV (Fig. 4C). Además, también al UV, se observaron manchas azul fluorescentes en $R_f = 0,25$ y $R_f = 0,4$, intensas en las cortezas adultas y muy débiles en la corteza joven (Fig. 4D). Por otro lado, el perfil fito-

químico de los frutos fue diferente, y si bien dio positivo para antraquinonas, se observaron muchas más bandas que indicaban una composición compleja. Zonas pardo-amarillas desde la siembra hasta $R_f = 0,2$, $R_f = 0,4$ y entre $R_f = 0,8$ y el frente del solvente, se intensificaron a amarillo brillante fluorescente al UV, al agregar NP/PEG. No se detectaron las manchas con fluorescencia azul en $R_f = 0,25$ y $0,4$ (Fig. 4E-F).

Discusión y conclusión

La corteza forestal o comercial, en general, fue estudiada con menos frecuencia que el leño. Un antecedente valioso es el estudio realizado sobre

Figura 3. - *R. cathartica*



A-B: corteza en polvo, granos de almidón (flechas). **A,** sin luz polarizada; **B,** con luz polarizada; **C:** transcorte de corteza joven (pe: peridermis, fe: felodermis, pc: parénquima cortical, d: drusas, f: fibras, fl: floema); **D:** transcorte de corteza adulta (pe: peridermis; e: esclereidas). **E:** corte longitudinal tangencial (rf: radios floemáticos; fc: fibras cristalíferas). Escalas: A, B y E (50 µm); C y D (200 µm).

cortezas de diversas especies tropicales (Roth, 1981). Desde un aspecto biológico, la corteza es un carácter importante debido a su capacidad de responder frente a condiciones ambientales

adversas y por eso es muy variable cuali y cuantitativamente. Los rasgos anatómicos de las cortezas se interpretan como una especialización del vegetal ante factores como xerofitismo, frío,

contaminación y fuego. El espesor de la corteza está altamente influenciado por los factores ambientales. Otro aspecto que se debe tener en cuenta es que la corteza, a diferencia del leño, cambia continuamente con la edad y manifiesta variaciones estructurales no solo en el espesor sino también en la modificación de algunos tejidos (Giménez, 2002).

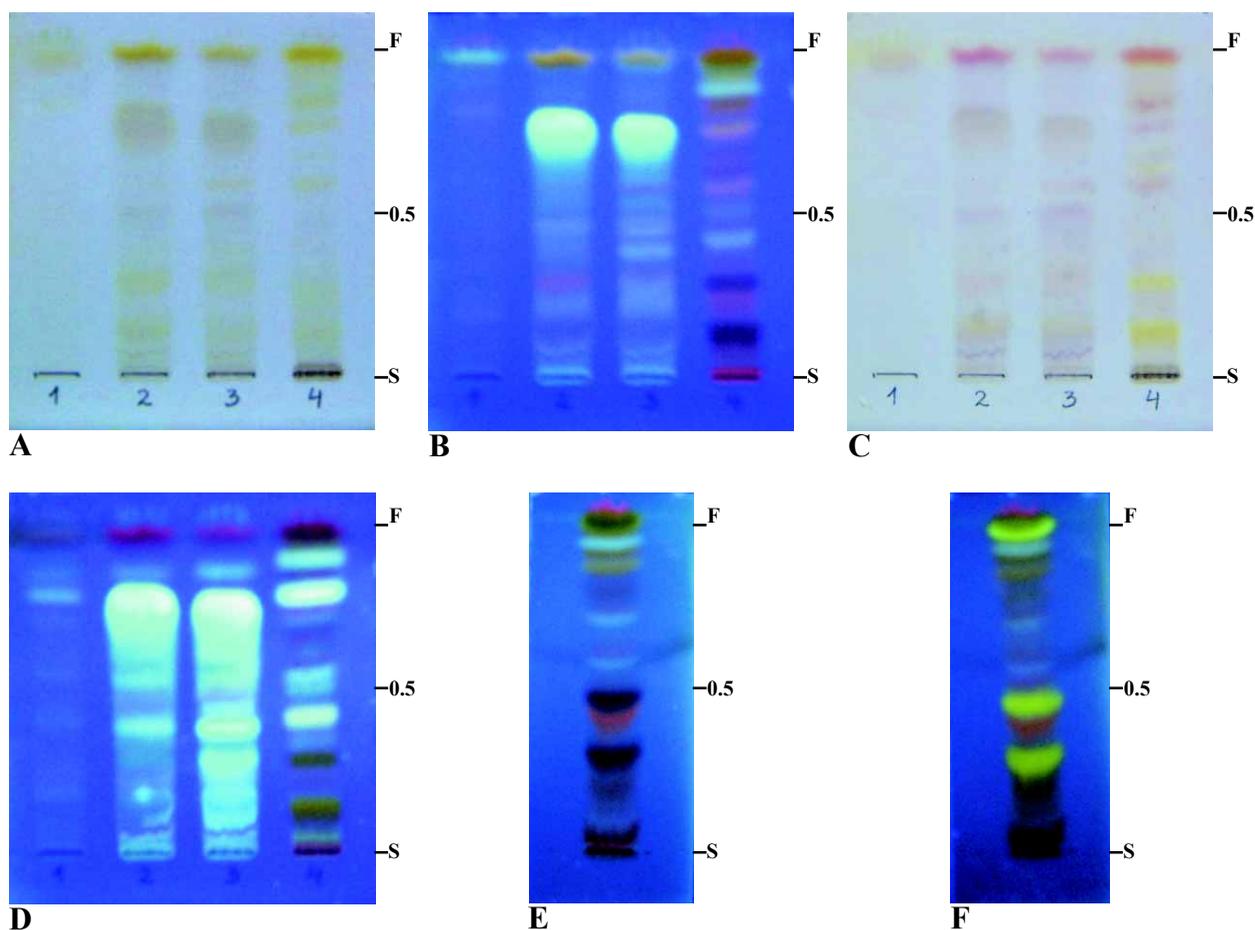
El concepto de corteza ha sido objeto de controversia, con especial referencia a la terminología utilizada. Según Metcalfe y Chalk (1979), se entiende por corteza a todos los tejidos externos al cámbium vascular que incluyen el floema secundario (corteza interna) y la peridermis, que en caso de existir varias capas generan el ritidoma (corteza externa). Se hace referencia, a veces, a “corteza viva” constituida por tejido blando (tubos cribosos, células acompañantes, parénquima axial y radial), y a “corteza muerta, externa o ritidoma” formada por los tejidos aislados por fuera de la última capa de súber (Giménez, 2002). También se habla de “corteza interna”: comprendida por el floema blando hasta la primera capa de líber duro, “corteza central”: formada por líber duro en forma alternada e interrumpido por los radios, y “corteza externa”: constituida por la peridermis y que puede estar entremezclada con fibras y esclereidas (Roth, 1972; Garland y col., 2002).

Debido a la profusa, variada –y a veces confusa terminología– se trató de unificar ciertas definiciones relativas a la anatomía cortical: a) *Todo tejido por fuera del cámbium vascular es llamado corteza independientemente de su estructura específica*; b) *córtex es el tejido de origen primario que no pertenece ni a la peridermis ni al floema*; c) *el tejido más externo en una estructura secundaria puede ser la peridermis o el ritidoma*; d) *no es conveniente hablar de corteza interna, media y externa, ni de corteza dura y blanda*; e) *los radios de la corteza deben llamarse radios floemáticos* (Trockenbrodt, 1990).

Los caracteres anatómicos de las cortezas comenzaron a utilizarse como elemento diagnóstico hace relativamente poco tiempo. Varios autores señalaron la importancia de sistematizar el estudio tanto en el nivel macro como microscópico, abarcando distintas edades de un vegetal para ver la variabilidad en los tejidos y definir los elementos útiles para el reconocimiento de las especies (Garlant y col., 2002).

Con los análisis realizados se demostró la presencia de esclereidas en las cortezas adultas de “espino cervical”, que constituyó un elemento micrográfico característico de esa corteza, no mencionado hasta ahora en la bibliografía. Las esclereidas pertenecen al tejido esclerenquimático al igual que las fibras, y se caracterizan por tener una pared polilaminar lignificada, secundaria. A diferencia de las fibras floemáticas, no tienen crecimiento apical intrusivo (Parameswaran, 1980). Las esclereidas están ausentes en las cortezas jóvenes de *R. cathartica* y se formarían como consecuencia del desarrollo secundario. Tanto las ramas delgadas de la planta como los ejemplares de herbario carecen de estos elementos porque el desarrollo secundario es incipiente. Según Wallis (1966), con referencia a “Cáscara sagrada” (*R. purshiana*), los grupos de esclereidas no están presentes en la corteza muy joven. En un trabajo preliminar sobre “espino cervical” no se mencionaba el hallazgo de esclereidas por tratarse de cortezas jóvenes (Borri y col., 2007). Se pudo demostrar además que la muestra comercial trozada, al presentar esclereidas, correspondía a una corteza adulta probablemente procedente del tronco.

La formación secundaria de esclereidas durante el desarrollo y el crecimiento vegetal fue mencionada para diversas especies (Cabanne y col., 2002; Garland y col., 2002; Giménez, 2002; Quintanar y Zárate C., 2004; Rodrigues Machado y col., 2005; Roth, 1972, 2005). A medida que el floema envejece, algunas de sus células se vuelven inactivas y son desplazadas hacia la periferia. Muchas de estas células se esclerifican, otras de paredes primarias son deformadas, colapsadas y por último, aplastadas. Procesos de esclerificación, colapso de elementos, formación de esclereidas y variaciones en la forma de los radios, son caracteres de importancia taxonómica. Los principales cambios estructurales en las cortezas en función de la edad, son el aumento del tejido esclerenquimático (fibras y esclereidas), y la disminución del tejido blando y de las estructuras de secreción. Cuanto más ancha sea la corteza, mayor es su utilidad como elemento diagnóstico. Células del parénquima axial y radial, pueden transformarse secundariamente en esclereidas incrementando así el tejido mecánico. En ocasiones, las células de la felodermis pueden lignificarse y formar bandas de esclereidas que pueden alternarse dentro del floema o de la peridermis.

Figura 4.- Perfil fitoquímico de *R. cathartica*

A: extractos a la luz visible; **B:** extractos a la luz UV 366 nm; **C:** extractos luego de KOH 10%, al visible; **D:** extractos luego de KOH 10%, al UV; **E:** extracto del fruto al UV; **F:** extracto del fruto luego de NP/PEG, al UV. 1: corteza joven, 2: corteza adulta, 3: muestra comercial, 4: frutos.

Las cortezas jóvenes, al carecer de escleridas, comparten caracteres anatómicos muy similares con otras especies de *Rhamnus* lo cual puede dificultar su identificación. En este sentido, para caracterizar y confirmar la identidad de la droga, es necesario realizar el perfil fitoquímico y comprobar la presencia de compuestos marcadores para el “espino cervical”. Estos compuestos son los que dan fluorescencia azul a la luz UV 366 nm y fueron identificados como heterósidos de sorigenina: α -sorigenín glucósido y primeverósido ($R_f=0,25$) y α -sorigenín primeverósido ($R_f=0,4$) (Rauwald y Just, 1983a, 1983b; Rauwald, 1990). Se detectaron en las cortezas adultas (tronco y muestra trozada) y en muy baja

concentración en la corteza joven. Los glucósidos antraquinónicos se detectaron en baja concentración, más baja aún en la corteza joven, y correspondieron a glucofrangulina ($R_f=0,3$) y frangulina ($R_f=0,75$). En la parte inferior, sobre el punto de siembra, las bandas amarillas al visible y amarillo brillante al UV, correspondieron a antronas y antranoles. En la zona superior de las placas las bandas rojas correspondieron a los aglicones: emodina, fisción, crisofanol y alaternina, que migran con el frente del solvente (Rauwald y Just, 1981). Los frutos presentaron bajos contenidos de glucofrangulina y frangulina y altas concentraciones de glicósidos de flavonoles. Estos últimos correspondieron a las

bandas pardo-amarillas al visible y amarillo fluorescentes al UV en tres rangos de Rf. Las bandas del rango menor corresponderían a los glicósidos: *catharticina*, *xanthorhamnina* y *rhamnacina*. Luego del agregado de NP/PEG, estos compuestos observados al UV, intensificaron su color al amarillo fluorescente brillante (Wagner y col., 1984). Por otro lado, la ausencia de las manchas con fluorescencia azul indica que estos compuestos no están presentes en los frutos.

Como conclusión, queda demostrada la diferente composición química de la corteza y de los frutos de la misma especie. De acuerdo con lo expuesto, el uso tradicional de uno u otro órgano indistintamente no es aconsejable, ya que se desconoce si la efectividad será igual o si potencialmente pudiera presentar algún efecto no deseado. Cuantitativamente, las cortezas adultas de “espino cervical” contienen mayor concentración de antraquinonas y de glicósidos naftalénicos que las cortezas jóvenes. En cuanto al aspecto anatómico, la presencia de grupos de esclereidas resultó ser un carácter diagnóstico para las cortezas adultas de “espino cervical”. En el caso de las cortezas jóvenes, al carecer de esclereidas, es necesario completar el estudio botánico con el perfil fitoquímico.

Los análisis realizados en esta oportunidad aportaron una serie de elementos importantes para realizar el control de calidad de muestras comerciales trozadas y para la correcta identificación de la especie en cuestión, mediante la implementación de técnicas sencillas y reproducibles en cualquier laboratorio de baja complejidad.

Agradecimientos

Trabajo realizado mediante subsidio SECyT UBA B120. Los autores agradecen al Sr. Mauricio Ferrés por las muestras comerciales y el material recolectado a campo, al Dr. Gustavo C. Giberti por los ejemplares de herbario y al Dr. Rafael A. Ricco por su ayuda con las fotografías de las placas cromatográficas.

Referencias bibliográficas

Borri, K.A.; Varela, B.G. y Gurni, A.A. (2007). “Estudio preliminar comparativo entre la corteza de espino cervical (*Rhamnus cathartica* L.) y las de

otras especies del género *Rhamnus*”. *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromaticas* 6(5): 183-184.

Brizicky, G.K. (1964). “The genera of Rhamnaceae in the southeastern United States”. *J. Arnold Arbor.* 45: 439-449.

Bruneton, J. (1991). *Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia*. Acibria, Zaragoza: 206-213.

Cabanne, D.; Miranda, D.E.; Bohren, A.V.; Grance, L.A. y Keller, H.A. (2002). “Estudio del esclerénquima en el floema secundario de algunas Dicotiledóneas leñosas”. *Comunicaciones C y T, UNNE*: B012.

Cabrera, A.L. (1965). *Flora de la Provincia de Buenos Aires*, Col. Cient. INTA IV, Buenos Aires: 152-164.

Cabrera, A.L. y Zardini, E.M. (1978). *Manual de la Flora de los alrededores de Buenos Aires*. ACME S.A.C.I., Buenos Aires: 398-401.

CINB *Código Internacional de Nomenclatura Botánica* (2002). Instituto de Botánica Darwinion y Missouri Botanical Garden Press, Buenos Aires y St. Louis: 42-45, 100-102.

Claus, E.P. y Tyler, V.E. (1968). *Farmacognosia*. El Ateneo, Buenos Aires: 99-103.

D’Ambrogio de Argüeso, A. (1986). *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 1-83.

Dizeo de Strittmatter, C. (1979). “Modificación de una técnica de coloración safranina-fast green”. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 18(3-4): 121-122.

Duke, J.A. (1998). *La Farmacia Natural*. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data, U.S.A: 292.

Escalante, M.G. (1946). “Las Ramnáceas argentinas”. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 1(3): 209-231.

Espino cervical. Beth Israel Deaconess Medical Center [en línea] <<http://www.bidmc.org/YourHealth>>. [Consulta: 11/9/2010].

Evans, W.C. (1989). *Farmacognosia Trease-Evans*. Interamericana Mc Graw-Hill, México: 431-436.

Farmacopea Nacional Argentina II Ed. (1921). “Espino cervical”. Ministerio de Bienestar Social y Salud Pública, Buenos Aires: 223.

Farmacopea Nacional Argentina III Ed. (1943). “Espino cervical”. M.B.S., Buenos Aires: 268.

Farmacopea Nacional Argentina IV Ed. (1956). “Espino cervical”. M.B.S., Buenos Aires: 258.

Farmacopea Nacional Argentina V Ed. (1966). “Espino cervical”. M.B.S., Buenos Aires: 336.

- Garlant, H.M.; Miranda, D; Grance, L.; Bohren, A. y Keller, H (2002). "Estructura anatómica de la corteza y diseño del ritidoma de *Cedrela fissilis* Vell. y *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. (Meliaceae)". *Quebracho* 9: 43-53.
- Giménez, A.M. (2002). "Cambios estructurales producidos durante el desarrollo de la corteza en *Schinopsis quebracho-colorado*, Anacardiaceae". *Quebracho* 9: 60-70.
- Hager. *Tratado de Farmacia Práctica* (1942). Frerichs, G; Arends, G y Zörning, A. (Editores). Labor S.A., Barcelona, Tomo III: 2635-2636.
- Holmgren, P.K.; Holmgren, N.H. y Barnett, L.C. (1990). *Index Herbariorum Part I: The Herbaria of the world*. New York Botanical Garden, N.Y. IPNI. The International Plant Names Index [en línea] <<http://www.ipni.org/ipni/advPlantNameSearch>>. [Consulta: septiembre-2010].
- IRAM. *Instituto Argentino de Racionalización de Materiales*. (1998). Norma 37500: Drogas vegetales. Método para su control por la técnica de disociación débil.
- Martínez Solís, I. (1998). "Estudio taxonómico del género *Rhamnus* L. (Rhamnaceae) en la Península Ibérica y Baleares". Tesis. Universidad de Valencia.
- Medan, D. & Schirarend, C. (2004). *The families and genera of vascular plants* (K. Kubitzki ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Hamburg: 320-336.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L. (1972). *Anatomy of the Dicotyledons I*. Oxford at the Clarendon Press, London: 404-413.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L. (1979). *Anatomy of the Dicotyledons* 2nd ed. Vol. I. Clarendon Press, Oxford: 166-180.
- Parameswaran, N. (1980). "Some remarks on the nomenclature of fibres, sclereids and fibre-sclereids in the secondary phloem of trees". *IAWA Bulletin n.s.* 1(3): 130-132.
- Paris, R.R. y Moyse, H. (1967). *Matière Médicale II*. Masson, Paris: 323-333.
- Quintanar A. y Zárate Castrejón, J.L. (2004). "Anatomía e histoquímica de la corteza de cinco especies de Moraceae". *Polibotánica* 17: 15-38.
- Rauwald, H.W. (1990). "Naturally Occurring Quinones and their Related Reduction Forms: Analysis and Analytical Methods". *Pharm. Ztg. Wiss.*, 5: 169-181.
- Rauwald, H.W. & Just, H.D. (1981). "Neue Untersuchung über Inhaltsstoffe der Kreuzdornrinde". *Planta Medica* 42: 244-249.
- Rauwald, H.W. & Just, H.D. (1983a). "Neue Untersuchung über Inhaltsstoffe der Kreuzdornrinde, 2. Mitt.". *Archiv der Pharmazie* 316(5): 399-408.
- Rauwald, H.W. & Just, H.D. (1983b). "Neue Untersuchung über Inhaltsstoffe der Kreuzdornrinde, 3. Mitt.". *Archiv der Pharmazie* 316(5): 409-412.
- Remington, J.P.; Wood, H.C. y col. (1918). "The Dispensatory of the United States of America" [en línea] <<http://www.henriettesherbal.com/eclectic/Usdisp/rhamnus.html>>. [Consulta: 7/9/06].
- Richardson, J.E.; Fay, M.F.; Cronk, Q.C.B. & Chase, M.W. (2000). "A revision of the tribal classification of Rhamnaceae". *Kew Bulletin* 55(2): 311-340.
- Rodrigues Machado, S.; Marcati, C.R.; De Morretes, B.L. and Angyalossy, V. (2005). "Comparative bark anatomy of root and stem in *Styrax camporum* (Styracaceae)". *IAWA Journal* 26(4): 477-487.
- Roth, I. (1972). "Estructura anatómica de la corteza de algunas especies venezolanas pertenecientes a tres diferentes familias (Rhamnaceae, Rhizophoraceae y Sabiaceae)". *Acta Bot. Venez.* 7(1-4): 101-119.
- Roth, I. (1981). "Structural patterns of tropical barks". In *Encyclopedia of Plant Anatomy*. E. Schweizerbart Science Publishers, Stuttgart, Band IX, Teil 3: 609.
- Roth, I. (2005). "Estructura anatómica de la corteza de algunas especies arbóreas venezolanas de Euphorbiaceae". *Acta Bot. Venez.* 28(2): 461-502.
- San Martín Casamada, R. (1968). *Farmacognosia con Farmacodinamia*. Editorial Científico-Médica, Barcelona: 293-319.
- Tortosa, R.D. (1995). "Flora Fanerogámica Argentina", *ProFlora* 9: 1-18.
- Tortosa, R.D. (1999). *Catálogo de las Plantas Vasculares de la Argentina II*. Monographs in Systematic Botany (Zuloaga, F. & Morrone, O. ed.). MBG 74: 974-981.
- Trockenbrodt, M. (1990). "Survey and discussion of the terminology used in bark anatomy". *IAWA Bulletin n.s.*, 11(2): 141-146.
- Vincent, M. (2006). "Allelopathic effect of the fruit of European Buckthorn, *Rhamnus cathartica* L.". Department of Biology, University of Winnipeg: 1-49.

- Wagner, H.; Blatt, S. & Zgainski, E.M. (1984). *Plant Drug Analysis*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Munich: 93-107.
- Wallis, T.E. (1966). *Manual de Farmacognosia*. Compañía Continental, México: 108-115.
- Wichtl, M. (1989). *Teedrogen*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart: 286-288.
- Wolf, C.B. (1938). "The North American species of *Rhamnus*". *Monographs of Rancho Santa Ana Botanical Garden*, Bot. Ser. 1: 3-29.
- Youngken, H.W. (1958) *Tratado de Farmacognosia*. Atlante, México: 7-8, 39-43, 717-718.