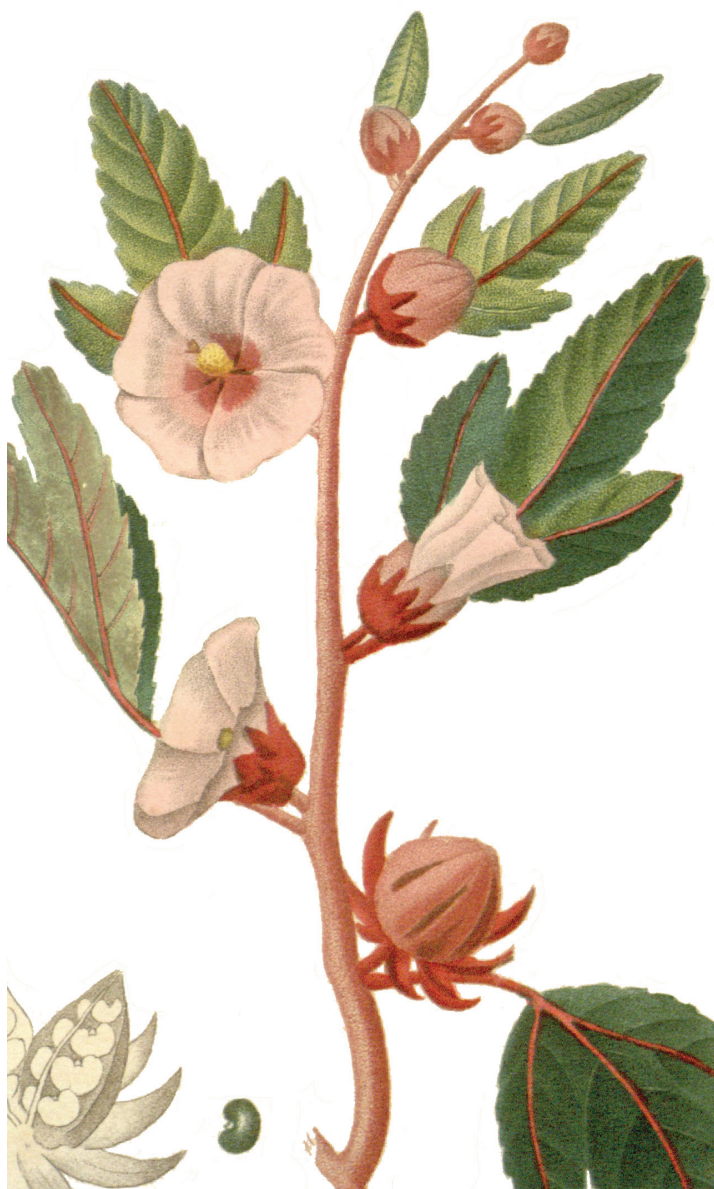


Dominguezia

Museo de Farmacobotánica
"Juan A. Domínguez"

Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires



Hibiscus sabdariffa

Dominguezia

Vol. 30(1) - 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. Marcelo Luis Wagner

Editora Asociada:

María Cristina Ratto de Sala

Secretaría, Edición electrónica y Webmaster:

Fernando Gabriel Ranea

Edición patrocinada por la Secretaría de Extensión Universitaria
de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA)
y 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:
***Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae)**

Lámina de Théodore Descourtilz,
de *Flore pittoresque et médicale des Antilles*
(*Picturesque and medical flora of the West Indies*) vol. 1,
por Michel Étienne Descourtilz, Paris, 1821.

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°. 4984926.

Se terminó de editar en agosto de 2014.

Índice de contenido

Anatomía comparada de raíces medicinales de hierbas terrestres rioplatenses (Buenos Aires, República Argentina)	5
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 <i>Cucurbita</i> spp	19
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 <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (Malvaceae)	25
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 <i>Passiflora coerulea</i> y <i>P. foetida</i> (Passifloraceae)	35
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 <i>Senecio subpanduratus</i> (Asteraceae)	41
Adraina Gratti, Mabel S. Feijóo, Elizabeth A. Barrientos, Roxana B. Peneff y Evangelina Laztra	

Index

Comparative root anatomy of medicinal land herbs in Rio de La Plata area (Buenos Aires, Argentina)	5
Marta N. Colares, Marcelo P. Hernández, María C. Novoa, Vanesa G. Perrotta, Silvana Auguet y Ana María Arambarri	
Relationship between antioxidant activity and total phenolic and total flavonoid contents in <i>Cucurbita</i> spp seeds	19
Gabriela M. Valenzuela, Alicia L. Cravzov, Adriana S. Soro, Alicia L. Tauguinas, María C. Giménez y Mabel R. Gruszycki	
<i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (Malvaceae): Pharmacobotanic and phytochemical quality control	25
Laura V. Vivas Leguizamón, Marcelo L. Wagner y Rafael A. Ricco	
HPLC and FTIR C-glycosylflavones identification in aqueous and methanolic extracts in <i>Passiflora caerulea</i> and <i>P. foetida</i> (Passifloraceae)	35
Marta E. Petenatti, María A. Gettel, Mariana C. Popovich, María F. Garro, Gerardo Camí, Leslie Aragón, Luis A. Del Vitto y Elisa M. Petenatti	
Anatomical, morphofunctional and chemical characters of <i>Senecio subpanduratus</i> (Asteraceae)	41
Adraina Gratti, Mabel S. Feijóo, Elizabeth A. Barrientos, Roxana B. Peneff y Evangelina Laztra	

Anatomía comparada de raíces medicinales de hierbas terrestres rioplatenses (Buenos Aires, República Argentina)

Marta N. Colares¹, Marcelo P. Hernández¹, María C. Novoa¹, Vanesa G. Perrotta¹,
Silvana Auguet², Ana M. Arambarri^{1*}

¹ Laboratorio de Morfología Comparada de Espermatófitas (LAMCE), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata. Calle 60 y 119, C.C. 31 (1900) La Plata, Argentina.

² Química Analítica, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Avda. San Martín 4453 (C1417DSE), Buenos Aires, Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: tel.: +54-221-423-6758 (int. 461); botgral@agro.unlp.edu.ar; anaramba@yahoo.com.ar

Resumen

Se estudió la anatomía de la raíz de 22 hierbas terrestres pertenecientes a 10 familias que se utilizan en medicina vernácula en la región rioplatense. Para disponer de un patrón que defina la autenticidad botánica se planteó el objetivo de generar una clave diacrítica basada en la micrografía de las raíces. Se utilizó material fresco y de herbario que fue fijado en formalina-aceto-alcohólica, y en el caso de ejemplares de herbario fueron rehidratados previo a su fijación. Para las preparaciones se realizaron cortes a mano alzada y con micrótopo de rotación, para luego efectuar la tinción y el montaje de acuerdo con técnicas convencionales. Se realizaron análisis histoquímicos para la identificación de almidón, sustancias lipídicas y fenólicas. Algunos de los principales caracteres micrográficos de identificación de las raíces fueron: presencia de estructura secundaria anómala en *Alternanthera philoxeroides* y *A. pungens*, *Dysphania ambrosioides* y *Mirabilis jalapa*; presencia de corteza aerenquimática en *Hyptis mutabilis* y *Pluchea sagittalis*; tipo y distribución de estructuras secretoras: esquizógenas en *Bidens pilosa*, *Conyza bonariensis*, *Solidago chilensis* y *Xanthium spinosum*, lisígenas en *M. jalapa* y tubos laticíferos en *Cichorium intybus* y *Taraxacum officinale*; presencia de drusas en *A. philoxeroides* y *A. pungens*, rafidios en *Cyclopogon elatus* y *M. jalapa* o arena cristalina en *D. ambrosioides* y *Salpichroa organifolia*; presencia de xilema secundario con poros solitarios dispuestos al azar en *Marrubium vulgare*, múltiples radiales en *Raphanus sativus*, solitarios y múltiples radiales en *Lepidium auriculatum* y *L. bonariense*. Como resultado de los estudios histoquímicos se hallaron sustancias lipídicas en las paredes celulares de la endodermis, en el súber, y en forma de gotas oleosas en las estructuras secretoras esquizógenas de las Asteraceae; se observó inulina en el parénquima de las raíces de especies de la familia Asteraceae y amiloplastos en las raíces de *Lepidium*, *Mirabilis*, *Raphanus* y *Salpichroa*.

Comparative root anatomy of medicinal land herbs in Rio de La Plata area (Buenos Aires, Argentina)

Summary

Root micrographic traits of 22 species belonging to 10 families of medicinal land herbs in Río de La Plata area have been surveyed. The aim of this study was to generate a diacritic key using micrographic root

Palabras clave: anatomía - raíces medicinales rioplatenses - Argentina.

Key words: anatomy - Río de La Plata medicinal roots - Argentina.

characters with the purpose of getting a valuable tool to establish the botanical authenticity. Fresh and herbarium specimen materials were used. All samples were fixed in formalin-acetate-alcohol. Dehydrated roots were rehydrated prior to fixation. Freehand root transections, and with rotary microtome were made, subsequently, staining and mounting according to conventional methods. Histochemical analysis was performed to identify starch, lipidic, and phenolic substances. The main differential traits were: presence of anomalous secondary structure in *Alternanthera philoxeroides*, and *A. pungens*, *Dysphania ambrosioides*, and *Mirabilis jalapa*; presence of aerenchymatic bark in *Hyptis mutabilis*, and *Pluchea sagittalis*; secretory structure types and distribution: schizogenous in *Bidens pilosa*, *Conyza bonariensis*, *Solidago chilensis*, and *Xanthium spinosum*, lysigenous in *M. jalapa*, and laticifers ducts in *Cichorium intybus*, and *Taraxacum officinale*; presence of druses in *A. philoxeroides*, and *A. pungens*, raphides in *Cyclopogon elatus*, and *M. jalapa*, and sandy crystals in *D. ambrosioides*, and *Salpichroa organifolia*; the secondary xylem presented vessel groupings: solitary disposed at random in *Marrubium vulgare*, radial multiple in *Raphanus sativus*, and radial solitary and multiple in *Lepidium auriculatum*, and *L. bonariense*. Results of histochemical studies showed lipidic substances in endodermis and cork cell walls, and oil droplets in the secretory structures of Asteraceae. Inulin was also observed in parenchyma tissue of Asteraceae roots, and amyloplasts in *Lepidium*, *Mirabilis*, *Raphanus*, and *Salpichroa*.

Introducción

La región rioplatense se extiende desde Diamante en la provincia de Entre Ríos (32°4'0''S 60°39'0''O) hasta Punta Lara en la provincia de Buenos Aires (34°47'28''S 57°59'49''O). Nuestro estudio se centra en las especies medicinales que habitan la parte inferior del Delta del Paraná, isla Martín García y ribera del Río de La Plata hasta Punta Lara (Lahitte y Hurrell, 1996; Lahitte y col., 2004; Hernández y col., 2010; 2013).

Este trabajo es una nueva contribución al estudio de anatomía comparada de los órganos vegetativos de hierbas terrestres rioplatenses utilizados en la medicina popular. En contribuciones anteriores se analizó la anatomía de los tallos de siete Monocotiledóneas (Novoa y col., 2012), en la segunda, la anatomía de los tallos de 37 Dicotiledóneas (Arambarri y col., 2013). Existen escasos trabajos sobre anatomía de la raíz, y la mayoría forma parte de descripciones anatómicas de las especies, como los de Lersten y Curtis (1986; 1989), Arambarri y Bayón (1998), Novoa y col. (1998), Novoa y Monti (2001), Simón y col. (2002), Monti y col. (2003), o de obras generales, como la de Metcalfe y Chalk (1950). El propósito de nuestro proyecto es obtener caracteres micrográficos de la raíz medicinal, compararlos y generar un patrón de identificación.

Estudiamos la estructura radicular de 22 hierbas terrestres empleadas en la medicina popular en la región rioplatense (Lahitte y col., 1997; 2004) con

el objetivo de producir una clave diacrítica basada en los caracteres diagnósticos estructurales de las raíces analizadas.

Materiales

Para el estudio se emplearon raíces frescas y de herbario. Las plantas frescas, completas, recolectadas por los autores, fueron herborizadas y se depositaron en el herbario de la Facultad de Agronomía de La Plata (LPAG). También se examinó material de ejemplares del herbario de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de La Plata (LP). En la tabla 1 se presentan las familias, las especies con los nombres vernáculos, el material estudiado y el uso etnomedicinal de la raíz.

Métodos

Para los estudios histológicos, las muestras de raíz de los ejemplares de herbario fueron reconstituidas en recipiente cerrado que contenía agua con una gota de detergente, que se colocó en estufa a 30 °C por 24-72 horas. Luego, al igual que el material fresco se conservó en solución de formalina-aceto-alcohólica (FAA 70 %) (Johansen, 1940). Se hicieron cortes transversales a mano alzada y parte del material se deshidrató según la serie ascendente alcohol etílico absoluto-xileno.

Tabla 1.- Familia y especies estudiadas

FAMILIA	Nombres vernáculos	Material estudiado	Uso etnomedicinal
AMARANTHACEAE			
<i>Alternanthera philoxeroides</i> (Mart.) Griseb.	“Gamba rusa”, “guambarusa”, “lagunilla”, “raíz colorada” (1).	BA: <i>Pdo. La Plata</i> , La Plata, 14-X-2011, Arambarri 361 (LPAG); Ciudad Autónoma, V-2012, Auguet s.n. (LPAG).	Diurética, depurativa de la sangre. Para tratar trastornos gástricos, hepáticos y renales (5, 7-9).
<i>Alternanthera pungens</i> Kunth	“Bledo”, “caá-pé”, “hierba del pollo”, “pasto del pollo”, “tomatillo”, “torito”, “yerba del empacho”, “yerba del pajarito”, “yerba del pollo”, “yuyo rastrero” (1, 2).	FORM: <i>Dpto. Bermejo</i> , Laguna Yema, 17-V-2004, Bayón y Moreno 778 (LPAG).	Antidiarreica, digestiva (3, 4); raíz + parte aérea: diurética, depurativa (6, 7); depurativa (5); para el empacho (8).
ASTERACEAE			
<i>Acmella decumbens</i> (Sm.) R. K. Jansen	“Barba de indio”, “nim-nim”, “ñil ñil”, “zuma”, “zumaca” (1, 2).	BA: <i>Pdo. Ensenada</i> , Punta Lara, 23-XI-2002, Torres & Gregorio 1028 (LP); <i>Pdo. San Nicolás</i> , San Nicolás de los Arroyos, 8-X-2011, Simón 5112 (LP).	Analgésica (10, 11); sialagogo, analgésico (2); sialagogo, antiodontálgico, pectoral (6); analgésica, estomacal, pectoral (7).
<i>Bidens pilosa</i> L.	“Amor viejo”, “amor seco”, “picón”, “romerillo blanco”, “saetilla” (2, 5, 12).	BA: <i>Pdo. La Plata</i> , La Plata, 20-XI-2011, Hernández 88; (LPAG); 24-IV-2012, Arambarri 379 (LPAG).	Antiodontálgico (5, 6, 8, 11, 12, 13); dolor de oídos, dolor de cabeza y para calmar la irritación de la piel (12).
<i>Cichorium intybus</i> L.	“Abrepuño”, “achicoria”, “achicoria de raíz”, “achicoria silvestre”, “almirón”, “lechuguilla”, “radicha”, “radicheta” (1, 2, 17).	BA: <i>Pdo. Ensenada</i> , Isla Santiago, 29-XI-2011, Hernández 92 (LPAG).	Refrigerante, sudorífico, resolutivo (3, 4, 8), antiinflamatorio (4); diurético, aperitivo, laxante febrífugo (4, 5, 14); la raíz tostada es sucedáneo del café (15-18, 19).
<i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronquist	“Hierba carnícer”, “mata negra”, “melena de viejo”, “rama negra”, “sanguinaria”, “vira vira” (1).	BA: <i>Pdo. La Plata</i> , La Plata, 5-I-2012, Hernández 95, 96 (LPAG).	Refrescante (4, 5, 18, 20).
<i>Pluchea sagittalis</i> (Lam.) Cabrera	“Lucera”, “quitoco”, “yacaré-caá”, “yerba del lucero” (1, 2).	BA: <i>Pdo. Tor-dillo</i> , Gral. Conesa 28-III-1972, Dimitri s. n. (LPAG 4192); <i>Pdo. Ensenada</i> , Isla Santiago, 14-III-2012, Hernández 116 (LPAG).	Flebitis (6, 7, 18, 21, 22).
<i>Solidago chilensis</i> Meyen var. <i>chilensis</i>	“Cola de zorro”, “falso romerillo”, “penachillo”, “punta de lanza”, “romerillo amarillo”, “vara amarilla”, “vara de oro”, “vara de San José” (1, 2).	BA: <i>Pdo. La Plata</i> , La Plata, 28-II-2010, Arambarri 500 (LPAG) <i>Pdo. Berisso</i> , Berisso, 7-III-2012 Hernández 99 (LPAG).	Anticefalálgico (2, 5, 23); anticefalálgico y sedativo (7).

Tabla 1.- Familia y especies estudiadas (cont.)

FAMILIA	Nombres vernáculos	Material estudiado	Uso etnomedicinal
<i>Taraxacum officinale</i> G. Weber ex F. H. Wigg.	“Achicoria amarga”, “achicoria silvestre”, “amargón”, “chicoria”, “diente de león”, “panadero”, “radicha”, “radicheta” (1, 17).	BA: <i>Pdo. Berisso</i> , Isla Paulino, 29-III-2009, Hernández 27 (LPAG); <i>Pdo. La Plata</i> , La Plata, Arambarri 378 (LPAG).	Aperitivo, colagogo, diurético, hepático, laxante suave, antihemorroidal, tónico, hipoglucemiante (5, 7, 17, 18, 19, 24).
<i>Xanthium spinosum</i> L.	“Abrepuño”, “abrojillo”, “abrojito”, “abrojo chico”, “abrojo macho”, “cepa caballo”, “clonque”, “pegote” (1, 2).	BA: <i>Pdo. La Plata</i> , La Plata, 29-XII.1972, Dimitri s. n. (LPAG 3678). FORM: <i>Dpto. Bermejo</i> , Laguna Yema, 17-V-2004, Bayón y Moreno 765 (LPAG).	Laxante suave y diurético (6, 25). emoliente (15); colerético, antiinflamatorio, cicatrizante de heridas (10, 18); diurético, refrescante, estomacal (8); carminativo, antitúxico, antimalárico, antirreumático, antigangrenoso, vulnerario (5). digestivo, febrífugo, hepático (7, 9).
BORAGINACEAE			
<i>Borago officinalis</i> L.	“Borrajá” (1).	BA: <i>Pdo. La Plata</i> , Isla Martín García, 22-X-1992, Hurrell y col., 1255 (LP); <i>Pdo. La Plata</i> , Gonnet 4-X-1998, Delucchi 1846 (LP).	Estimulante del apetito (5).
<i>Echium plantagineum</i> L.	“Borrajá cimarrona”, “borraja del campo”, “escorzonera”, “flor morada” (1, 2).	BA: <i>Pdo. La Plata</i> , Isla Martín García, 22-X-1992, Hurrell y col., 1257 (LP); <i>Pdo. La Plata</i> , La Plata, 14-X-2011, Arambarri 360 (LPAG).	Diurético, refrescante, emoliente diaforético (2, 26).
BRASSICACEAE			
<i>Lepidium auriculatum</i> Regel & Körn.	“Mascuestrito”, “mascueto”, “mastuerzo”, “mastuerzo” (1).	BA: <i>Pdo. La Plata</i> , La Plata, 11-XI-2011, Arambarri 367 (LPAG).	Hepática, digestiva (4, 5, 8)
<i>Lepidium bonariense</i> L.	“Macuestro”, “mastuercito”, “mastuerzo loco”, “yerba de la pastora” (1, 2).	BA: <i>Pdo. La Plata</i> , La Plata, 11-XI-2011, Arambarri 366 (LPAG).	Estomacal (2); hepático (4, 8).
<i>Raphanus sativus</i> L.	“Nabón”, rabanito salvaje”, “rabanito silvestre”, “rábano” (1, 5, 17).	BA: <i>Pdo. La Plata</i> , La Plata, 5-X-2011, Arambarri 359 (LPAG).	Digestivo, tónico, diurético, aperitivo, antitérico, antiescorbútico (5, 6); rubefaciente (3-5).
CHENOPODIACEAE			
<i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin & Clemants	“Ambrosia”, “caá-né”, “caá-ré”, “hierba hedionda”, “hierba hormiguera”, “paico”, “paico macho”, “pichín”, “té de los jesuitas”, “té de España”, “yerba de santa María” (1, 2).	BA: <i>Pdo. La Plata</i> , Isla Martín García, 20-II-1998, Hurrell y col., 3891 (LP).	Digestivo y vermífugo (4, 5, 8, 20).

Tabla 1.- Familia y especies estudiadas (cont.)

FAMILIA	Nombres vernáculos	Material estudiado	Uso etnomedicinal
LAMIACEAE			
<i>Hypsis mutabilis</i> (Rich.) Briq.	“Matico”, “salvia morada”, “verbena negra”, “yerba del lucero”, “yerba del toro”, “yerba lucera” (1, 8).	BA: Pdo. Ramallo, s. l., 22-XII-2001, Torres Robles 623 (LP).	Aperitivo, emenagogo (4, 5, 8); anti-diarreico, anticonceptivo (6).
<i>Marrubium vulgare</i> L.	“Hierba del sapo”, “malva rubia”, “malvarrubia”, “marrubio”, “yerba del sapo”, “yuyo del sapo” (1, 17).	BA: Pdo. La Plata, Etcheverry, 7-VII-2002, Martínez 2 (LPAG); Pdo. Punta Indio, San Clemente de Punta Indio, 13-VII-2006, Martínez 106 (LPAG).	Diurético, hepático, renal (3, 4).
NYCTAGINACEAE			
<i>Mirabilis jalapa</i> L.	“Bella de noche”, “buenas noches”, “dengue”, “diego de noche”, “don Diego de noche”, “falsa jalapa”, “jazmín encarnado”, “maravilla” (1).	BA: Pdo. La Plata, Los Hornos, V-2001 Monti 13 (LPAG); La Plata, 13-XI-2012, Colares s. n. (LPAG 4236).	Purgante, emético (5, 6, 27); emenagogo (6); diurético, antiparasitario (10).
ORCHIDACEAE			
<i>Cyclopogon elatus</i> (Sw.) Schltr.	“Flor de patito”, “niño de noche”, “orquídea blanca”, “orquídea de talar”, “zarzaparrilla de hoja” (1, 2).	BA: Pdo. Baradero, Estancia Los Alamos, río Baradero, 27-X-2003, Torres Robles 1447 (LP).	Refrescante, antirreumático, anti-diarreico, depurativo, antiblenorrágico (5, 7, 8, 20, 28, 29).
POACEAE			
<i>Schizachyrium microstachyum</i> (Desv. ex Ham.) Roseng., B. R. Arrill. & Izag.	“Paja colorada” (1, 2).	BA: Pdo. La Plata, La Plata, 21-II-1995, Bayón 126 (LPAG); José Hernández, 19-V-1995, Bayón 296 (LPAG).	Antiasmático, diurético, febrífugo (7, 8).
SOLANACEAE			
<i>Salpichroa origanifolia</i> (Lam.) Baill.	“Huevo de gallo”, “huevo de gallo”, “pisingallo”, “pizín gallo”, “uva de campo”, “uvilla”, “uvita de campo” (1, 2, 6).	BA: Pdo. La Plata, Gorina, 18-II-1995, Bayón 103 (LPAG); La Plata, 27-IX-2011, Arambarri 353 (LPAG).	Dermatosis, abluente (5, 6, 8).

Abreviaturas: **BA**, Buenos Aires; **FORM**, Formosa. Literatura consultada: (1) de la Peña y Pensiero (2004); (2) Toursarkissian (1980); (3) Hieronymus (1882); (4) Lahitte y Hurrell (1996); (5) Lahitte y col. (2004); (6) Barboza y col. (2006); (7) Barboza y col. (2009); (8) Martínez Crovetto (1981); (9) Carrizo y col. (2005); (10) Alonso y Desmarchelier (2005); (11) Rondina y col. (2008); (12) Lastra Valdés y Ponce de León (2001); (13) Santos y Cury (2011); (14) Ratera y Ratera (1980); (15) Dimitri (1987); (16) Zardini (1984); (17) Rapoport y col. (2009); (18) Hurrell y col. (2011); (19) Hurrell (2013); (20) Martínez Crovetto (1964); (21) Cambi y col. 2006; (22) Bayón (2013); (23) Kutschker y col. (2007); (24) Hernández y col. (2010); (25) Chifa y Ricciardi (2001); (26) Monti y col. (2003); (27) Ragonese y Milano (1984); (28) Hurrell y col. (2005); (29) Novoa y col. (1998).

Se infiltró con parafina (P.F. 56 °C), se realizaron cortes entre 10 y 15 µm de espesor con micrótopo de rotación. Para la tinción se utilizó safranina alcohólica 80 % y solución de violeta de cresilo 1 %. Todas las secciones se montaron en gelatina-glicerina.

Se practicaron técnicas histoquímicas para identificar almidón con solución acuosa de Lugol (iodo-ioduro de potasio) (Ruzin, 1999); para sustancias lipofílicas se empleó una solución alcohólica saturada de Sudán IV (Johansen, 1940); para sustancias fenólicas (taninos) cloruro férrico al 10 % y carbonato de sodio al 2 % como mordiente (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Las estructuras fueron estudiadas con microscopio óptico (MO) Leitz SM Lux. Las figuras fueron preparadas con MO Ceti equipado con cámara digital y con MO Gemalux equipado con cámara color Pal CCD y software Hyper Media Center.

La nomenclatura botánica está de acuerdo con Zuloaga y col. (2008). La terminología está de acuerdo con Metcalfe (1989), Metcalfe y Chalk (1950) y Esau (1982).

Resultados

Los caracteres anatómicos de las raíces permitieron elaborar una clave diacrítica que constituye un patrón para el análisis de calidad botánica.

1. Raíces con estructura primaria diarca a tetraarca y desarrollo de estructura secundaria (Dicotiledóneas).

2. Raíces con estructura anómala que consiste en círculos concéntricos o disposición espiralada de cordones vasculares que se originan de cambiumes formados sucesivamente y conectados entre sí.

3. Estructura primaria triarca. Presencia de drusas.

1. *Alternanthera philoxeroides*
(Figura 1, A)

2. *A. pungens*
(Figura 1, B)

3'. Estructura primaria diarca o tetraarca. Ausencia de drusas.

4. Presencia de rafidios. Ausencia de arena cristalina. Presencia de estructuras secretoras lisígenas en la proximidad de las tráqueas.

3. *Mirabilis jalapa*
(Figura 1, C)

4'. Ausencia de rafidios. Presencia de arena cristalina. Ausencia de estructuras secretoras lisígenas.

4. *Dysphania ambrosioides*

2'. Raíces con estructura normal que consiste en el xilema secundario central, rodeado por el anillo de floema secundario. Ambos originados por el cambium vascular formado a partir del procambium intrafascicular y el parénquima interfascicular.

5. Corteza con aerénquima.

6. Presencia de células esclerificadas. Ausencia de estructuras secretoras esquizógenas.

5. *Hyptis mutabilis*
(Figura 1, D)

6'. Ausencia de células esclerificadas. Presencia de 2-3 estructuras secretoras esquizógenas corticales, extraendodermis y frente a cada grupo de fibras floemáticas.

6. *Pluchea sagittalis*
(Figuras 1, E; F)

5'. Corteza sin aerénquima.

7. Presencia de estructuras secretoras esquizógenas en la corteza.

8. Centro de la raíz con estructura secundaria ocupado por parénquima medular. Tráqueas (poros) con disposición radial.

7. *Bidens pilosa*
(Figura 2, A)

8'. Centro de la raíz con estructura secundaria ocupado por xilema. Poros dispuestos al azar.

9. Presencia de grupos de fibras en la periferia del floema.

8. *Conyza bonariensis*

9. *Solidago chilensis* var. *chilensis*
(Figuras 2, B; C)

9'. Ausencia de grupos de fibras en la periferia del floema.

10. *Xanthium spinosum*
(Figura 2, D)

7'. Ausencia de estructuras secretoras esquizógenas en la corteza.

10. Presencia de tubos laticíferos.

11. Tubos laticíferos dispuestos en círculos concéntricos.

11. *Taraxacum officinale*
(Figura 2, E)

11'. Tubos laticíferos dispuestos en bandas radiales.

12. *Cichorium intybus*
(Figura 2, F)

10'. Ausencia de tubos laticíferos.

12. Presencia de ritidoma.

13. *Marrubium vulgare*

(Figura 3, A)

12'. Ausencia de ritidoma.

13. Presencia de amiloplastos en el parénquima cortical.

14. Xilema secundario con poros solitarios y múltiples con disposición radial.

14. *Lepidium auriculatum*

(Figura 3, B)

15. *L. bonariense*

(Figura 3, C)

14'. Xilema secundario con poros solitarios dispuestos al azar.

16. *Salpichroa origanifolia*

(Figura 3, D)

13'. Ausencia de amiloplastos en el parénquima cortical.

15. Presencia de cristales de inulina en el parénquima cortical. Radios medulares inconspicuos.

17. *Acmella decumbens*

15'. Ausencia de cristales de inulina. Radios medulares conspicuos, pluriseriados y dilatados en el floema secundario.

16. Xilema secundario con predominio de fibras. Los poros solitarios y múltiples dispuestos al azar.

18. *Borago officinalis*

19. *Echium plantagineum*

(Figura 3, E)

16'. Xilema secundario con predominio de parénquima. Los poros múltiples agrupados con fibras con disposición radial.

20. *Raphanus sativus*

(Figura 3, F)

1'. Raíces con estructura primaria poliarca, no hay desarrollo de estructura secundaria (Monocotiledóneas).

17. Presencia de rafidios. Paredes celulares del tejido de protección con filetes de engrosamiento.

21. *Cyclopogon elatus*

(Figura 4, A, a)

17'. Ausencia de rafidios. Paredes celulares del tejido de protección sin filetes de engrosamiento.

22. *Schizachyrium microstachyum*

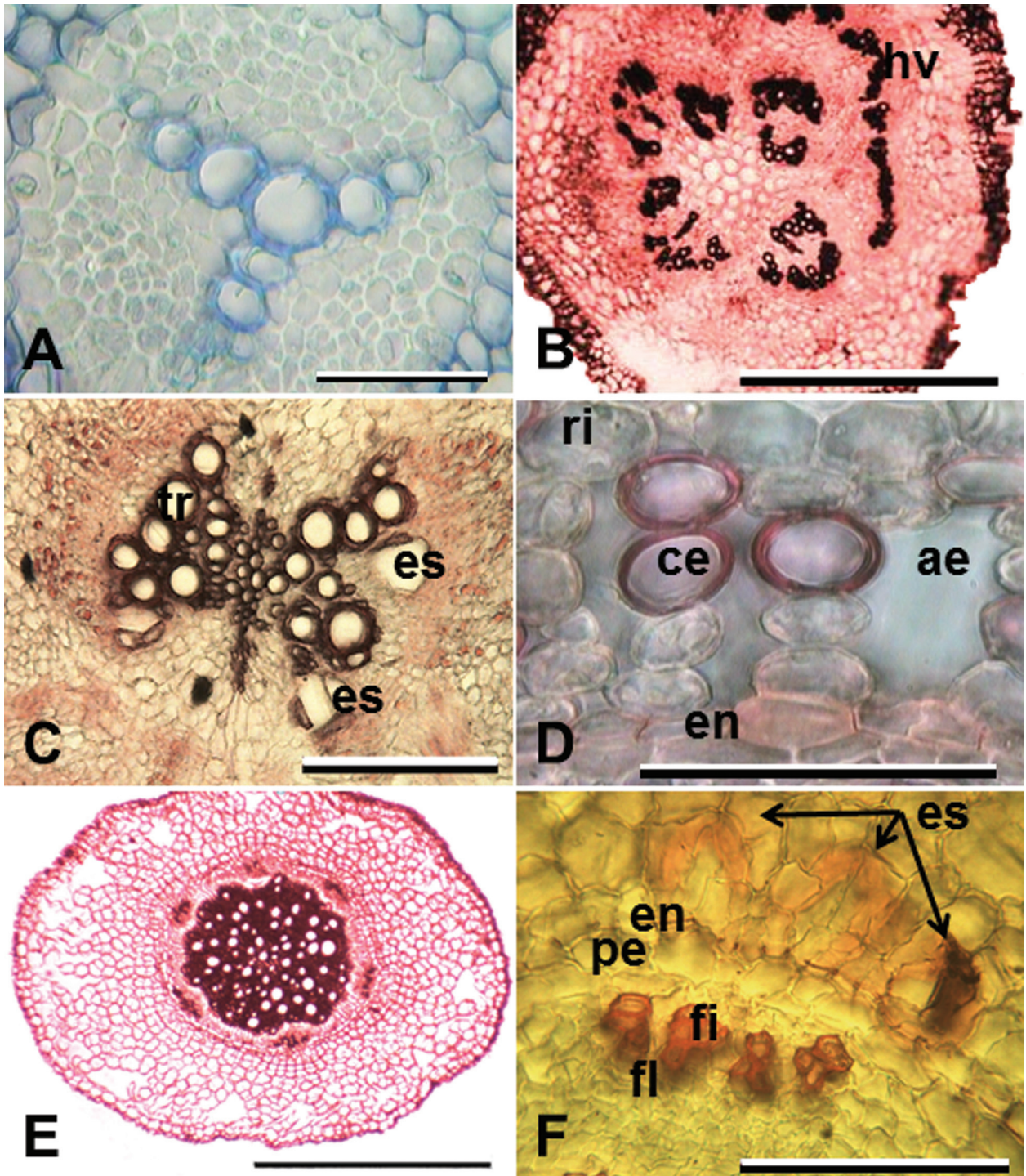
(Figura 4, B)

Discusión

En Dicotiledóneas se encontró un predominio de raíces con estructura primaria tetraarca sobre las diarcas (e. g., *Dysphania* sp.). Las especies de *Alternanthera* (Amaranthaceae), *Dysphania* (Chenopodiaceae) y *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae) mostraron estructura secundaria anómala en coincidencia con lo señalado por numerosos autores (Metcalf y Chalk, 1950; D'Ambrogio y col., 2000). Metcalf y Chalk, refirieron que las estructuras de Amaranthaceae y Nyctaginaceae son tan similares que su diferenciación está dada solo por la ausencia de rafidios o estiloides en la primera. De esta manera, la presencia de rafidios en *Mirabilis jalapa*, de drusas en *Alternanthera* y su ausencia en *Dysphania* se constituye en un carácter con valor diagnóstico.

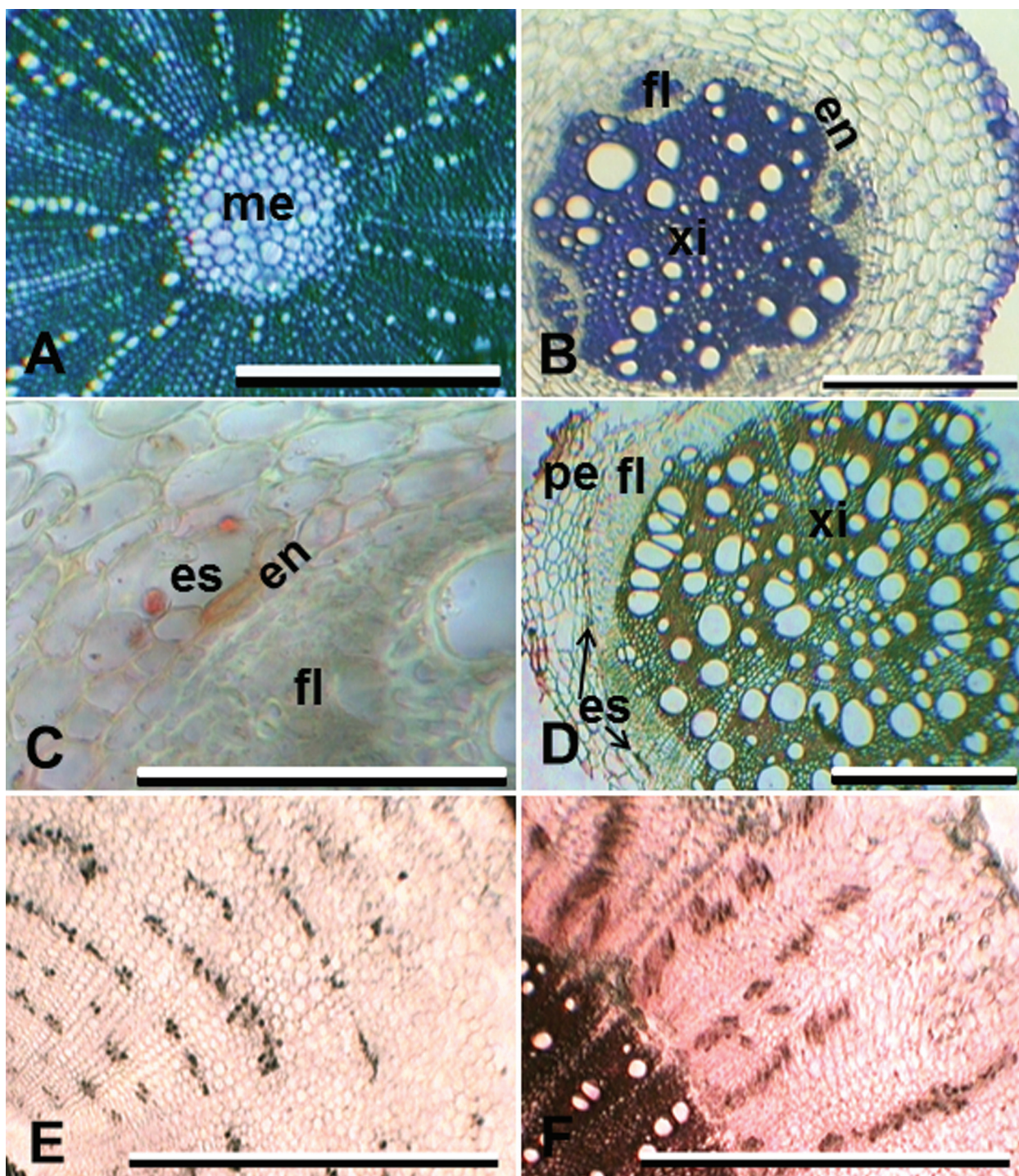
En las Asteraceae se encontraron estructuras secretoras esquizógenas en la raíz de *Bidens pilosa*, *Conyza bonariensis*, *Pluchea sagittalis*, *Solidago chilensis* var. *chilensis* y *Xanthium spinosum*, y coinciden en el tipo de estructura secretora hallada en los tallos de esas especies (Arambarri y col., 2013) y con las cavidades, conductos o reservorios de Lersten y Curtis (1986; 1989), Simon y col. (2002); Plos y col. (2011). Las raíces de *Cichorium* y *Taraxacum* quedaron caracterizadas por la disposición de los tubos laticíferos, en coincidencia con la descripción de Metcalf y Chalk (1950) para *Taraxacum* y el informe de Novoa y Monti (2001). En algunas Asteraceae se observaron abundantes cristales de inulina, en coincidencia con Ragonese (1988), Lüttge y col. (1993) y Strasburger y col. (1994) quienes señalaron que este compuesto se acumula preferentemente en órganos subterráneos. La anatomía de la raíz de Boraginaceae presenta radios medulares pluriseriados y dilatados en el floema secundario, como lo informaron Monti y col. (2003).

Entre las Monocotiledóneas se coincide con Novoa y col. (1998) en que la presencia de rafidios es uno de los caracteres diagnósticos en *Cyclopogon elatus*. En *Schizachyrium microstachyum* es interesante la presencia de una exodermis pluristrata lignificada, que no está presente en *S. condensatum* (Arambarri y Bayón, 1998), especie también usada en medicina popular.

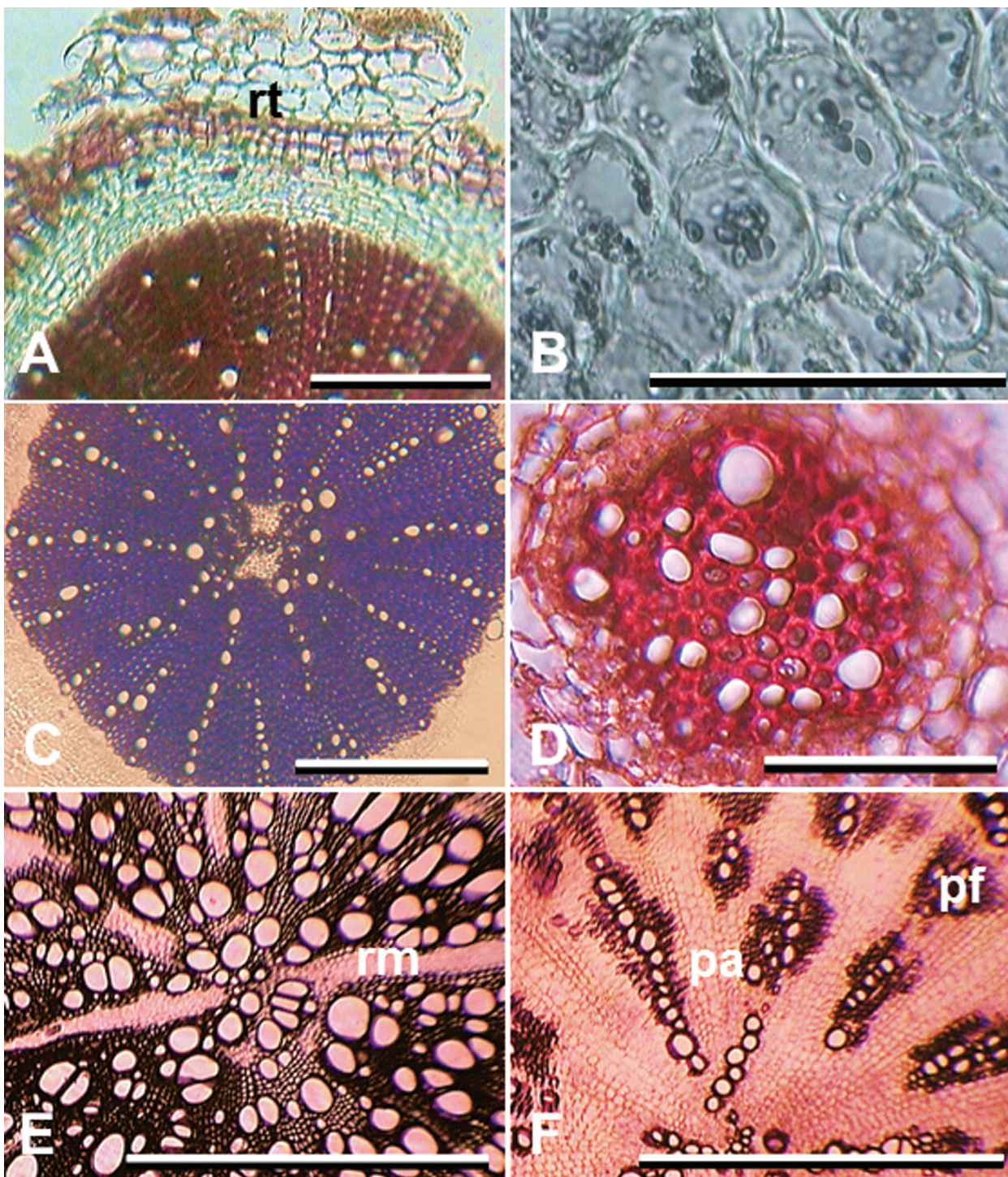
Figura 1.- Anatomía de raíces de Dicotiledóneas

A: *Alternanthera philoxeroides*: Estructura primaria triarca. **B:** *Alternanthera pungens*: estructura secundaria anómala; (hv) haces vasculares. **C:** *Mirabilis jalapa*: (tr) tráqueas del xilema; (es) estructuras secretoras. **D:** *Hyptis mutabilis*: (ae) aerénquima; (ce) células esclerificadas; (en) endodermis; (ri) rizodermis. **E y F:** *Pluchea sagittalis*; **E:** sección transversal de raíz mostrando aerénquima periférico; xilema con poros solitarios dispuestos al azar y floema con grupos de fibras. El conjunto limitado por endodermis conspicua; **F:** (fl) floema con fibras (fi); (pe) periciclo, (en) endodermis; (es) tres estructuras secretoras. Escalas: **A:** 200 μm ; **B:** 400 μm ; **C, D, F:** 100 μm ; **E:** 1000 μm .

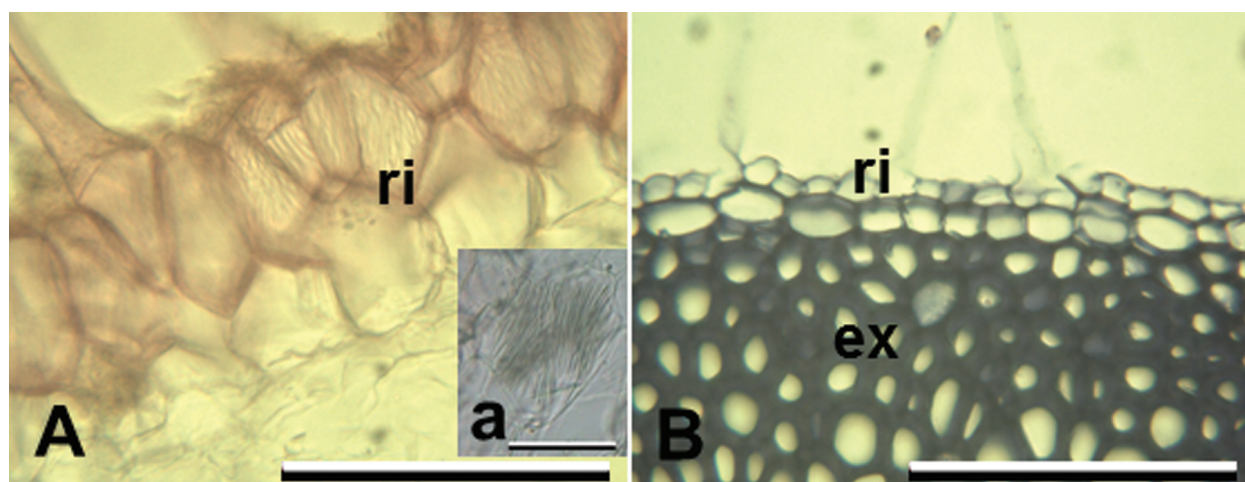
Figura 2.- Anatomía de raíces de Dicotiledóneas



A: *Bidens pilosa*: estructura secundaria con: me, médula parenquimática central; leño con poros solitarios y múltiples dispuestos de manera radial. B y C: *Solidago chilensis* var. *chilensis*; B: desarrollo inicial de estructura secundaria: (xi) xilema con poros solitarios dispuestos al azar; (fl) floema con fibras (cuatro cordones floemáticos); (en) endodermis. C: detalle de una estructura secretora (es) con aceites esenciales; (en) endodermis; (fl) cordón floemático. D: *Xanthium spinosum*: (xi) xilema secundario; (fl) floema secundario; (es) estructuras secretoras; (pe) peridermis. E: *Taraxacum officinale*: (tl) tubos laticíferos dispuestos en círculos concéntricos. F: *Cichorium intybus*: tubos laticíferos dispuestos en bandas radiadas. Escalas: A, D: 500 μm ; B: 200 μm , C: 100 μm ; E, F: 1000 μm .

Figura 3.- Anatomía de raíces de Dicotiledóneas

A: *Marrubium vulgare*: (rt) ritidoma; leño con poros solitarios distribuidos al azar. B: *Lepidium auriculatum*: detalle de almidón en el parénquima cortical. C: *Lepidium bonariense*: poros solitarios y múltiples con disposición radial. D: *Salpichroa organifolia*: poros solitarios dispuestos al azar. E: *Echium plantagineum*: xilema secundario con poros solitarios y múltiples dispuestos al azar; (rm) radios medulares. F: *Raphanus sativus*: detalle del xilema secundario con predominio de parénquima (pa) y poros múltiples agrupados con fibras (pf), con disposición radial. Escalas: A: 200 μm ; B, C, D: 100 μm ; E, F: 1000 μm .

Figura 4.- Anatomía de raíces de Monocotiledóneas

A: *Cyclopogon elatus*: (ri) rizodermis formada por células con filetes de engrosamiento en las paredes; (a) rafidios.
B: *Schizachyrium microstachyum*: (ri) rizodermis sin filetes de engrosamiento, con pelos absorbentes; (ex) exodermis multistrata con paredes engrosadas y lignificadas.

Conclusiones

La anatomía comparada de las raíces permitió establecer como caracteres diagnósticos: (1) la estructura triarca en *Alternanthera* spp., diarca o tetarca en las restantes Dicotiledóneas, poliarca en Monocotiledóneas; (2) estructura anómala en las especies de Amaranthaceae, Chenopodiaceae y Nyctaginaceae; (3) presencia de estructuras secretoras lisígenas en *Mirabilis jalapa*; (4) presencia de estructuras secretoras esquizógenas en Asteraceae; (5) presencia de tubos laticíferos en *Cichorium* y *Taraxacum*; (6) presencia de abundante almidón en los parénquimas de *Lepidium* spp., *Mirabilis jalapa* y *Salpichroa organifolia*; (7) presencia de cristales del tipo drusas (*Alternanthera* spp.); (8) rafidios (*Cyclopogon* y *Mirabilis*); (9) arena cristalina (*Dysphania* y *Salpichroa*); leño con poros solitarios o múltiples, con diferente disposición (al azar o radial).

Los caracteres observados permitieron generar la clave de identificación micrográfica de las raíces, y constituyen una herramienta de valor en el control de calidad botánica.

Agradecimientos

A los curadores de los herbarios LP, LPAG por facilitar parte del material estudiado. A Claudia Monti por el aporte en el tratamiento del leño, y a los revisores por la lectura crítica del manuscrito y sugerencias brindadas que contribuyeron a mejorarlo. A la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de La Plata por la financiación de los estudios.

Referencias bibliográficas

- Alonso, J.; Desmarchelier, C. (2005). *Plantas medicinales autóctonas de la Argentina. Bases científicas para su aplicación en atención primaria de la salud*, Literature of Latin America (L.O.L.A.), Buenos Aires: 663.
- Arambarri, A.M.; Bayón, N.D. (1998). "Anatomía y etnobotánica de las especies medicinales de Monocotiledóneas de la Estepa Pampeana de Argentina: Poaceae". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 17(3): 173-190.

- Arambarri, A.M.; Novoa, M.C.; Hernández, M.P.; Colares, M.N.; Perrotta, V.G. (2013). "Anatomía de Dicotiledóneas: tallos de hierbas terrestres medicinales rioplatenses (Buenos Aires, Argentina)". *Bonplandia* 22(1): 5-28.
- Barboza, G.E.; Cantero, J.J.; Núñez, C.O.; Ariza Espinar, L. (eds.). (2006). *Flora medicinal de la provincia de Córdoba (Argentina)*. Museo Botánico de Córdoba: 1265.
- 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): 7-365. [En línea] <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1852-59622009000100002&lng=es&nrm=iso>. [Consulta: 8 de junio de 2013].
- Bayón, N.D. (2013). "*Pluchea sagittalis*", en Hurrell, J.A. (dir.) *Flora Rioplatense Parte 2. Dicotiledóneas*, Vol. 7°. Sociedad Argentina de Botánica (1ª ed.), Corrientes: 304.
- Cambi, V.; Bucciarelli, A.; Flemmer, A.; Hansen, P. (2006). "Morfoanatomía de *Pluchea sagittalis* (Asteraceae), especie nativa de interés medicinal". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 25(1): 43-49.
- Carrizo, E del V.; Palacio, M.O.; Roic, D. (ex aequo). (2005). "Uso medicinal de algunas especies nativas en Santiago del Estero (República Argentina)". *Dominguezia* 21(1): 25-32.
- Chifa, C.; Ricciardi, A.I.A. (2001). "Plantas de uso en medicina vernácula del centro del Chaco argentino". Fundación Miguel Lillo. *Miscelánea* 117: 1-32.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. (1986). *Manual de técnicas en histología vegetal*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 86.
- D'Ambrogio, A.; Fernández, S.; González, E.; Furlán, I.; Frayssinet, N. (2000). "Estudios morfoanatómicos y citológicos en *Atriplex sagittifolia* (Chenopodiaceae)". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 35(3-4): 215-226.
- De la Peña, M.R.; Pensiero, J.F. (2004). "Plantas argentinas. Catálogo de nombres comunes". *Literature of Latin America* (L.O.L.A.), Buenos Aires: 373.
- Dimitri, J.M. (1987). *Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería*. I (1): 1- 656. 3ª ed. Acme, Buenos Aires.
- Esau, K. (1982). *Anatomía de las plantas con semilla*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 512.
- Hernández, M.P.; Civitella, S.M.; Rosato, V.G. (2010). "Uso medicinal popular de plantas y líquenes de la Isla Paulino, provincia de Buenos Aires, Argentina". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 9(4): 258-268.
- Hernández, M.P.; Novoa, M.C.; Civitella, S.M.; Masson, D.; Oviedo, A. (2013). "Plantas usadas en medicina popular en la Isla Santiago, Buenos Aires, Argentina". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 12(4): 385-399.
- Hieronymus, J. (1882). "Plantae diaforicae florum argentinae". *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias de Córdoba* 4: 200-598.
- Hurrell, J.A. (2013). "*Cichorium intybus* y *Taraxacum officinale*" en: Hurrell, J.A. (dir.) *Flora Rioplatense Parte 2. Dicotiledóneas*, Vol. 7°. Sociedad Argentina de Botánica (1ª ed.), Corrientes: 304.
- Hurrell, J.A.; Bazzano, D.A.; Delucchi, G. (2005). "Monocotiledóneas herbáceas, nativas y exóticas". *Literature of Latin America* (L.O.L.A.), Buenos Aires: 317.
- Hurrell, J.A.; Ulibarri, E.A.; Arenas, P.M.; Pochettino, M.L. (2011). "Plantas de herboristería". *Literature of Latin America* L.O.L.A., Buenos Aires: 242.
- Johansen, D.A. (1940). *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, New York: 523.
- Kutschker, A.; Menoyo, H.; Hechem, V. (2007). *Plantas medicinales de uso popular en comunidades del oeste del Chubut*. Bavaria, San Carlos de Bariloche, Río Negro: 139.
- Lahitte, H.B.; Hurrell, J.A. (1996). "*Las plantas de la medicina popular de la isla Martín García*". Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires: 246.
- Lahitte, H.B.; Hurrell, J.A.; Mehltreter, K.; Belgrano, M.J.; Jankowski, L.S.; Haloua, M.P.; Canda, G. (1997). "Plantas de la costa". *Literature of Latin America* (L.O.L.A.), Buenos Aires: 200.
- Lahitte, H.B.; Hurrell, J.A.; Belgrano, M.J.; Jankowski, L.S.; Haloua, M.P.; Mehltreter, K. (2004). "Plantas medicinales rioplatenses". (reimpresión de la edición 1998). *Literature of Latin America* (L.O.L.A.), Buenos Aires: 240.

- Lastra Valdés, H.A.; Ponce de León, H. (2001). "Bidens pilosa Linné". *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 1: 28-33.
- Lersten, N.R.; Curtis, J.D. (1986). "Tubular cavities in white snakeroot, *Eupatorium rugosum* (Asteraceae)". *American Journal of Botany* 73(7): 1016-1021.
- Lersten, N.R.; Curtis, J.D. (1989). "Foliar oil reservoir anatomy and distribution in *Solidago canadensis* (Asteraceae, tribe Astereae)". *Nordic Journal of Botany* 9(3): 281-287.
- Lüttge, U.; Kluge M.; Bauer, G. (1993) "Botánica", McGraw-Hill, España: 355.
- Martínez Crovetto, R. (1964). "Estudios etnobotánicos I. Nombres de plantas y su utilidad, según los indios tobas del este del Chaco". *Bonplandia* 1(4): 279-333.
- Martínez Crovetto, R. (1981). "Las plantas utilizadas en medicina popular en el noroeste de Corrientes". Fundación Miguel Lillo. *Miscelánea* 69: 7-139.
- Metcalf, C.R. (1989). "Anomalous structure". In: C.R. Metcalf y L. Chalk (dir.). *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. 2: 53-63. Clarendon Press, Oxford.
- Metcalf, C.R.; Chalk, L. (1950). *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. 1 y 2. Clarendon Press, Oxford: 1500.
- Monti, C.; Novoa, M.C.; Vizcaíno, C.E. (2003). "Anatomía y etnobotánica de dos especies de Boraginaceae de la provincia pampeana (Argentina), usadas en la medicina popular". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 22(3): 197-201.
- Novoa, M.C.; Monti, C. (2001). "Anatomía de la raíz de las especies de *Polygala* L. (Polygalaceae) de la Provincia Pampeana (Argentina), usadas en la medicina popular y su comparación en *P. senega* y sus adulterantes". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 20(2): 115-119.
- Novoa, M.C.; Vizcaíno, C.E.; Colares, M.N. (1998). "Anatomía y etnobotánica de las especies medicinales de Monocotiledóneas de la Estepa Pampeana de Argentina: Orchidaceae y Pontederiaceae". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 17(3): 165-172.
- Novoa, M.C.; Colares, M.N.; Arambarri, A.M. (2012). "Anatomy of Monocotyledons: stems and rhizomes of land herbs used as medicinal in the Rio de La Plata (Argentina)". *Bonplandia* 21(2): 53-61.
- Plos, A.; Sancho, G.; Iharlegui, L. (2011). "Secretory structures of leaves of *Ophryosporus* Meyen (Asteraceae, Eupatorieae), a genus with medicinal properties". *The Journal of the Torrey Botanical Society* 138(4): 391-399. [En línea] <http://dx.doi.org/10.3159/TORREY-D-11-00012.1> [Consulta: Julio 2013].
- Ragonese, A.M. (1988). "Canales secretores en los órganos vegetativos de *Eupatorium inulaefolium* H.B.K. (Compositae)". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 7(3): 161-168.
- Ragonese, A.E.; Milano V.A. (1984). *Vegetales y sustancias tóxicas de la flora argentina*. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería, Acme, Buenos Aires, 2ª edición, T 2, Fasc. 8-2(242): 245-413.
- Rapoport, E.H.; Marzocca, A.; Drausal, B.S. (2009). *Malezas comestibles del cono sur y otras partes del planeta*. INTA, Argentina: 215.
- Ratera, E.; Ratera, M. (1980). *Plantas de la flora argentina empleadas en medicina popular*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 189.
- Rondina, R.V.D.; Bandoni, A.L.; Coussio, J.D. (2008). "Especies medicinales argentinas con potencial actividad analgésica". *Dominguezia* 24(1): 47-69.
- Ruzin, S.E. (1999). *Plant microtechnique and microscopy*. University Press, Oxford: 323.
- Santos, J.B.; Cury, J.P. (2011). "Picão-preto: uma planta daninha especial em solos tropicais". *Planta Daninha*, Viçosa-MG 29: 1159-1171.
- Simon, P.M.; Katinas, L.; Arambarri, A.M. (2002). "Secretory structures in *Tagetes minuta* (Asteraceae, Helenieae)". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 37(3-4): 181-191.
- Strasburger, E.; Noll, F.; Schenck, H.; Schimper, A.F.W. (1994) *Tratado de Botánica*, Omega, Barcelona: 1068.
- Toursarkissian, M. (1980). *Plantas medicinales de la Argentina*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 178.
- Zardini, E.M. (1984). "Etnobotánica de Compuestas argentinas, con especial referencia a su uso farmacológico". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 3: 77-99.
- Zuloaga, F.O.; Morrone, O.; Belgrano, M.J. (eds.). (2008). "Catálogo de las plantas del Cono Sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay)", vol. 2 y vol. 3. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 107: 985-3348 [en línea]. <http://www.darwin.edu.ar/> [Consulta: Julio 2013].

Relación entre actividad antioxidante y contenido de fenoles y flavonoides totales en semillas de *Cucurbita* spp

Gabriela M. Valenzuela*, Alicia L. Cravzov, Ariadna S. Soro, Alicia L. Tauguinás, María C. Giménez, Mabel R. Gruszycki

Universidad Nacional del Chaco Austral. Comandante Fernández 755 (3700). Roque Sáenz Peña, Chaco, Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: gabriela@uncaus.edu.ar

Resumen

El propósito de este trabajo fue determinar la actividad antioxidante en extractos de semillas de cuatro variedades de *Cucurbita* spp: Tetsukabuto, un híbrido entre *C. moschata* y *C. maxima* Duchesne ex Lam. (“zapallo japonés”); *C. mixta* Pangalo (“calabaza rayada”); *C. moschata* (Duchesne ex Lam.) Duchesne ex Poir. (“coreanito”) y *C. maxima* Duchesne (“calabaza plomo”) con respecto a su contenido de fenoles totales y flavonoides. Se obtuvieron extractos de polaridad decreciente utilizando los siguientes solventes: agua acidificada, metanol, acetona y acetato de etilo; los fenoles totales y los flavonoides se cuantificaron con el método de Folin-Ciocalteu, y el de formación de complejos con $AlCl_3$ al 5 % respectivamente. Para determinar la actividad antioxidante de los extractos se utilizó la técnica de decoloración del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH[•]). El contenido de fenoles totales fue: Tetsukabuto ($165,48 \pm 0,94$); *C. mixta* Pangalo ($293,07 \pm 6,86$); *C. moschata* ($118,79 \pm 3,72$); *C. maxima* Duchesne ($194,91 \pm 7,51$) ($\mu\text{mol GAE/g}$ de extracto). Los valores de flavonoides oscilaron entre ($32,18 \pm 1,39$) y ($96,63 \pm 1,14$) mg de quercetina/g de extracto. La actividad antioxidante expresada como concentración inhibidora media (IC50) mostró los siguientes resultados: Tetsukabuto ($117,69 \pm 5,81$), *C. mixta* Pangalo ($77,75 \pm 3,64$), *C. moschata* ($110,67 \pm 1,70$), *C. maxima* Duchesne ($87,39 \pm 8,64$) (mg/ml). Un análisis unidireccional de varianza mostró que hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las variedades estudiadas. De los resultados obtenidos se observa una clara relación entre el contenido de fenoles totales y flavonoides con actividad antioxidante. *C. mixta* Pangalo fue la variedad que mostró mayor actividad antioxidante, que puede ser considerada fuente de antioxidantes naturales para producir un efecto benéfico para la salud.

Relationship between antioxidant activity and total phenolic and total flavonoid contents in *Cucurbita* spp seeds

Summary

The purpose of this study was to determine the antioxidant activity in seed extracts of four varieties from *Cucurbita* spp: Tetsukabuto, a hybrid between *C. moschata* and *C. maxima* Duchesne ex Lam. (“zapallo japonés”); *C. mixta* Pangalo (“calabaza rayada”); *C. moschata* (Duchesne ex Lam.) Duchesne ex Poir. (“coreanito”), and *C. maxima* Duchesne (“calabaza plomo”) in relation to total phenolic and total flavonoid

Palabras clave: actividad antioxidante - semillas - calabaza.

Key words: antioxidant activity - seeds - pumpkin.

contents. Extracts of decreasing polarity were obtained using the following solvents: acidified water, methanol, acetone, and ethyl acetate, the total phenols and flavonoids were quantified by the Folin-Ciocalteu and complexation with AlCl_3 to 5% respectively. To determine the antioxidant activity of extracts free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) bleaching technique was used. Total phenolic content was: Tetsukabuto (165.48 ± 0.94); *C. mixta* Pangalo (293.07 ± 6.86); *C. moschata* (118.79 ± 3.72); *C. maxima* Duchesne (212.87 ± 7.51) ($\mu\text{mol GAE/g}$ of extract). Flavonoid values ranged from (32.18 ± 1.39) and (96.63 ± 1.14) quercetin mg/g of extract. Antioxidant activity expressed as median inhibitory concentration (IC50) showed the following results: Tetsukabuto (117.69 ± 5.81), *C. mixta* Pangalo (77.75 ± 3.64), *C. moschata* (110.67 ± 1.70), *C. maxima* Duchesne (87.39 ± 8.64) (mg/ml). A one-way analysis of variance showed significant differences ($p < 0.05$) among the studied varieties. Results obtained show a clear relationship between the content of total phenols and total flavonoid with antioxidant activity. *C. mixta* Pangalo variety showed higher antioxidant activity, which can be considered a source of natural antioxidants with a beneficial effect on health.

Introducción

Desde la antigüedad las semillas de calabaza (*Cucurbita* spp) tienen múltiples usos en diferentes países, como alimento y con fines medicinales (Robinson y col., 1997). El hombre, desde sus inicios, en un proceso de relación con el entorno buscó siempre en la naturaleza la manera de encontrar la cura de las enfermedades que lo aquejaban. En forma empírica en su afán de encontrar la sanación de sus dolencias, fue descubriendo el efecto del buen uso de las plantas, y con el paso del tiempo investigó y extrajo sus propiedades (Cáceres y col., 2009).

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras y propiedades químicas, y actividad biológica, englobando más de 8.000 compuestos distintos.

El estudio de las reacciones oxidativas se ha incrementado en los últimos años debido a que la oxidación de los componentes celulares por acción de los radicales libres, entre otros factores, fue reconocida como la causa de procesos como el envejecimiento celular y numerosas enfermedades, como cáncer, mal de Parkinson, Alzheimer y enfermedades cardiovasculares (Espin y col., 2000; Fukumoto y Mazza, 2000). Por sus potenciales aplicaciones en la prevención de numerosas enfermedades (Yu y col., 2001) los antioxidantes naturales presentes en granos, vegetales y frutas han recibido considerable atención.

La búsqueda de variantes naturales es premisa futura; por lo tanto, en este trabajo se determinó el

contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante en cuatro variedades de semillas de *Cucurbita* spp (Figura 1) cultivadas en la provincia del Chaco: Tetsukabuto (“zapallo japonés”) híbrido entre *C. moschata* y *C. maxima* Duchesne ex Lam., *C. mixta* Pangalo (“calabaza rayada”), *C. moschata* (Duchesne ex Lam.) Duchesne ex Poir. (“coreanito”) y *C. maxima* Duchesne (“calabaza plomo”).

Figura 1.- Variedades de *Cucurbita* spp



CMa: *Cucurbita maxima* Duchesne o “calabaza plomo”; **CMi:** *Cucurbita mixta* Pangalo o “calabaza rayada”; **CMo:** *Cucurbita moschata* (Duchesne ex Lam.) Duchesne ex Poir. o “coreanito”; **T:** “tetsukabuto”, un híbrido entre *C. moschata* y *C. maxima*.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se procedió a la recolección de semillas de diferentes variedades de *Cucurbita* spp de productores de la región. Las muestras fueron desecadas hasta obtener peso constante y luego, almacenadas en bolsas plásticas, cerradas herméticamente e identificadas con etiquetas. Muestras frescas de las especies vegetales (hoja, flor y fruto) fueron depositadas en la Cátedra de Farmacobotánica de la Universidad Nacional del Chaco Austral para su identificación.

Obtención de extractos con solventes de polaridad decreciente

Se homogeneizaron 10 gramos de semillas de calabaza en 50 ml de agua desionizada acidificada (2 % de ácido acético) por medio de un homogeneizador (Ultra-Turrax T25, JANKE y Kunkel, IKA-Labortechnik). La suspensión se dejó a temperatura ambiente durante 10 min y se centrifugó a 800 rpm durante 10 min. El sobrenadante se recogió en un erlenmeyer, y el sedimento se trató nuevamente con 50 ml de agua acidificada. La suspensión se centrifugó a 800 rpm durante 10 min y el sobrenadante resultante se combinó con el sobrenadante de la primera centrifugación, mientras que el sedimento restante se homogeneizó en 50 ml de metanol acidificado (ácido acético al 2 %). Este procedimiento se realizó por duplicado.

Se extrajo luego el residuo restante de cada fracción con acetona y acetato de etilo. Finalmente fueron obtenidos cuatro extractos de semilla de calabaza: un extracto de acuoso (W), un extracto metanólico (M), uno en acetona (Ac) y otro extracto de acetato de etilo (AcEt). Todas las fracciones fueron evaporadas a presión reducida y se volvieron a disolver en el mismo solvente que se utilizó para su extracción; este proceso se practicó para cada una de las cuatro variedades de *Cucurbita* spp estudiadas.

Cuantificación de fenoles totales

El contenido de fenoles totales se determinó por el método de Singleton y col. (1999), que se fundamenta en que los compuestos fenólicos reducen el reactivo de Folin-Ciocalteu (reactivo de tungsteno y molibdato) para formar un complejo azulado que

absorbe a 765 nm. A 200 μ l de muestra se agregaron 2 ml de agua desionizada y 0,2 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu; después de 2 minutos se agregó 0,8 ml de carbonato de sodio 15,9 %, se incubó a 50 °C durante 5 minutos y se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro UV-Visible Perkin Elmer Lambda 25.

Se realizó una curva de calibración con una solución alcohólica de ácido gálico (AG). Se empleó una solución madre de concentración 0,1 mg/ml, que abarcaba un rango de 0,002 a 0,035 mg de ácido por ml de solución. Los resultados fueron expresados en μ mol de ácido gálico por g de extracto (μ mol AG/g extracto).

Cuantificación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales en los diferentes extractos fue determinado por el método de Popova y col. (2004) con modificaciones. A una alícuota de 0,2 ml de extracto se le adicionaron 1,8 ml de metanol y 1 ml de solución etanólica de $AlCl_3$ 5 %. Después de una hora de incubación a temperatura ambiente, la absorbancia fue medida a 425 nm en un espectrofotómetro UV-Visible Perkin Elmer Lambda 25. Se usaron soluciones de quercetina entre 5-25 μ g/ml, para construir la curva de calibración.

El contenido de flavonoides totales fue calculado como mg equivalentes de quercetina (QE)/g de extracto. Este procedimiento se efectuó con cada uno de los extractos de cada variedad por triplicado.

Actividad antioxidante

Se usó el método descrito por Brand-Williams (1995). Este método está basado en la reducción de una solución alcohólica de DPPH en presencia de un antioxidante donador de hidrógeno. Se calculó la cantidad de antioxidantes necesarios en la muestra para reducir la concentración inicial de radical DPPH en un 50 %. El radical DPPH fue disuelto en etanol al 95 %; se tomaron 2,5 ml de solución de DPPH de absorbancia igual a 1,0 y se agregaron alícuotas del extracto. Los valores de eficiencia de concentración se realizaron a los 10 minutos de reacción, la disminución de las absorbancias fue registrada a intervalos de 1 minuto. Se trabajó a 515 nm como la longitud de onda máxima en un espectrofotómetro UV-Visible Perkin Elmer Lambda 25. La concentración del radical DPPH, en el medio de la reacción,

se calculó mediante regresión no lineal a partir de una curva de calibración obtenida por diferentes concentraciones del extracto vs. la concentración del radical DPPH.

La capacidad atrapadora de radicales libres (*ARR*) se calculó mediante la ecuación:

$$ARR(\%) = 100 \left[1 - \frac{A_m^\infty}{A^0} \right]$$

donde

A^0 : absorbancia al tiempo 0 sin el agregado de muestra.

A_m^∞ : absorbancia de la muestra en estado estacionario obtenida mediante el ajuste de los perfiles cinéticos a tiempo infinito.

Sin embargo, los resultados obtenidos por este método se informan como IC_{50} que es la concentración inhibitoria media, es decir, la concentración de compuestos antioxidantes que es capaz de inhibir el 50 % del radical DPPH.

Análisis de datos

Los resultados se analizaron mediante ANOVA de un factor ($p < 0,05$) y se empleó la prueba LSD para la comparación de medias. Se utilizó el programa estadístico STATGRAPHICS Plus.

Resultados

Contenido de fenoles totales

Los compuestos fenólicos son muy importantes como constituyentes en las plantas debido a su habilidad para secuestrar radicales libres y que está relacionada con la presencia en la molécula del grupo hidroxilo. En la tabla 1 se muestra la concentración de compuestos fenólicos totales de cada fracción para las cuatro variedades de semillas de *Cucurbita* spp. Un análisis unidireccional de varianza muestra que hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las variedades estudiadas.

Tabla 1.- Fenoles totales en extractos de semillas de calabaza, como μmol de ácido gálico/g extracto

Variedad	Fracción				
	W	M	Ac	AcEt	Total
CMi	67,48 \pm 1,22	95,96 \pm 3,25	48,72 \pm 3,46	80,91 \pm 1,89	293,07 \pm 6,86
CMo	14,15 \pm 0,20	70,78 \pm 0,20	22,57 \pm 1,40	11,29 \pm 0,21	118,79 \pm 3,72
T	25,06 \pm 0,78	68,80 \pm 1,48	29,49 \pm 2,67	42,12 \pm 0,67	165,48 \pm 0,94
CMa	53,88 \pm 0,58	62,79 \pm 3,34	30,75 \pm 2,76	47,49 \pm 0,13	194,91 \pm 7,51

*Fracciones: W: acuosa; M: metanol; Ac: acetona; AcEt: acetato de etilo.

**Variedad de semillas. CMi, *C. mixta* Pangalo; CMo, *C. moschata* (Duchesne ex Lam.) Duchesne ex Poir; T, híbrido entre *C. moschata* y *C. maxima* Duchesne ex Lam.; CMa, *C. maxima* Duchesne.

Tabla 2.- Flavonoides totales en extractos de semillas de calabaza, como mg de quercetina/g extracto

Variedad	Fracción				
	W	M	Ac	AcEt	Total
CMi	1,35 \pm 0,05	1,42 \pm 0,15	39,12 \pm 1,94	54,74 \pm 0,46	96,63 \pm 1,14
CMo	0,43 \pm 0,07	0,41 \pm 0,04	25,64 \pm 0,12	53,55 \pm 0,21	80,14 \pm 0,18
T	1,72 \pm 0,08	0,53 \pm 0,01	20,66 \pm 1,02	9,27 \pm 0,18	32,18 \pm 1,39
CMa	0,48 \pm 0,06	0,29 \pm 0,33	24,23 \pm 1,85	52,77 \pm 0,05	77,77 \pm 1,82

*Fracciones: W: acuosa; M: metanol; Ac: acetona; AcEt: acetato de etilo.

**Variedad de semillas. CMi, *C. mixta* Pangalo; CMo, *C. moschata* (Duchesne ex Lam.) Duchesne ex Poir; T, híbrido entre *C. moschata* y *C. maxima* Duchesne ex Lam.; CMa, *C. maxima* Duchesne.

Contenido de flavonoides totales

Los resultados del contenido de flavonoides totales se presentan en la tabla 2 y se correlacionan con el de contenido de fenoles totales puesto que los flavonoides son un subgrupo de los compuestos fenólicos. Un análisis unidireccional de varianza muestra que hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las variedades estudiadas.

Actividad antioxidante

Los resultados de la actividad antioxidante indican que todas las variedades de semillas de *Cucurbita* spp fueron capaces de atrapar radicales DPPH de una manera dependiente de la concentración; un análisis unidireccional de varianza muestra que hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las variedades estudiadas. Su actividad antioxidante expresada como concentración inhibidora media (IC_{50}) se muestra en el figura 2.

Discusión

Los compuestos fenólicos tienen una importante acción en la estabilización de la oxidación lipídica, han sido asociados con la capacidad atrapadora de radicales libres y se ha sugerido que tienen efecto inhibitorio sobre la mutagénesis y la carcinogénesis (Ortiz y col., 2007). Los valores más altos de fenoles totales se observaron en la fracciones metanólicas de las cuatro variedades de *Cucurbita* spp con valores que van desde 10,68-16,32 mg AG/g extracto, mayores a su vez, que los informados por Xanthopoulou y col. (2009), pues hallaron valores en la fracción metanólica de 0,09-0,20 mg AG/g extracto de semillas de zapallo, y también

son superiores a los publicados por Parry y col. (2008), 1,58 mg AG/g de harina y en extractos metanólicos de aceite de semillas de calabaza (Parry y col., 2006), que informó un valor de 0,98 mg AG/g aceite.

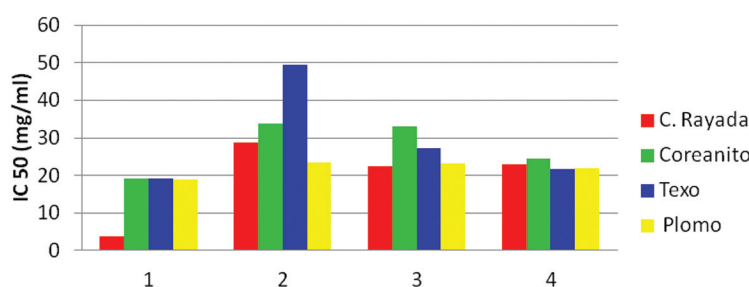
A su vez, se obtuvo alta concentración de compuestos fenólicos en la fracción acuosa que se puede atribuir a la presencia de proteínas y otros compuestos solubles en agua que contienen anillos fenólicos: *C. mixta* Pangalo ($67,48 \pm 1,22 \mu\text{mol GA/g}$ extracto) y *C. maxima* Duchesne, ($53,88 \pm 0,58 \mu\text{mol GA/g}$ extracto) son las variedades que presentaron mayor contenido en esta fracción.

En las fracciones de acetato de etilo, donde se utilizó este solvente para extraer los compuestos fenólicos, es muy difícil que algunos azúcares atraviesen el extracto, pero sí otros fenoles diferentes a ácidos fenólicos y que redujeron el reactivo de Folin-Ciocalteu, debido a que en esta fracción fueron relevantes las concentraciones halladas en todas las variedades de *Cucurbita* spp, con valores de $11,29 \pm 0,21$ a $80,91 \pm 1,89 \mu\text{mol GA/g}$ extracto.

En cambio, en las fracciones con acetona se observaron los valores más bajos en la cuantificación de fenoles totales. Según la técnica espectrofotométrica todas las especies presentaron mayor concentración de flavonoides totales en la fracción de acetato de etilo con valores que oscilaron entre $54,74 \pm 0,46$ y $9,27 \pm 0,18$ (mg de quercetina/g de extracto); *C. mixta* Pangalo fue la variedad que presentó mayor contenido, incluso menor que los informados por (Cáceres y col., 2009) pues hallaron para *Cucurbita argyrosperma*, valores de $110 \pm 5,32$ mg de quercetina/g de muestra. Pero a su vez, es mayor que el hallado por (Ojiako y col., 2007) en *Cucurbita moschata* (quercetina 17,73 mg/100g).

En las cuatro variedades de semillas de *Cucurbita* spp estudiadas, la capacidad atrapadora de radicales

Figura 2.- Concentración inhibitoria media en extractos de semilla de calabaza



Extractos: 1, acuoso; 2, metanólico; 3, acetona; 4, acetato de etilo.

libres más alta se detectó en las fracciones acuosas, donde se destacó *C. mixta* Pangalo (IC_{50} 3,83 ± 0,47), con una capacidad mayor que la detectada por Xanthopoulou y col. (2009) para semillas de cucurbita. Sin embargo, los valores hallados por estos autores son mayores que los hallados para Tetsukabuto, *C. moschata* y *C. maxima* Duchesne en la fracción acuosa.

Además, extractos en acetona de avellana (0,098 mg/ml) (Alasalvar y col., 2006) y extracto acuoso de nuez 0,15-0,22 mg/ml (Pereira y col., 2008) parecen ser más eficaces inactivadoras del radical DPPH que los correspondientes extractos de semilla de calabaza.

Conclusión

De los resultados obtenidos se observa una clara relación entre el contenido de fenoles totales, flavonoides y la capacidad atrapadora de radicales libres. *C. mixta* Pangalo mostró mayor actividad antioxidante, y se podría considerar a esta especie una nueva fuente de antioxidantes naturales, para producir un efecto benéfico sobre la salud.

Referencias bibliográficas

- Alasalvar, C.; Karamac, M.; Amarowicz, R.; Shahidi, F. (2006). "Antioxidant and antiradical activities in extracts of Hazelnut Kernel (*Corylus avellana* L.) and Hazelnut green leafy cover". *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 54: 4826-4832.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. (1995). "Use of free radical method to evaluate antioxidant activity." *Lebensm. Wiss. Technology* 28: 25-30.
- Cáceres, A.; Lange, K.; Cruz, S.; Velásquez, R.; Sequeda, L.; Lima, S. (2009). "Actividad antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutraceuticos". *Guatemala: Informe final proyecto FODECYT*.
- Espin, J.C.; Soler-Rivas, C.; Wichers, H.J.; García-Viguera, C. (2000). "Anthocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(5): 1588-1592.
- Fukumoto, L.R.; Mazza, G. (2000). "Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(8): 3597-3604.
- Ojiako, O.A.; Igwe, C.U. (2007). "Nutritional and anti-nutritional compositions of Cleome ruti-dosperma, Lagenaria siceraria, and Cucurbita maxima seeds from Nigeria". *Journal of Medicinal Food* 10(4): 735-738.
- Ortiz, H.; Barragan, H.; Murillo, E. (2007). "Poder antioxidante de los flavonoides de hoja y corteza de *Bauhinia kalbreyeri* Harms. ('casco de vaca')". *Scientia et Technica* 1(33).
- Parry J.W.; Cheng, Z.; Moore, J.; Yu, L. (2008). "Fatty acid composition, antioxidant properties, and antiproliferative capacity of selected cold-pressed seed flours". *Journal of the American Oil Chemists Society* 85: 457-464.
- Parry J.; Hao, Z.; Luther, M.; Su, L.; Zhou, K.; Yu, L. (2006). "Characterization of cold pressed onion, parsley, cardamom, mullein, roasted pumpkin, and milk thistle seed oils". *Journal of the American Oil Chemists' Society* 83: 847-854.
- Pereira, J.A.; Oliveira, I.; Sousa, A.; Ferreira, I.C.F.R.; Bento, A.; Estevinho, L. (2008). "Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars". *Food and Chemical Toxicology* 46: 2103-2111.
- Popova, M.; Bankova, V.; Butovska, D.; Petkov, V.; Nikolova-Damyanova, B.; Sabatini, A.G.; Marcazzan, G.L.; Bogdanov, S. (2004). "Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis". *Phytochem. Anal.* 15: 235-240. doi:10.1002/pca.777.
- Robinson, R.W.; Decker-Walters, D.S. (1997). "*Cucurbits. Cab international*, Wallingford, UK, 226 pp.
- Singleton, V.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R. (1999). "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent". *Methods in enzymology* 299: 154-178.
- Xanthopoulou, M.N.; Nomikos, T.; Fragopoulou, E.; Antonopoulou, S. (2009). "Antioxidant and lipooxygenase inhibitory activities of pumpkin seed extracts". *Food Research International* 42(5): 641-646.
- Yu, J.; Vasanthan, T.; Temelli, F. (2001). "Analysis of phenolic acids in barley by high-performance liquid chromatography". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(9), 4352-4358.

Control de calidad farmacobotánico y fitoquímico de *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae)

Laura V. Vivas Leguizamón, Marcelo L. Wagner, Rafael A. Ricco*

Cátedra de Farmacobotánica. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junín 956 (C1113AAB) C.A.B.A. República Argentina.

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

Resumen

Hibiscus sabdariffa L. (Malvaceae), conocida como “hibisco” y “flor de Jamaica”, es empleada en la elaboración de té y de bebidas refrescantes libres de cafeína. La infusión es empleada como diurética, carminativa, colerética y laxante. El objetivo del trabajo fue determinar los parámetros farmacobotánicos y fitoquímicos (polifenoles) aplicables al control de calidad en un laboratorio de baja complejidad. Se analizaron muestras comerciales de flores de hibisco. Se realizaron disociados leves, infusiones y extractos hidroalcohólicos. El análisis microscópico permitió determinar la presencia de: epidermis con estomas anomocíticos; tricomas eglandulares cónicos; tricomas flexuosos; tricomas glandulares no capitados; tricomas glandulares capitados; tráqueas espiraladas; fibroesclereidas y drusas. Perfil de antocianos: se caracterizó por la presencia de dos bandas principales correspondientes a delphinidina-3-glucosilxilósido y cianidina-3-glucosilxilósido. En algunas muestras se detectó una tercera banda, de menor intensidad, que correspondería a cianidina-3-glucósido. Cuantificación de fenoles: las infusiones presentaron valores entre 6,27 a 14,84 EAG (equivalentes de ácido gálico: mg de ácido gálico/g mat. seco). Los extractos hidroalcohólicos entre 8,70 a 19,56 EAG. Cuantificación de antocianos: las infusiones presentaron valores entre 0,25 a 5,95 ECG (equivalentes de cianidina-glucósido: mg de cianidina-3-glucósido/g mat. seco). Los extractos hidroalcohólicos entre 0,40 a 7,80 ECG. Cuantificación de flavonoides: las infusiones presentaron valores entre 0,45 a 1,30 ER (equivalentes de rutina: mg de rutina/g mat. seco). Los extractos hidroalcohólicos, entre 0,50 a 1,35 ER. Cuantificación de ácidos hidroxicinámicos: las infusiones presentaron valores entre 2,35 a 7,60 EAC (equivalentes de ácido clorogénico: mg de ácido clorogénico/g mat. seco). Los extractos hidroalcohólicos, entre 3,95 a 8,80 EAC. Las técnicas empleadas constituyen un punto de partida para la validación de los diferentes parámetros empleados en el control de calidad de muestras y extractos de hibisco, aplicables en un laboratorio de baja complejidad.

Hibiscus sabdariffa L. (Malvaceae): Pharmacobotanic and phytochemical quality control

Summary

Hibiscus sabdariffa L. (Malvaceae), known as “Hibiscus” and “Jamaica flower” is used in the preparation of tea and caffeine-free soft drinks. The infusion is used as diuretic, carminative, choleric and laxative. The objective of this research was to determine the pharmacobotanic and phytochemical (polyphenols) parameters that apply to quality control in a low complexity laboratory. Commercial samples of Hibiscus flowers were

Palabras clave: *Hibiscus sabdariffa* - análisis microscópico - polifenoles.

Key words: *Hibiscus sabdariffa* - microscopic analysis - polyphenols.

analyzed. Soft dissociations, infusions and hydroalcoholic extracts were performed. Microscopic analysis showed the presence of: epidermis with anomocytics stomata; eglandular conical trichomes; eglandular flexuous trichomes; glandular non-capitate trichomes; glandular capitate trichomes, spiral tracheae; fibroclereids and cluster crystals of calcium oxalate. Anthocyanins profile was characterized by the presence of two major bands corresponding to delphinidin-3-glucosylxyloside and cyanidin-3-glucosylxyloside. In some samples a band of lower intensity was detected, corresponding to cyanidin-3-glucoside. Phenol quantification: infusions showed levels between 6.27 to 14.84 AGE (acid gallic equivalents: mg gallic acid/g dry material), and hydroalcoholic extracts from 8.70 to 19.56 AGE. Anthocyanin quantification: infusions showed levels between 0.25 to 5.95 CGE (cyanidin-glucoside equivalents: mg cyanidin-3-glucoside/g dry material), and hydroalcoholic extracts from 0.40 to 7.80 CGE. Flavonoid quantification: infusions showed levels between 0.45 to 1.30 RE (rutin equivalents: mg rutin/g dry material), and hydroalcoholic extracts from 0.50 to 1.35 RE. Hydroxycinnamic acid quantification: infusions showed levels between 2.35 to 7.60 CAE (chlorogenic acid equivalents: mg chlorogenic acid/g dry material), and hydroalcoholic extracts from 3.95 to 8.80 CAE. The techniques used are a starting point for the validation of the different parameters used in the quality control of samples and extracts of *Hibiscus*, applicable in a low complexity laboratory.

Introducción

Hibiscus sabdariffa L., perteneciente a la familia Malvaceae, es conocida popularmente como “hibisco”, “rosa de Jamaica”, “rosa de Abisinia” o “flor de Jamaica”.

Es un subarbusto, anual, que puede alcanzar de 1 a 3 metros de altura. Presenta un tallo robusto y de color rojizo, que tiene hojas trilobadas, de 7 a 10 cm de diámetro, alternas en el tallo. La flor es de color rojo, de 3 a 4 cm de largo, formada por 4 o 5 pétalos. El cáliz y el epicáliz son carnosos y de color rojo intenso, y constituye la parte que se emplea de esta especie.

Se usa en la elaboración de té (“té de Jamaica”) y en la preparación de bebidas refrescantes libres de cafeína. Es común hallarlo formando mezclas con otras especies en la elaboración de tisanas. Es usado además, como aromatizante ácido y como colorante en jaleas, mermeladas, salsas y vinos, debido a su contenido de antocianos.

En lo que respecta al uso etnomédico, los cáliz y las flores de hibisco, bajo la forma de infusión, son empleados como diurético, carminativo, colerético, laxante suave, entre otras aplicaciones (Alonso, 2004; Sáyago y col., 2010).

Respecto de las actividades farmacológicas reconocidas para los extractos de “hibisco” podemos citar: su acción sobre el sistema cardiovascular, actuando como hipotensor (Mojiminiyi y col., 2007; Ajay y col., 2007); diurético (Alarcón Alonso y col., 2012; Gurrola-Díaza y col., 2010; Mozaffari y col., 2009; Herrera y col., 2007); hipolipemiente

(Hirunpanicha y col., 2006; Fernández Arroyo y col., 2011) e hipoglucemiante (Yi-Sun y col., 2013).

El objetivo de este trabajo es determinar los parámetros farmacobotánicos y fitoquímicos (polifenoles, antocianos) aplicables al control de calidad de las muestras y los extractos de “hibisco” en un laboratorio de baja complejidad.

Materiales y métodos

Se analizaron muestras comerciales compuestas por los cáliz y los epicáliz de las flores de “hibisco” (Foto 1).

Foto 1.- *Hibiscus sabdariffa*



Material vegetal analizado: cáliz de *Hibiscus sabdariffa*.

Análisis farmacobotánico

Comprende dos tipos de análisis: las descripciones macroscópicas y el estudio de los caracteres organolépticos (color, sabor, olor) de las muestras vegetales; mientras que los análisis microscópicos son la observación de los disociados y la micrometría de los elementos celulares (microscopía cuantitativa).

Se realizaron disociados leves con el objeto de determinar los caracteres microscópicos relevantes empleados en el análisis del control de calidad de las muestras comerciales. El método de disociado leve consiste en someter el material vegetal a la acción de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 5 %, durante 5 min, a ebullición. Luego se enfría y se lava el material disociado con agua destilada y se observa con el microscopio.

Se realizó, además, un estudio de microscopía cuantitativa, que consistió en la medición de los elementos celulares relevantes. El disociado se observó mediante el empleo de microscopía de campo claro. Esta técnica ha sido seleccionada debido a su facilidad de ejecución, al poco tiempo de desarrollo y a la economía, factores indispensables en un laboratorio de baja complejidad.

Análisis fitoquímico

Sobre el material vegetal seleccionado se llevaron a cabo las extracciones correspondientes. Para cada extracto se determinó su perfil cromatográfico y se cuantificaron los fenoles totales, los antocianos, los flavonoides y los ácidos hidroxicinámicos.

Obtención del extracto acuoso (infusión)

Se realizaron infusiones al 5 % según la Farmacopea Nacional Argentina (VI edición). Se colocaron 5 g de las hojas pulverizadas en un erlenmeyer con tapa, se adicionaron 100 ml de agua destilada hirviendo y se dejó actuar durante 20 min. Luego se filtró, y el residuo se lavó con agua destilada hasta obtener un volumen final de 100 ml de extracto.

Obtención del extracto original etanólico (EOE)

Se partió de 5 g de material seco y molido. La extracción se llevó a cabo con 100 ml de etanol acuoso al 50 %, a 4 °C, durante 24 h. Posteriormente se filtró y se descartó el marco.

Cuantificación de fenoles totales

Se determinaron mediante el método de Folin-Ciocalteu de acuerdo con Makkar y col. (1993). Alícuotas (50 µl) de los extractos fueron transferidas a tubos de ensayo, y se llevó el volumen a 500 µl con agua desionizada. A continuación, se adicionaron 250 µl de reactivo de Folin-Ciocalteu y 1,25 ml de solución acuosa de carbonato de sodio al 20 %; a los 40 minutos se midió la absorbancia a 725 nm; Se realizó una curva de calibración con ácido gálico; El contenido de los fenoles totales se expresó como equivalentes de ácido gálico (EAG: mg ácido gálico/g material seco). Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

Cuantificación de antocianos

Se realizó mediante la técnica de cuantificación por espectroscopía diferencial, según una modificación de la técnica de Lee y col. (2005). Una alícuota del EEA se diluyó con 10 partes de una solución buffer KCl pH 1,0. Se realizaron las lecturas a 510 nm y 700 nm. Luego se efectuaron nuevamente las lecturas en buffer acetato de sodio pH 4,5. Se calcularon las diferencias de absorbancia:

$$(A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4,5}$$

y se expresaron los contenidos de antocianos como equivalentes de cianidina-3-glucósido (ECG: mg de cianidina-3-glucósido/g material seco).

Cuantificación de flavonoides

(Adaptación de las técnicas de Woisky y Salatino, 1998; Chang y col., 2002).

Se mezcló 0,5 ml del extracto con 1,5 ml de etanol 95 %. Se agregaron posteriormente 0,1 ml de una solución acuosa de tricloruro de aluminio al 10 % (p/v) y 0,1 ml de una solución acuosa 1 M de acetato de sodio. Se llevó a un volumen final de 5 ml con agua destilada y la mezcla se dejó reposar por 30 min. Posteriormente se determinó la absorbancia a 415 nm. Se realizó una curva de calibración con rutina. El contenido de flavonoides se expresó como equivalentes de rutina (ER: mg rutina/g material seco).

Cuantificación de ácidos hidroxicinámicos

(Modificación del método de Dao y Friedman, 1992).

Alícuotas de 50 µl del extracto se llevaron a volumen (2 ml) con etanol absoluto. Se determinó la absorbancia a 328 nm. Se realizó una curva de calibración con ácido clorogénico. Los valores se expresaron como equivalentes de ácido clorogénico (EAC: mg de ácido clorogénico/g material seco).

Perfil de antocianos

Se llevó a cabo mediante la realización de cromatografías en TLC de Sílica Gel empleando como fase móvil el sistema de solventes acetato de etilo-ácido acético-ácido fórmico-agua (100:11:11:26).

Se empleó como testigo un extracto constituido por glicósidos de cianidina y pelargonidina (cianidina-3-glucósido, cianidina-3-ramnosilglucósido, pelargonidina-3-glucósido, pelargonidina-3-ramnosilglucósido).

Resultados

Análisis farmacobotánico

Análisis macroscópico

El material vegetal analizado consta de los cálices (constituido por 5 sépalos) y epicálices (calículos) secos de las flores, que se presentan conservados o triturados; color rojo-morado intenso; sabor dulce y olor característico. Cuando se presentan enteros, su longitud promedio es de 30 mm.

En la observación macroscópica, en ninguno de los materiales analizados se detectó la presencia de material extraño.

Análisis microscópico

El estudio microscópico llevado a cabo sobre los disociados leves permitió detectar la presencia de:

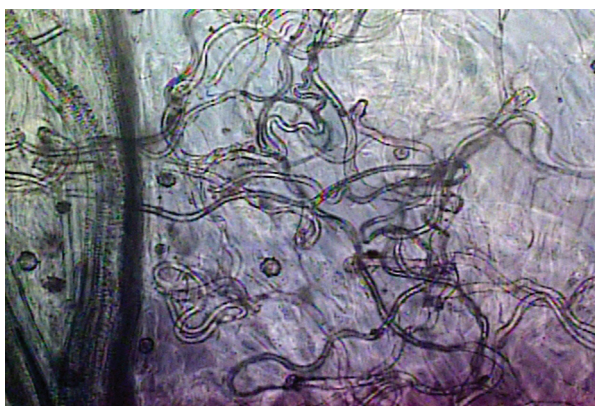
1. Epidermis con estomas; se observan principalmente estomas del tipo anomocítico. Los estomas tienen tamaños comprendidos entre 25 - 35 µm (Foto 2).
2. Pelos eglandulares unicelulares flexuosos (Foto 3).
3. Pelos eglandulares cónicos unicelulares, de pared gruesa, con longitudes comprendidas entre 100-1.000 µm (Foto 4).
4. Pelos eglandulares unicelulares finos (500-900 µm) (Foto 5).
5. Pelos glandulares pluricelulares no capitados (150-200 µm) (Foto 6).

Foto 2.- *Hibiscus sabdariffa*



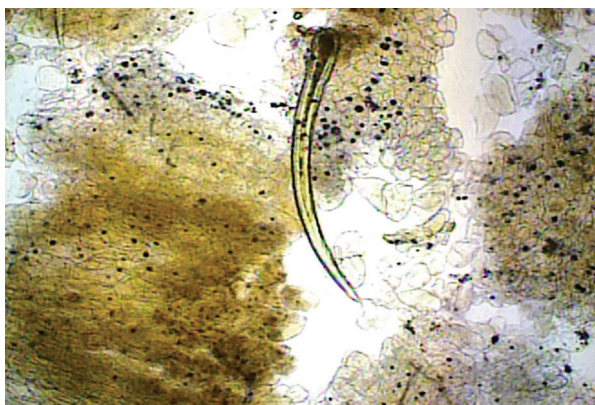
Epidermis con estomas anomocíticos (35 µm). Aumento 400x.

Foto 3.- *Hibiscus sabdariffa*



Pelos eglandulares unicelulares flexuosos. Aumento 200x.

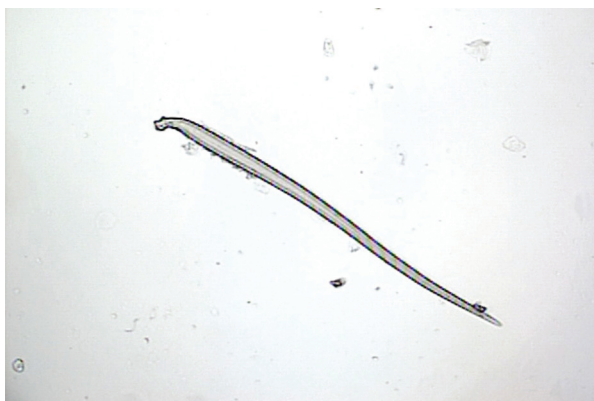
Foto 4.- *Hibiscus sabdariffa*



Pelo eglandular cónico, grueso, unicelular (500 µm). Aumento 100x.

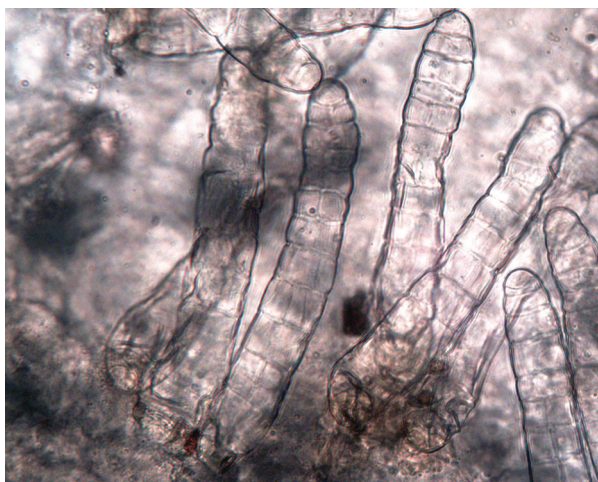
6. Pelos glandulares capitados de pie unicelular y cabeza pluricelular (60-90 μm) (Foto 7).
7. Drusas con tamaños comprendidos entre 15 y 30 μm (Foto 8).
8. Tráqueas espiraladas, fibroesclereidas (750-1.000 μm , Foto 9) y fibras.

Foto 5.- *Hibiscus sabdariffa*



Pelo eglandular unicelular fino (750 μm). Aumento 100x.

Foto 6.- *Hibiscus sabdariffa*



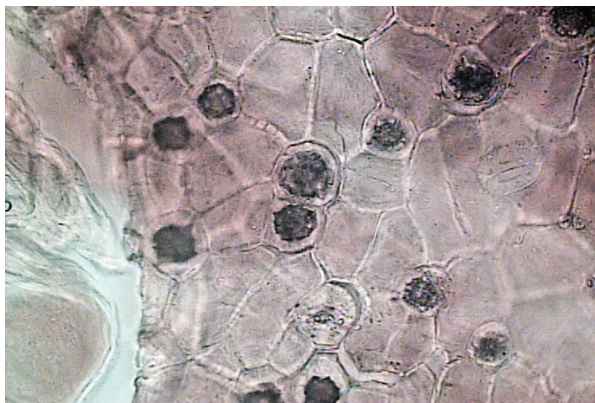
Pelos glandulares pluricelulares no capitados (200 μm). Aumento 400x.

Foto 7.- *Hibiscus sabdariffa*



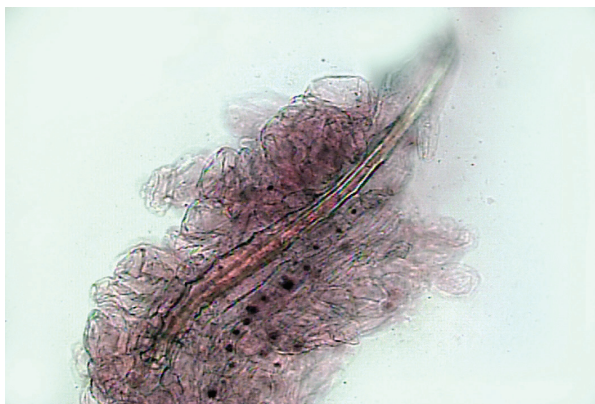
Pelo glandular capitado de pie unicelular y cabeza pluricelular (80 μm). Aumento 400x.

Foto 8.- *Hibiscus sabdariffa*



Drusas (20 - 30 μm). Aumento 400x.

Foto 9.- *Hibiscus sabdariffa*

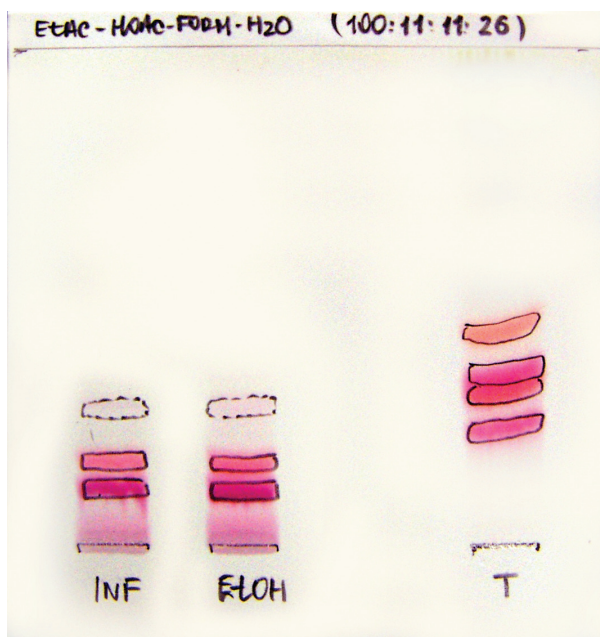


Fibroesclerida (900 μm). Aumento 100x.

Análisis fitoquímico

Perfil cromatográfico. El perfil cualitativo de antocianos se caracteriza por la presencia de dos bandas principales que muestran valores de Rf entre 0,17 y 0,24. Estas bandas corresponderían a los pigmentos del finidina-3-glucosilxilósido y cianidina-3-glucosilxilósido, compuestos informados en la bibliografía como los antocianos predominantes. En algunas muestras se detectó una banda de menor intensidad, con valor de Rf 0,36, que correspondería a cianidina-3-glucósido según los valores registrados por la bibliografía (Wagner y Bladt, 1996) (Foto 10).

Foto 10.- *Hibiscus sabdariffa*

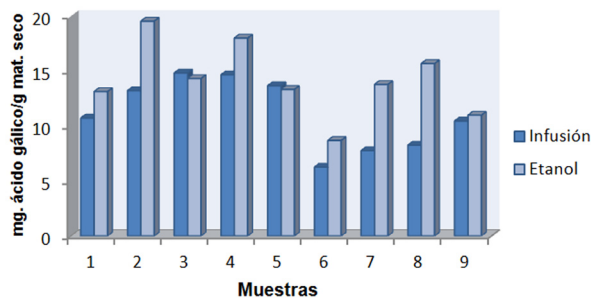


Perfil de antocianos. TLC Sílica Gel. Observación a la luz natural.

Cuantificación de fenoles totales

Las infusiones presentaron valores comprendidos entre 6,27- y 14,84 EAG, con valor promedio de 11,10 EAG. Los extractos hidroalcohólicos, entre 8,70 y 19,56 EAG, con valor promedio de 14,18 EAG. (Gráfico 1).

Gráfico 1.- Cuantificación de fenoles totales

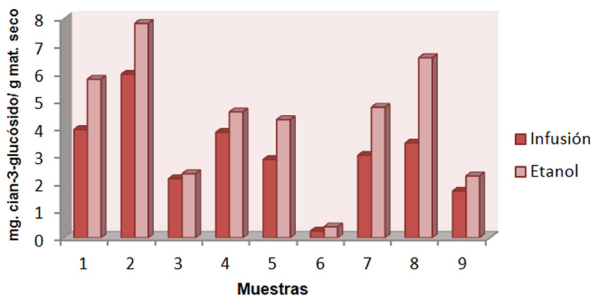


Valores expresados como equivalentes de ácido gálico (EAG: mg ácido gálico/g material seco)

Cuantificación de antocianos

Las infusiones presentaron valores comprendidos entre 0,25 y 5,95 ECG, con valor promedio de 3,01 ECG. Los extractos hidroalcohólicos, entre 0,40 y 7,80 ECG, con valor promedio de 4,30 ECG. (Gráfico 2).

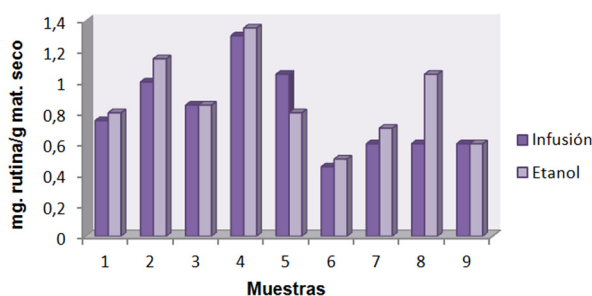
Gráfico 2.- Cuantificación de antocianos totales



Valores expresados como equivalentes de cianidina-3-glucósido (ECG: mg de cianidina-3-glucósido/g material seco)

Cuantificación de flavonoides

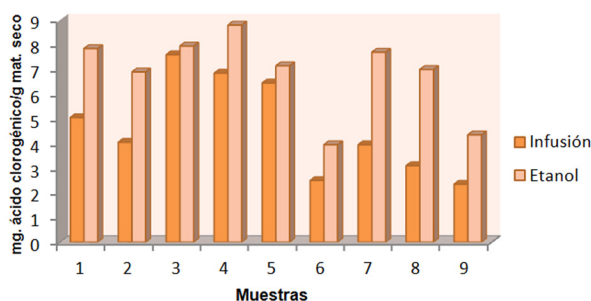
Las infusiones presentaron valores comprendidos entre 0,45 y 1,30 ER, con valor promedio de 0,80 ER. Los extractos hidroalcohólicos, entre 0,50 y 1,35 ER, con valor promedio de 0,87 ER. (Gráfico 3).

Gráfico 3.- Cuantificación de flavonoides totales

Valores expresados como equivalentes de rutina (ER: mg rutina/g material seco)

Cuantificación de ácidos hidroxicinámicos

Las infusiones presentaron valores comprendidos entre 2,35 y 7,60 EAC, con valor promedio de 4,66 EAC. Los extractos hidroalcohólicos, entre 3,95 y 8,80 EAC, con valor promedio de 6,85 EAC (Gráfico 4).

Gráfico 4.- Cuantificación de ácidos hidroxicinámicos totales

Valores expresados como equivalentes de ácido clorogénico (EAC: mg de ácido clorogénico/g material seco)

Discusión

En lo que respecta al análisis farmacobotánico, si bien los elementos detallados se presentaron en todas las muestras analizadas, la frecuencia de aparición no era la misma para las muestras estudiadas.

Además, la distribución de los pelos no se presenta en forma homogénea en el material vegetal estudiado. Pudo observarse que los pelos eglandulares se presentaron en mayor medida en la parte media de los cálices, mientras que los glandulares se hallaron principalmente en el tercio inferior de los cálices, en la zona comprendida por el epicáliz (calículo).

Se destaca la presencia de un desarrollo filamentosos en una de las muestras analizadas (N° 7), cuyas características morfológicas son afines con *Curvularia* sp. (Ascomycota), dadas las características de sus hifas, los esporangióforo y las esporas.

En el análisis fitoquímico del perfil de polifenoles todas las muestras presentaron un perfil cualitativo similar, constituido por dos bandas principales correspondientes a glicósidos de delphinidina y cianidina. Además, en determinados materiales, pudo detectarse una tercera banda correspondiente a un glicósido de cianidina (Foto 10). Estos resultados son concordantes con datos observados en la bibliografía (Wagner y Bladt, 1996).

Es significativo destacar que la intensidad de las bandas no ha sido la misma para todos los materiales analizados, lo que sugiere una variación de tipo cuantitativo, que se verifica posteriormente en la determinación del contenido de antocianos. Si bien la mayoría de las muestras analizadas se presentaron no trituradas, esta técnica cobra valor cuando el material vegetal se encuentra triturado o en polvo, ya que la presencia de bandas (compuestos) diferentes a las observadas detectaría la presencia de material ajeno al “hibisco”.

En lo que respecta al análisis cuantitativo, para todos los metabolitos analizados los extractos hidroalcohólicos presentaron mayores concentraciones que las infusiones; corresponde a los flavonoides la menor diferencia observada entre estos extractos (Gráficos 1, 2, 3 y 4).

Pudo observarse también una notable variación cuantitativa de los metabolitos analizados (Gráficos 1, 2, 3 y 4), lo que evidencia diferentes calidades de productos, datos que permitirán la selección de determinados materiales vegetales, con el objeto de su posterior empleo en la realización de extractos de “hibisco”.

Si bien el “hibisco” es empleado principalmente bajo la forma de infusión, la realización de extractos hidroalcohólicos presentaría una alternativa interesante como fuente de compuestos bioactivos, con especial interés en los antocianos, dadas sus reconocidas propiedades antioxidantes.

Conclusiones

Las técnicas empleadas son de fácil y rápida realización y de bajo costo, aplicables en laboratorios de baja complejidad. Permiten obtener información relevante, y constituyen un punto de partida para la validación de los diferentes parámetros empleados en el análisis del control de calidad de muestras y extractos de hibisco.

Agradecimientos

Con subsidio UBA 20020100100459 (Programación Científica 2011-2014).

Referencias bibliográficas

- Ajay, M.; Chai, H.J.; Mustafa, A.M.; Gilani, A.H.; Mustafa, M.R. (2007). "Mechanisms of the anti-hypertensive effect of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces". *Journal of Ethnopharmacology* 109: 388-393.
- Alarcón Alonso, J.; Zamilpa, A.; Alarcón Aguilar, F.; Herrera Ruiza, M.; Tortoriello, J.; Jiménez, E. (2012). "Pharmacological characterization of the diuretic effect of *Hibiscus sabdariffa* Linn (Malvaceae) extract". *Journal of Ethnopharmacology* 139: 751-756.
- Alonso, J. (2004). *Tratado de fitofármacos y nutracéuticos*. Corpus, Rosario: 592-596.
- Chang, C.C.; Yang, M.H.; Wen, H.M.; Chern, J.C. (2002). "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods". *Journal Food Drug Anal* 10: 178-182.
- Dao, L.; Friedman, M. (1992). "Chlorogenic acid content of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry". *Journal of Agricultural Food Chemistry* 40: 2152-2150.
- Fernández Arroyo, S.; Rodríguez Medina, I.C.; Beltrán Debón, R.; Pasini, F.; Segura Carretero, A.; Fernández Gutiérrez, A. y col. (2011). "Quantification of the polyphenolic fraction and in vitro antioxidant and in vivo anti-hyperlipemic activities of *Hibiscus sabdariffa* aqueous extract". *Food Research International* 44(5): 1490-1495.
- Gurrola Diaza, C.M.; García, P.M.; Sánchez, S.; Troyo, R.; Andrade, I.; Gómez, J.F. (2010). "Effects of *Hibiscus sabdariffa* extract powder and preventive treatment (diet) on the lipid profiles of patients with metabolic syndrome (MeSSy)". *Phytomedicine* 17(7): 500-505.
- Herrera, A.; Miranda, J.; Vila, P.; Herrera, S.; Jiménez, J.E.; Zamilpa, A. y col. (2007). "Clinical effects produced by a standardized herbal medicinal product of *Hibiscus sabdariffa* on patients with hypertension. A randomized, double-blind, lisinopril-controlled clinical trial". *Planta Medica* 73(1): 6-12.
- Hirunpanicha, V.; Utaipata, A.; Moralesb, N.P.; Bunyaphatsarac, N.; Satod, H.; Herunsalee, A. y col. (2006). "Hypocholesterolemic and antioxidant effects of aqueous extracts from the dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* L. in hypercholesterolemic rats". *Journal of Ethnopharmacology* 103: 252-260.
- Lee, J.; Durst, R.W.; Wrolstad, R.E. (2005). "Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study". *Journal of the AOAC International* 88(5): 1269-1278.
- 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". *Journal of the Science Food and Agriculture* 61: 161-165.
- Mojiminiyi, F.B.O.; Dikko, M.; Muhammad, B.Y.; Ojobor, P.D.; Ajagbonna, O.P.; Okolo, R.U. y col. (2007). "Antihypertensive effect of an aqueous extract of the calyx of *Hibiscus sabdariffa*". *Fitoterapia* 78: 292-297.
- Mozaffari, H.; Jalali, B.A.; Afkhami, M.F.; Noori, F.M. (2009). "The effects of sour tea (*Hibiscus sabdariffa*) on hypertension in patients with type II diabetes". *Journal of Human Hypertension* 23: 48-54.
- Sáyago Ayerdi, S.G.; Goñi, I. (2010). "*Hibiscus sabdariffa* L: Fuente de fibra antioxidante". *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 60 (1):79-84.
- Wagner, H.; Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis*. Springer-Verlag, Berlin: 281-287.
- Woisky, R.G.; Salatino, A. (1998). "Analysis of propolis: some parameters and procedures chemical quality control". *Journal of Apicultural Research* 37(2): 99-105.

- Yi Sun, Y.; Chien, H.; Chau, W.; Yi, L.; Mu, C.; Chiung, P. (2013). "Polyphenols of *Hibiscus sabdariffa* improved diabetic nephropathy via regulating the pathogenic markers and kidney functions of type 2 diabetic rats". *Journal of Functional Foods* 5(2): 810-819.

Identificación de C-glicosilflavonas por HPLC y FTIR en extractos acuoso y metanólico de *Passiflora caerulea* y *P. foetida* (Passifloraceae)

Marta E. Petenatti¹, María A. Gette¹, Mariana C. Popovich¹, María F. Garro¹, Gerardo Camí², Leslie Aragón³, 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, 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

Diversas especies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) son usadas en medicina tradicional en el tratamiento de la ansiedad, el insomnio y otros trastornos nerviosos. De ellas han sido aisladas varias C-glicosilflavonas. En este trabajo se determinó la presencia de C-glicosilflavonas en *Passiflora caerulea* L. y *P. foetida* L., por medio de HPLC y se utilizó FTIR en forma comparativa, con el objeto de hacer un aporte al control de calidad y caracterizar los extractos acuoso y metanólico de ambas especies. Los cromatogramas de HPLC de ambos extractos mostraron tiempos de retención característicos a 12,10 min (vitexina), 17,94 min (isovitexina), 19,93 min (orientina) y 25,11 min (isorientina), con espectros UV característicos. *P. caerulea* presentó las cuatro C-glicosilflavonas mencionadas, mientras que *P. foetida* careció solo de isorientina en el extracto acuoso y únicamente presentó vitexina e isovitexina en el extracto metanólico. En la zona de la "huella dactilar" de los perfiles FTIR se observaron diferencias cualitativas sustanciales. *P. foetida* presentó una banda a 1.250 cm⁻¹, que no se detectó en *P. caerulea*. En esta última la relación de áreas CO/CH del extracto acuoso fue de 3,87; mientras que para *P. foetida* fue de 1,58; en el extracto metanólico la relación de áreas CO/CH resultó 17,09 para *P. caerulea* y 15,40 para *P. foetida*. Estos datos espectrales aportan herramientas que pueden facilitar la caracterización de ambas especies durante el control de calidad de las drogas crudas y de los medicamentos herbarios que las contengan en su formulación.

HPLC and FTIR C-glycosylflavones identification in aqueous and methanolic extracts in *Passiflora caerulea* and *P. foetida* (Passifloraceae)

Summary

Several species of *Passiflora* L. (Passifloraceae) are used in traditional medicine for the treatment of anxiety, insomnia, and other nervous disorders. Various C-glycosylflavones have been isolated from these species. In this study the presence of C-glycosylflavones in *Passiflora caerulea* L., and *P. foetida* L. was determined by HPLC, and FTIR was used in a comparative form, in order to contribute to the quality control as well as the identification and authentication of these compounds from crude drugs, aqueous extracts and methanolic

Palabras clave: C-glicosilflavonas - FTIR - HPLC - *Passiflora caerulea* - *P. foetida*.

Key words: C-glycosylflavones - FTIR - HPLC - *Passiflora caerulea* - *P. foetida* - Passifloraceae.

extracts of these species, with which some herbal medicines are prepared. HPLC chromatograms of both, aqueous and methanolic extracts, showed characteristic peaks at retention time 12.10 min (vitexin), 17.94 min (isovitexin), 19.93 min (orientin), and 25.11 min (isorientin) with characteristic UV spectra. *P. caerulea* contained the four mentioned C-glycosylflavones, while *P. foetida* showed a lack of isorientin in the aqueous extract, and contained only vitexin and isovitexin in the methanolic extract. Substantial qualitative differences in the “fingerprint” region of the FTIR profile were found. *P. foetida* showed a band at 1250 cm^{-1} which was not detected in *P. caerulea*. The CO/CH ratio in the aqueous extract was 3.87 in *P. caerulea*, while 1.58 in *P. foetida*. The CO/CH ratio in the methanolic extract in *P. caerulea* was 17.09 and 15.40 in *P. foetida*. These spectral data helped to characterize both species during quality control of crude drugs and herbal medicines containing these plants in their formulation

Introducción

La familia de plantas Passifloraceae incluye alrededor de 18 géneros y 630 especies originarias de las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo. Para América del Sur solo se acepta la presencia del género *Passiflora* L., que abarca 42 especies en Sudamérica austral (Deginani y Cervi, 2008).

Diversas especies de este género son usadas en medicina tradicional para el tratamiento de trastornos, como ansiedad, insomnio y otras perturbaciones nerviosas (Brasseur y Angenot, 1984; Carlini, 2003; de Castro y col., 2007; Deng y col., 2010; Dhawan y col., 2004; Li y col., 2011; Mendes y col., 2012).

Los principales constituyentes fitoquímicos de las especies de *Passiflora* son glucósidos (particularmente glucósidos flavonoides), alcaloides y compuestos fenólicos. Muchas C-glicosilflavonas del tipo de orientina, isorientina, vitexina e isovitexina fueron aisladas de este género (de Paris y col., 2002; Pereira y col., 2004; Zeraik y Yariwake, 2010; Zucolotto y col., 2012).

Dos especies de amplia distribución en la Argentina, *P. caerulea* L. y *P. foetida* L., donde son conocidas bajo diversos nombres comunes y se expenden y emplean para el tratamiento de distintas dolencias.

P. caerulea es una liana de hojas palmatipartidas, con flores vistosas provistas de sépalos verde brillante con bordes hialinos, y pétalos cuculados blanco-verdoso; la corona presenta los *radii* blancos en la porción superior, y morados en la porción inferior; *pali* capilares, en 2 series, morados; *operculum* erecto, membranáceo, con filamentos morados, inclinados hacia el androginóforo verdoso (Figura 1). Se la conoce con los nombres de “birucuyá”,

“burucuyá”, “flor de Cristo”, “flor de pasión”, “flor de la pasión”, “granadilla”, “maracujá de cobra”, “mburucuyá”, “mburucuyá común”, “ocara”, “pasionaria”, “piogola” y “umburucuyá”.

Las sumidades, tanto en floración como en fructificación, y más raramente su raíz, son empleadas en medicina popular. La infusión de las hojas y las flores al 1 % es utilizada tradicionalmente para combatir la ansiedad, la tensión nerviosa y el insomnio; se le atribuyen propiedades como diurético (parte aérea y frutos), espasmolítico (parte aérea), eupéptico (decocción del fruto), antihelmíntico (hoja o raíz), regulador del ciclo menstrual (raíz), anticonceptivo (raíz), antiictérico (frutos y hojas), antiescorbútico (frutos), antiinfeccioso urinario (frutos), hasta anti-tusivo y antiasmático (parte aérea).

Esta especie es frecuentemente utilizada en asociación con “melisa” (*Melissa officinalis*), “tilo” (*Tilia* spp.), “kava” (*Piper methysticum*) o “valeriana” (*Valeriana officinalis*) en casos de insomnio, y con “espino albar” (*Crataegus oxyacantha*) en caso de palpitations y taquicardia (Barboza y col., 2009; Deginani, 2001; Del Vitto y col., 1997; 2011; Gupta, 1995; Lahitte y col., 1998; Roig 2001).

Figura 1.- Flores y frutos de *Passiflora caerulea*



Por su parte, *P. foetida* es una liana perenne con pilosidad de velutina a hirsuta, blanquecina, que incluye abundantes glándulas pediceladas. Además presenta láminas tripartidas, en menor proporción pentapartidas, pilosas; sus flores son vistosas, más pequeñas que *P. caerulea*. Las brácteas están muy divididas y glutinosas. Los sépalos son verdosos con pilosidad velutina. Los pétalos son levemente cuculados, blanco-violáceos, eglandulosos, glabros. La corona tiene los *radii* blancos, con el cuarto superior azulado. El *pali* capilar se presenta en dos series, azulado (Figura 2). Se la conoce con varios nombres vernáculos, como “mburucuyá mini”, “pasionaria hedionda”, “granadilla”, “mburucuyá menor”, “mburucuyá”, “corona de Cristo”, “mburucuyá aceitoso”, “mburucuyá campero”, “mburucuyá rastrero”, “pasionaria”, “pocoto”, “pedón”, y “hón-tayek” (Deginani, 2001).

La parte aérea, y particularmente las hojas, se emplean en infusión en medicina vernácula como antiinflamatorio y antiespasmódico y para el tratamiento del insomnio; al igual que la raíz se aplican como emenagogo y antihistérico; además, la raíz es considerada astringente y vulneraria; las flores se utilizan como expectorante y antiasmático (Barboza y col. 2009; Del Vitto y col., 1997; 2011; Toursarkissian, 1980).

En este trabajo se determinó la presencia de C-glicosilflavonas en *Passiflora caerulea* L. y *P. foetida* L., por medio de cromatografía líquida de alta performance (HPLC) y se utilizó espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) en forma comparativa, con el objeto de aportar a la caracterización de estas drogas vegetales y determinar la presencia de estos compuestos en los extractos acuoso (EA) y metanólico (EM) de ambas especies.

Materiales y métodos

Los especímenes que se documentaron son los siguientes: *Passiflora caerulea* L., San Luis, Dpto. Pringles, Río Grande, Del Vitto & Petenatti #9431, III-2009 (UNSL); *Passiflora foetida* L.: San Luis, Dpto. Junín, Piedra Blanca, Del Vitto *et al.* #9272, I-2009 (UNSL).

Las partes aéreas de ambas especies fueron coleccionadas e inmediatamente secadas en estufa de aire forzado a 40 °C hasta humedad higroscópica; luego fueron molidas con un molino a cuchillas. Los EA y EM de ambas especies se obtuvieron a partir de 5g de muestra. Para la obtención del EA la muestra fue extraída con 100 ml de agua en estado de ebullición (Farmacopea Argentina, 2010). Posteriormente se procedió a la liofilización con un liofilizador Rificor® LT-16. Por su parte, el EM se obtuvo por maceración de 5 g de muestra con 100 ml de metanol (24 h, tres veces consecutivas) y posterior evaporación con evaporador rotatorio Büchi®.

Para el análisis por HPLC, se disolvió un gramo de cada uno de los extractos liofilizados en acetonitrilo: ácido fosfórico 0,05 % (20:80) y se llevó a 100 ml. Alícuotas de 20 µL fueron inyectadas en un equipo HPLC-UV/DAD UltiMate® 3.000 (Dionex), equipado con una columna Gemini C18 (Phenomenex®) usando como fase móvil acetonitrilo: ácido fosfórico 0,05 % (20:80) con un flujo de 0,8 ml min⁻¹. Se trabajó a una longitud de onda de 330 nm y los espectros UV fueron registrados en el intervalo de 200-367 nm. Los datos obtenidos de los cromatogramas fueron procesados con el *software* Chromeleon® asociado al equipo.

Para obtener los espectros de FTIR, se prepararon pastillas de KBr con cada uno de los extractos (EA liofilizado y EM sometido a evaporación) de las dos especies en estudio, en la proporción 3:100. La homogeneización se realizó en un mortero. Aproximadamente 100 mg de la mezcla homogeneizada fueron colocados entre dos discos metálicos, dentro del cilindro de una prensa hidráulica, se aplicó luego una presión de 500 kg cm⁻² durante 5 min, se descomprimió y se colocó la pastilla obtenida en el portamuestra; se registró el espectro en un espectrómetro Protégé® 460 (Nicolet), con un divisor de haz de luz de CsI y se midió entre 4.000 y 460 cm⁻¹, con una resolución de 4 cm⁻¹. Todos los reactivos utilizados fueron de pureza analítica o de grado HPLC.

Figura 2.- Flores y frutos de *Passiflora foetida*



Resultados

El análisis de los cromatogramas HPLC de *P. caerulea* indicó que esta especie contiene cuatro C-glicosilflavonas (vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina) tanto en el EA como en el EM (Figuras 3 y 4).

Figura 3.- Perfiles de HPLC de extracto acuoso de *Passiflora caerulea*

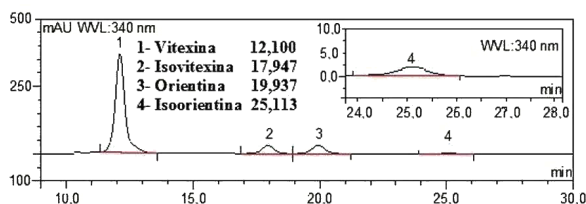
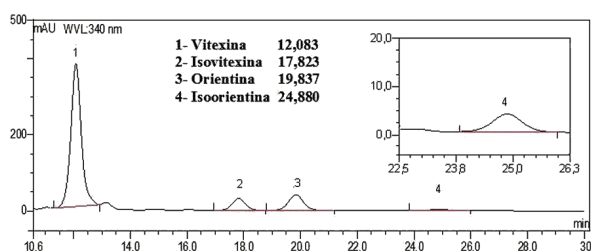


Figura 4.- Perfiles de HPLC de extracto metanólico de *Passiflora caerulea*



Por su parte, el EA de *P. foetida* solo carece de isoorientina (Figura 5), mientras que el EM solamente contiene vitexina e isovitexina (Figura 6). Las C-glicosilflavonas mostraron espectros característicos a tiempos de retención de 12,10 min para vitexina; 17,94 min para isovitexina; 19,93 min para orientina y 25,11 min para isoorientina.

Figura 5.- Perfil HPLC de extracto acuoso de *Passiflora foetida*

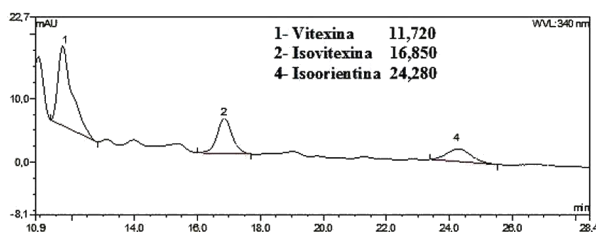
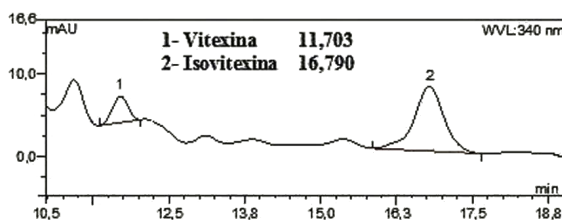


Figura 6.- Perfil HPLC de extracto metanólico de *Passiflora foetida*



En cuanto a los espectros de FTIR, se mostró de utilidad en la diferenciación de ambas especies de plantas, particularmente considerando la zona llamada “huella dactilar” (entre 1.400 y 400 cm^{-1}), donde se presentan diferencias cualitativas sustanciales. *P. foetida* presentó una banda a 1.250 cm^{-1} , que no se observa en *P. caerulea*. Esta situación es coincidente con la que plantearon diversos autores en la caracterización de otras especies de *Passiflora* (Adiana y Mazura, 2011; Konwar y Baruah, 2011; Muruganantham y col., 2009; Rui y col., 2014).

Asimismo, el cálculo de la relación de áreas CO/CH para cada especie estudiada contribuyó a diferenciarlas, ya que en *P. caerulea* fue de 3,87 para el EA, mientras que para *P. foetida* resultó de 1,58; por su parte, en el EM la relación fue de 17,09 para *P. caerulea* y 15,40 para *P. foetida* (Figuras 7 y 8). Esta relación de áreas ha sido empleada con anterioridad en la caracterización de algunas Pteridophyta fósiles (Pšenička y col., 2013; Zodrow y col., 2010).

Figura 7.- Espectro FTIR de extracto acuoso (rojo) y extracto metanólico (azul) de *Passiflora caerulea*

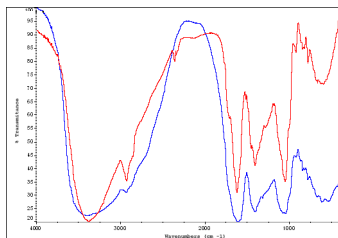
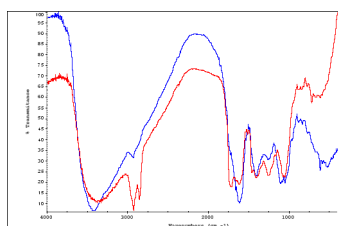


Figura 8.- Espectro FTIR de extracto acuoso (rojo) y extracto metanólico (azul) de *Passiflora foetida*



Conclusiones

Los cromatogramas HPLC y los espectros de FTIR son herramientas útiles para evaluar la calidad de los medicamentos a base de hierbas, considerando globalmente sus múltiples constituyentes químicos. En este caso, los espectros HPLC indican que *P. caerulea* contiene cuatro C-glicosilflavonas (vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina), tanto en el EA como en el EM; por su parte, el EA de *P. foetida* presenta vitexina, isovitexina y orientina, mientras que su EM solo contiene vitexina e isovitexina.

Los espectros de FTIR también muestran diferencias cualitativas sustanciales; que evidencian mayor presencia de compuestos oxigenados en el EM que en el EA de ambas especies, ya que la relación CO/CH es mayor; por otra parte, la cantidad de compuestos oxigenados extraídos es comparativamente mayor en *P. caerulea* que en *P. foetida*.

Los resultados obtenidos aportan herramientas para la caracterización de las drogas crudas y los medicamentos herbarios que contengan *Passiflora caerulea* y *P. foetida*, dos especies frecuentes en la región, y por lo tanto, facilitan su control de calidad.

Agradecimientos

Expresamos nuestra gratitud al Comité Editorial y a los evaluadores anónimos que aportaron a la comprensión de este trabajo, que ha contado además, con apoyo financiero de los Proyectos 22Q/016 SPU-ME y 2-1014 SECyT-UNSL.

Referencias bibliográficas

- Adiana, M.A.; Masura, M.P. (2011). Study on *Senna alata* and its different extracts by Fourier transform infrared spectroscopy and two-dimensional correlation infrared spectroscopy. *Journal of Molecular Structure* 991: 84-91.
- 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): 7-365.
- Brasseur, T.; Angenot, L. (1984). "Contribution à l'étude pharmacognostique de la passiflore". *Journal de Pharmacie de Belgique* 39: 15-22.
- Carlini, E.A. (2003). "Plants and the central nervous system". *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 75: 501-512.
- de Castro, P.C.F.; Hoshino, A.; da Silva, J.C.; Mendes, F.R. (2007). "Possible anxiolytic effect of two extracts of *Passiflora quadrangularis* L. in experimental models". *Phytotherapy Research* 21: 481-484.
- Deginani, N.B. (2001). "Las especies argentinas del género *Passiflora* (Passifloraceae)". *Darwiniana* 39(1-2): 43-129.
- Deginani, N.B.; Cervi, A. (2008). "Passifloraceae" en: Zuloaga, O.; Morrone, O.; Belgrano, M.J. (ed.), *Catálogo de las plantas Vasculares del Cono Sur*, Vol. 2. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.: 107.
- Del Vitto, L.A.; Petenatti, E.M.; Petenatti, M.E. (1997). "Recursos herbolarios de San Luis (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 Natrural "Mogote Bayo" y Costa de la Sierra de Comchingones, Merlo, San Luis, Argentina*. Fundación Espacios Verdes, Buenos Aires: 97-99.

- Deng, J.; Zhou, Y.J.; Bai, M.M.; Li, H.W.; Li, L. (2010). "Anxiolytic and sedative activities of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*". *Journal of Ethnopharmacology* 128: 148-153.
- De-Paris, F.; Petry, R.; Regginatto, F.; Gosmann, G.; Quevedo, J.; Salguero, J.; Kapczinski, F.; Gonzales Ortega, G.; Schenkel, E. (2002). "Pharmacochemical study of aqueous extracts of *Passiflora alata* Dryander and *Passiflora edulis* Sims". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 21(1): 5-8.
- Dhawan, K.; Dhawan, S.; Sharma, A. (2004). "*Passiflora*: a review update". *Journal of Ethnopharmacology* 94: 1-23.
- Farmacopea Argentina (2010). 8ª ed. ANMAT/ INAME, Buenos Aires: 512.
- Gupta, M.P. (1995). *270 plantas medicinales Ibero-americanas*. SECAB; Ciencia y Tecnología N° 55, Santafé de Bogotá: 617 p.
- Konwar, M.; Baruah, G. D. (2011). "On the nature of vibrational bands in the FTIR spectra of medicinal plant leaves". *Archives of Applied Science Research* 3(1): 214-21.
- Lahitte, H.; Hurrell, J.A.; Belgrano, M.J. (1998). *Plantas medicinales Rioplatenses*. L.O.L.A., Buenos Aires: 1-240.
- Li, H.W.; Zhou, P.; Yang, Q.Q.; Shen, Y.; Deng, J., Li, L., Zhao, D. (2011). "Comparative studies on anxiolytic activities and flavonoid compositions of *Passiflora edulis* 'edulis' and *Passiflora edulis* 'flavicarpa'". *Journal of Ethnopharmacology* 133: 1085-1090.
- Mendes F.R.; Negri, G.; Duarte-Almeida, J.M.; Tabach, R.; Carlini, E.A. (2012). "The action of plants and their constituents on the central nervous system" en: Cechinel-Filho, V. (ed.). *Plant Bioactives and Drug discovery: Principles, Practices and Perspectives*. Wiley 4th ed.: 161-204.
- Muruganantham, S.; Anbalagan, A.; Ramamurthy, N. (2009). FT-IR and SEM-EDS comparative analysis of medicinal plants, *Eclipta alba* Hassk. and *Eclipta prostrata* Linn. *Romanian Journal of Biophysics* 19(4): 285-94.
- Pereira, C.; Yariwake, J.; Lancas, F.; Wauters, J.; Tits, M.; Angenot, L. (2004). "A HPTLC densitometric determination of flavonoids from *Passiflora alata*, *P. edulis*, *P. incarnata* and *P. caerulea* and comparison with HPLC method". *Phytochemical Analysis* 15(4): 241-8.
- Pšenička, J.; Zodrow, E.L.; D'Angelo, J.A. (2013). Sterile foliage of fertile *Sydneia manleyi* and synangial chemistry (Eusporangiate fern, late Asturian, Canada): a new Subfamily Sydneideae. *Folia* 47(1-2): 1-13.
- Roig, F.A. (2001) *Flora medicinal mendocina*. Ed. EDIUNC, Mendoza: 144.
- Rui, J.L.; Sun, S.Q.; Wang, X.X.; Xu, C.H.; Chen, J.B.; Qun, Z.; Lu, G.H. (2014). "Differentiation of five species of *danggui* raw material by FTIR combined with 2D-COS IR". *Journal of Molecular Structure* 1069: 229-235.
- Toursarkissian, M. (1980). *Plantas medicinales de la Argentina*. Buenos Aires, Hemisferio Sur. 178 pp.
- Zeraik, M y Yariwake, J. (2010). "Quantification of isoorientin and total flavonoids in *Passiflora edulis* fruits pulp by HPLC-UV/DAD". *Microchemical Journal* 96(1): 86-91.
- Zodrow, E.L.; D'Angelo, J.A.; Mastalerz, M.; Cleal, C.J.; Keefe, D. (2010). Phytochemistry of the fossilized-cuticle from *Macroneuropteris macrophylla* (Pennsylvania seed fern, Canada). *Int. J. Coal Geology* 84: 71-82.
- Zucolotto, S.M.; Fagundes, C.; Reginato, F.H.; Ramos, F.A.; Castellanos, L.; Duque, C.; Schenkel, E.P. (2012). "Analysis of C-glycosyl flavonoids from South American *Passiflora* species by HPLC-DAD and HPLC-MS". *Phytochemical Analysis* 23(3): 232-9.

Caracteres anatómicos, morfofuncionales y químicos foliares de *Senecio subpanduratus* (Asteraceae)

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

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

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

Resumen

El género *Senecio* (Asteraceae) está representado en la Argentina por alrededor de 270 especies; la mayor parte se encuentra en la cordillera de los Andes y en la Patagonia. *Senecio subpanduratus* O. Hoffm. es una especie endémica, no palatable, que se encuentra en el estrato arbustivo-subarbustivo que bordea los mallines analizados en el departamento Escalante, al SE de la provincia de Chubut. Se realizaron estudios para la caracterización anatómica foliar, cuantificación de tamaño, contenido de materia seca, área foliar específica, dureza y *screening* fitoquímico. Las hojas de *S. subpanduratus*, glabras, presentaron una espesa cutícula, paredes tangenciales externas gruesas y estomas en ambas epidermis, levemente hundidos, con reborde cuticular. Los canales secretores esquizógenos se encontraron asociados al floema de los haces vasculares mayores. Los valores de dureza eran elevados y, en consecuencia, bajos de área foliar específica. El análisis fitoquímico cualitativo evidenció la presencia de polifenoles, taninos, flavonoides, cumarinas, antraquinonas, terpenoides y esteroides. La información obtenida respalda el carácter no palatable de la especie.

Anatomical, morphofunctional and chemical characters of leaves of *Senecio subpanduratus* (Asteraceae)

Summary

The genus *Senecio* (Asteraceae) is represented in Argentina by about 270 species, mostly in the Andes and Patagonia. *Senecio subpanduratus* O. Hoffm. is an endemic species, non-palatable, represented in the shrub-subshrub stratum bordering the marshlands analyzed in Escalante Department, Southeast of Chubut Province. Studies of foliar anatomical characterization, foliar size quantification, dry matter content, foliar specific area, hardness, and phytochemical screening, were performed. The glabrous leaves of *S. subpanduratus* showed thick cuticle and outer tangential walls, stomata on both epidermis, slightly sunken, with cuticular ledge. Schizogenous secretory channels were found to be associated with the phloem of the higher vascular bundles. Values of hardness were detected to be high and, thus, low of foliar specific area. Qualitative phytochemical analysis showed the presence of polyphenols, tannins, flavonoids, coumarins, anthraquinones, terpenoids, and steroids. The results obtained support the non-palatability of the species.

Palabras clave: *Senecio* - Patagonia - endemismo.

Key words: *Senecio* - Patagonia - endemism.

Introducción

El género *Senecio* (Asteraceae), uno de los más ricos de las plantas vasculares, registra en la Argentina alrededor de 270 especies, la mayor parte en la cordillera de los Andes y en la Patagonia (Cabrera, 1969). Se caracteriza por la presencia de brácteas involucrales libres, y presenta papus formado por pelos simples o plumosos.

Su uso medicinal es reconocido desde muy antiguo (Huacuja González, 1995; Martínez Crovetto, 1964; Verettoni, 1993; Barboza y col., 2006) así como su toxicidad (Ragonese, 1984; Gallo, 1979; Romero y col., 2003). En relación con la anatomía, las características generales fueron descritas por Metcalfe y Chalk (1979); mientras que Pyykkö (1966), Feijóo y col. (2005) y Arce y col. (2010) investigaron otras especies del género.

Senecio subpanduratus O. Hoffm. pertenece a la Sec.: Xerosenecio Cabr.: Ssec.: Microcephali Cabr. Es un arbusto bajo, ramoso, glabérrimo, de cerca de 0,5 m de altura. Las ramas son erectas, redondeadas, costadas, hojosas hasta la inflorescencia. Las hojas inferiores son densas obovado-espátuladas u oblanceolado-espátuladas, agudas, atenuadas en un corto pseudopecíolo en la parte inferior, irregularmente dentadas en el margen. Las hojas superiores son distantes, oblongas, agudas en el ápice y ensanchadas y semiabrazadoras en la base, enteras o dentadas. Los capítulos son numerosos, discoides, dispuestos en cimas corimbiformes laxas en los extremos de las ramas. El involucro es acampanado, calculado, con pocas bracteolas del cálculo lineales; brácteas involucrales 14-20, lineales, agudas. Las flores son numerosas, amarillas, isomorfas, todas hermafroditas, con corola tubulosa. Los aquenios son cilindroides, costados, cortamente papiloso-pubescentes. El papus es blanco.

Esta especie endémica, no palatable, vegeta en la Patagonia austral y en Tierra del Fuego (Cabrera, 1969). Integra el estrato arbustivo-subarbustivo y bordea los mallines en el departamento Escalante, al SE de la provincia de Chubut; ha sido considerada en estudios integrales de la biodiversidad vegetal de ambientes productivos de la región patagónica (Gratti y col., 2010; 2012). No se registran antece-

denes de estudios morfoanatómicos, y en cuanto a los fitoquímicos, Naspi (2009) informa sobre la presencia de terpenoides.

El objetivo de este trabajo fue determinar la anatomía foliar de *Senecio subpanduratus*, describir las características morfofuncionales e identificar los principales componentes químicos.

Materiales

El material fue colectado en primavera, en el establecimiento La Makina, departamento Escalante, Provincia de Chubut, en época de floración. El ejemplar de referencia 28-12-09, HRP 7259 se encuentra depositado en el Herbario Regional Patagónico de la Facultad de Ciencias Naturales, de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco.

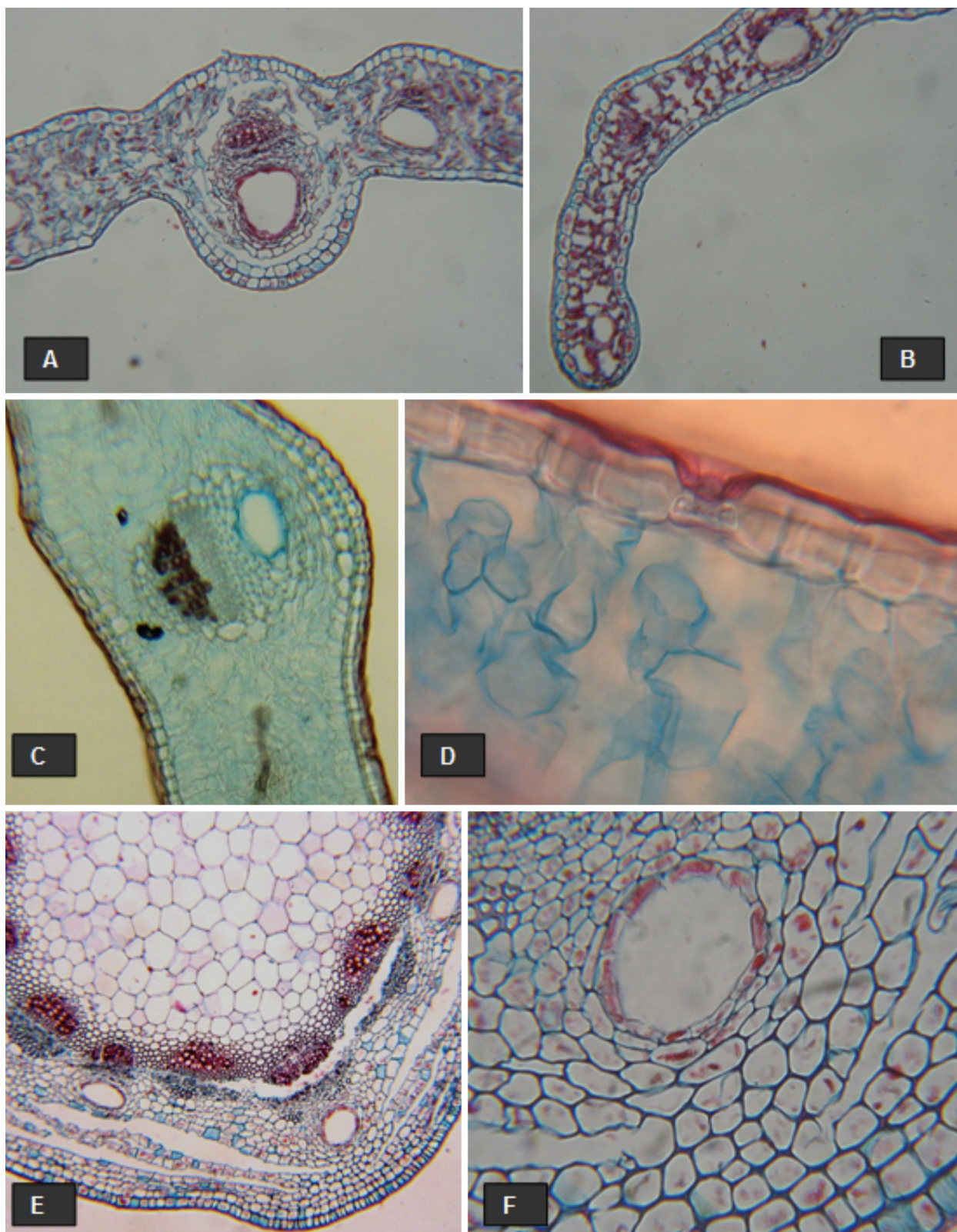
Métodos

Se recolectó material de cinco individuos, seleccionados al azar entre los de tamaño medio. Se realizaron estudios anatómicos sobre material fresco y conservado en FAA (formol-alcohol etílico-agua-ácido acético: 10-50-35-5) utilizando técnicas tradicionales (D'Ambrogio, 1986; Gattuso y Gattuso, 1999), registro de imágenes con microscopio óptico (MO) y mediciones con software específico. La identificación de los caracteres morfofuncionales se realizó mediante la caracterización de los parámetros foliares: tamaño, contenido de materia seca (CMSF) y área foliar específica (AFE), (Cornelissen y col., 2003). El *screening* fitoquímico se realizó sobre las partes aéreas desecadas al aire y pulverizadas, aplicando técnicas convencionales (de Abreu Matos, 2009). Los datos se analizaron con las funciones media y desvío estándar en una planilla de cálculo Excel.

Resultados

Los caracteres cuantitativos en transección foliar de las plantas estudiadas se presentan en la tabla 1 y la figura 1.

Figura 1.- Anatomía foliar y caulinar de *Senecio subpanduratus*



A: detalle de haz vascular central (10x); **B:** margen foliar en hoja joven (10x); **C:** detalle de haz vascular en hoja adulta (40x); **D:** detalle de estoma (40x); **E:** anatomía caulinar (10x); **F:** detalle de canal esquizógeno (40x).

La hoja en sección transversal presenta mesófilo homogéneo, haces vasculares en número de 21 a 26 (30), con el haz vascular central bien desarrollado y numerosos haces muy pequeños. Por debajo de los haces vasculares de mayor tamaño se ubican los canales secretores esquizógenos. El tejido de sostén está ausente, a excepción del colénquima presente en la zona de la nervadura media, hacia la cara abaxial. Las hojas son anfiestomáticas, con estomas levemente hundidos y con reborde cuticular.

El espesor promedio de la hoja es de $374,30 \pm 27,70 \mu\text{m}$. Las células de la epidermis registran paredes externas gruesas, con un espesor de $8,64 \pm 1,70 \mu\text{m}$ en sección transversal y la cutícula presenta un espesor de $4,80 \mu\text{m}$ alrededor de toda la sección. Los caracteres morfofuncionales determinados se registran en la tabla 2.

Los compuestos identificados en la caracterización fitoquímica cualitativa se presentan en la tabla 3.

Se comprobó la presencia de flavonoides de tipo flavona, flavonol, flavanona, flavanonol, leucoantocianidinas y catequinas. Asimismo, se verificó la presencia de cumarinas y de esteroides y triterpenos.

Discusión y conclusiones

La hoja de *Senecio subpanduratus* es glabra, presenta en ambas epidermis una cutícula espesa, las paredes tangenciales externas son gruesas y los estomas, hundidos con reborde cuticular. La presencia de tejido de sostén es escasa o nula. Coincide con la descripción realizada por Pyykkö (1966), Feijóo y col. (2005) y Arce y col. (2010) para otras especies de *Senecio*, con estomas presentes en ambas epidermis y haces vasculares acompañados por canales secretores.

Los atributos determinados exteriorizan respuestas al ambiente, lo que concuerda con lo informado por Díaz y Cabido (2001) y Lavorel y col. (2007).

Los resultados del análisis fitoquímico preliminar coinciden con lo informado por Naspi (2009) sobre terpenoides. La presencia de fenoles es comparable a los datos obtenidos por Cavagnaro y col. (2003) para *Senecio filaginoides*. Con respecto a la ocurrencia de flavonoides, Emerenciano y col. (2001) en su estudio sobre el significado quimiotaxonómico de flavonoides en Asteraceae, cita diferencias entre las distintas tribus, e informa a la tribu Senecioneae, que

Tabla 1.- Caracteres cuantitativos en transección foliar de *Senecio subpanduratus*

Transección	Epidermis (espesor)			Clorénquima
	Cél. epidérmica	Pared externa	Cutícula	
$374,30 \pm 27,70$	$31,92 \pm 5,90$	$8,64 \pm 1,70$	$4,80 \pm 0,01$	$301,15 \pm 32,30$

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

Tabla 2.- Atributos morfofuncionales foliares de *Senecio subpanduratus*

Tamaño foliar mm^2	AFE mm^2/mg	CMSF mg/g	Dureza (peso específico) mg/mm^2
$12,51 \pm 3,19$	$0,73 \pm 0,43$	$162,73 \pm 36,46$	$1,74 \pm 0,72$

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

Tabla 3.- Análisis cualitativo de metabolitos secundarios en *Senecio subpanduratus*

Metabolito	Ensayo	Respuesta
Polifenoles	Folin-Ciocalteu	+
	Gelatina	-
Taninos	FeCl ₃	+
	Ferrocianuro de K	-
Flavonoides	Shinoda	+
	H ₂ SO ₄ (c)	+
	Álcalis	+
	Rosenheim	+
	Catequinas	+
Cumarinas	Reacción con hidróxido de amonio	++
	Dragendorff	-
Alcaloides	Mayer	-
	Wagner	-
Saponinas	Extracto etanólico	-
	Norma Iram 37501	-
Antraquinonas	Borntraeger	++
Glicósidos cianogenéticos	Reacción de Guignard	-
Glicósidos cardiotónicos	Reactivo de Baljet	-
Terpenos / Esteroides	Lieberman-Burchard	+
	Salkowski	+

incluye a *Senecio subpanduratus*, con un registro menor de estos compuestos.

Se generó información original sobre la anatomía foliar de la especie *S. subpanduratus*; se determinó en los análisis valores elevados de dureza y en consecuencia, bajos de AFE. Los grupos de metabolitos secundarios detectados no se encuentran registrados en la literatura consultada y fundamenta la continuidad de su evaluación con el fin de identificar los compuestos presentes.

La información producida resulta un aporte al conocimiento de la biodiversidad regional y tiene especial relevancia debido al estatus de especie endémica.

Referencias bibliográficas

- Arce, M.; Yepes, M.; Feijóo, M. (2010). Anatomía foliar de *Senecio coluhuapiensis* Speg., endémica del Bosque Petrificado de Sarmiento (Chubut-Argentina). *VII Simposio Internacional sobre la Flora Silvestre en Zonas Áridas*. Hermosillo, Sonora, México. Resumen EMC-3: 94.
- Barboza, G.E.; Cantero, J.J.; Núñez, C.O.; Ariza Espinar, L. (2006). *Flora medicinal de la provincia de Córdoba (Argentina). Pteridófitas y Antófitas silvestres o naturalizadas*. Museo Botánico. Córdoba. Argentina.
- Cabrera, A. (1969). Compositae. En: Correa, M. *Flora Patagónica*. Col. Ci. INTA. VIII (VII). Buenos Aires: 1-5-10-34-36-176-177- 246-316.
- Cavagnaro, F.P.; Golluscio, R.A.; Wassner, D.F.; Ravetta, D.A. (2003). Caracterización química de arbustos patagónicos con diferente preferencia por parte de los herbívoros. *Ecología Austral* 13: 215-222.
- 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 S.A. Buenos Aires.
- De Abreu Matos, F.J. (2009). *Introdução à fitoquímica experimental*. Editora da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. Ceará.

- Díaz, S.; Cabido, M. (2001). Vive la difference: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology and Evolution* 16: 646-655.
- Emerenciano, V.P.; Militao, J.S.L.; Camposa, C.C.; Romoff, P.; Kapland, M.A.C.; Zambond, M.; Branta, A.J.C. (2001). Flavonoids as chemotaxonomic markers for Asteraceae. *Biochemical Systematics and Ecology* 29: 947-957.
- Feijóo, M.S.; Arce, M.E.; D'Ambrogio, A. (2005). Variación morfoanatómica en una población de *Senecio filaginoides* (Asteraceae). *Polibotánica* 19: 1-17.
- Gallo, G. (1979). *Plantas tóxicas para el ganado en el Cono Sur de América*. Eudeba. Buenos Aires.
- Gattuso, M.; Gattuso, S. (1999). *Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas en Polvo*. Universidad Nacional de Rosario.
- Gratti, A.; Barrientos, E.; Feijóo, M.S. (2010). Estudios de vegetación en mallines patagónicos del SE de Chubut, Argentina. *I Congreso Latinoamericano y IV Argentino de Conservación de la Biodiversidad*. Tucumán. Argentina. B7P-0067.
- Gratti, A.C.; Barrientos, E.; Laztra, E.; Fernández, S.; Feijóo, M.S. (2012). Biodiversidad en ambientes productivos patagónicos: el papel de los caracteres morfofuncionales. *I Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología Ambiental y I Congreso Nacional de la Sociedad Argentina de Ciencia y Tecnología Ambiental*. En línea: Código R285. www.aa2012.com.ar/resumenes.pdf Password: CAA2012.
- Huacuja González, M.V.Z. (1995). Contribución al estudio fitoquímico y determinación de la acción antimicrobiana de *Senecio candidissimus*. Nueva León. *Tesis doctoral*.
- Lavorel, S.; Díaz, S.; Cornelissen, J.H.C.; Garnier, E.; Harrison, S.P. (2007). "Plant functional types: are we getting any closer to the Holy Grail?": 171-186 in: Canadell, J.; Pitelka, L.F.; Pataki, D.(ed.). *Terrestrial Ecosystems in a Changing World*. Springer-Verlag.
- Martínez Crovetto, R. (1964). "Estudios Etnobotánicos I. Nombres de plantas y su utilidad, según los indios tobas del este del Chaco". *Bonplandia* 1: 279-333.
- Metcalfe, C.R.; Chalk, L. (1979). *Anatomy of the Dicotyledons*, Vol I. Clarendon Press. Oxford.
- Naspi, C.V.; Arancibia, L.A.; Marchiaro, A.B.; Arce, M.E. (2009). Composición química del aceite esencial de *Senecio coluhuapiensis* y su relación con otras especies del mismo género. *XVII SINAQO*, Mendoza.
- Pyykkö, M. (1966). *The leaf anatomy of East Patagonian xeromorphic plants*. Department of Botany. University of Helsinki. 620 pp.
- Romero, A.; Zeinsteger, P.; Teibler, P.; Montenegro, M.; Ruiz, R.; Ríos, E. ; Acosta de Pérez, O. (2003). Toxicidad hepática de componentes volátiles de *Senecio grisebachii* (margarita del campo o primavera) en ratones. Universidad Nacional del Nordeste. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*. V-017.
- Ragonese, A. (1984). *Vegetales y sustancias tóxicas de la Flora Argentina*. Acme. S.A.C.I. Buenos Aires.
- Verettoni, H.N. (1993). *Contribución al conocimiento de las Plantas Medicinales de la Región de Bahía Blanca y Norte de la Patagonia*. Harris y Cía. Bahía Blanca. 374 pp.

Dominguezia

Índice acumulado

Dominguezia 28(2) 2012

Hojas de olivo (*Olea europaea* –Oleaceae–) como adulterante en oréganos (*Origanum* spp. –Lamiaceae–) comercializados en la Ciudad de Buenos Aires, Argentina (BEATRIZ G. VARELA Y RAFAEL A. RICCO)

Variación en la composición de polifenoles en *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) en respuesta a la infestación por *Cecidoses eremita* Curtis (Lepidoptera - Cecidosidae) (IGNACIO J. AGUDELO Y RAFAEL A. RICCO)

Búsqueda de compuestos antiprotozoarios en especies de la flora medicinal argentina (VALERIA P. SÜLSEN)

Problemática sanitaria y social de la enfermedad de Chagas. Aporte de la medicina tradicional argentina (VIRGINIA S. MARTINO)

III Jornadas Nacionales de Plantas Aromáticas Nativas y sus Aceites Esenciales. Resúmenes

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. MARTINEZ, GABRIEL BETTUCCI, MARTHA GATTUSO, ADRIANA CORTADI)

Estandarización micrográfica de especies de *Baccharis* L. (Asteraceae) (MARÍA V. RODRIGUEZ, 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)