

Análisis de Muestras Comerciales de "Marcela" (*Achyrocline satureioides*)

Paula G. LÓPEZ, Adriana M. BROUSSALIS, María G. RODRÍGUEZ,
Jorge D. COUSSIO y Graciela E. FERRARO *

*Cátedra de Farmacognosia, Instituto de Química y Metabolismo del Fármaco
(IQUIMEFA, UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica,
Universidad de Buenos Aires, Junín 956, 2° piso, 1113 Buenos Aires, Argentina*

RESUMEN. *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. (Compositae), conocida popularmente como "marcela", es una especie vegetal ampliamente comercializada en la República Argentina, Uruguay, Brasil y Paraguay debido a su uso medicinal como colagogo-colerética. En este trabajo se analizaron por HPLC, utilizando un detector UV con arreglo de fotodiodos, el contenido en derivados cafeoil quínicos presentes en ocho muestras obtenidas en el comercio, comparándolas con una muestra patrón. Se determinó el contenido en estos compuestos debido a su reconocida acción colagogo-colerética.

SUMMARY. "Analysis of Commercial Samples of "Marcela" (*Achyrocline satureioides*)". *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. (Compositae), known as "marcela", is a medicinal plant widely used in Argentina, Uruguay, Brazil and Paraguay by its choleric properties. In this work the caffeine derivatives content on eight commercial samples of *A. satureioides* were analyzed by HPLC, using an UV photodiode array detector and an authentic sample of the species as standard. The content of these compounds was determined for their well-known colagogue-choleric action.

INTRODUCCION

Con el nombre de "marcela" se conocen varias especies del género *Achyrocline* que se usan en medicina popular por sus propiedades colagogo-coleréticas.

Achyrocline satureioides (Lam.) DC. (Compositae) es la más usada tradicionalmente de las especies de *Achyrocline* y está ampliamente distribuida en casi todo el país: crece principalmente en regiones serranas, en la mesopotamia y en dunas costeras de la provincia de Buenos Aires (Argentina) hasta Uruguay y sur de Brasil.

PALABRAS CLAVE: *Achyrocline satureioides*, Actividad colagogo-colerética, Derivados cafeoil quínicos.

KEY WORDS: *Achyrocline satureioides*, Caffeoil quinic derivatives, Choleric Activity.

* Autor a quien dirigir la correspondencia

En medicina popular o folklórica se utilizan las partes aéreas en infusión, como digestiva (colagogo-colerética), antiespasmódica y en diversas afecciones hepáticas ¹. También forma parte de varios aperitivos (amargos) muy publicitados últimamente. La parte aérea de esta planta, secada y molida, envasada en bolsitas plásticas, se expende en todas las herboristerías y farmacias del país que dispensan medicamentos herbarios.

Existe abundante bibliografía sobre la acción del ácido cafeico y sus ésteres como estimulantes del flujo biliar. En 1969 se describió la actividad colerética en cobayos de varios ácidos cinámicos, entre ellos el ácido cafeico ². En 1971 se estudió el efecto de varios fenoles y ácidos hidroxifenilcarboxílicos sobre la secreción biliar y la motilidad intestinal ³. Posteriormente, en 1973, se estudió el incremento del flujo biliar en ratas por efecto de la administración intravenosa de los ácidos cafeico y clorogénico ⁴.

Otros autores ^{5,6} propusieron a la cinarina, al ácido cafeico y al ácido clorogénico como drogas hepatoprotectoras. En 1987 Adzet *et al.*, probaron la actividad hepatoprotectora de la cinarina y de los ácidos isoclorogénico, clorogénico, cafeico y quínico ⁷. En trabajos más recientes (1995) Kapil *et al.* corroboraron el efecto hepatoprotector *in vivo* e *in vitro* del ácido isoclorogénico ⁸.

En trabajos previos se realizaron estudios comparativos del contenido en ácidos cafeoil quínicos de varias especies argentinas usadas como coleréticas y digestivas en medicina popular, citándose entre ellas a *A. saturetoides* ⁹.

El objetivo del presente trabajo fue analizar el contenido cuali y cuantitativo en ácidos cafeoil quínicos de las muestras de "marcela" que se expenden en el comercio, debido a la reconocida actividad colerética y hepatoprotectora de dichos ácidos. Para ello se valoró por HPLC, utilizando un detector UV con arreglo de fotodiodos, el contenido en ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido ferúlico y ácido isoclorogénico con sus 3 isómeros (3,4-dicafeoil quínico; 3,5-dicafeoil quínico y 4,5-dicafeoil quínico) en 8 muestras comerciales, utilizando como patrón material vegetal botánicamente clasificado como *A. saturetoides*.



Acido	Nomenclatura IUPAC	Conformación
Clorogénico	5-monocafeoil quínico	ecuatorial
Isoclorogénico	3,4-dicafeoil quínico	ecuatorial-axial
	3,5-dicafeoil quínico	ecuatorial-axial
	4,5-dicafeoil quínico	ecuatorial-ecuatorial

MATERIALES Y METODOS

Material vegetal

Con el fin de realizar un análisis representativo de las "marcelas" que se expenden en el comercio, el material vegetal fue proporcionado por las principales empresas acopiadoras que distribuyen esta planta en farmacias y herboristerías (5 muestras) o adquiridas en diferentes oficinas de farmacia y herboristerías (3 muestras).

El patrón utilizado de *A. saturotoides* fue recolectado en la Provincia de Buenos Aires, identificado botánicamente por el Ing. Agr. Gustavo Giberti. Un ejemplar de herbario está depositado en el Museo de Farmacobotánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires.

Instrumental

Se utilizó un cromatógrafo líquido Varian equipado con una bomba Varian 9012, dos detectores espectrofotométricos: uno UV Varian 9050 para el análisis cuantitativo y otro UV con arreglo de fotodiodos Varian 9065 para el análisis cualitativo y el estudio de la pureza de las sustancias y una válvula Rheodyne 7161 de 100 µl. Los datos fueron procesados y registrados por una computadora digital DECpc Lpx⁺ 450 d², con una workstation Varian versión 4.0.

Condiciones cromatográficas

Se utilizó el método descrito y validado por Adzet y Puigmacía ¹⁰. Se cromatografió en una columna Phenomenex RP18 (250 x 4,6 mm x 5 µm), empleándose como fase móvil un gradiente de solventes, de acuerdo al siguiente esquema: Solvente A: metanol-ácido acético (98:2); Solvente B: agua-ácido acético (98:2); Gradiente 1: A (15% a 50%), B (85% a 50%) y Gradiente 2: A (50% a 75%), B (50% a 15%). El flujo fue de 1,2 ml/min.

Soluciones estándar

Se utilizaron testigos Roth (USA) de los ácidos clorogénico, cafeico y ferúlico. El ácido 4,5-dicafeoil quínico fue aislado de *Pterocaulon virgatum* según la técnica descrita por Martino *et al.* ¹⁰.

Preparación de los extractos

Los extractos se prepararon siguiendo el método de Adzet y Puigmacía ¹¹, que asegura que la composición química de los isómeros en la droga se mantiene.

La droga en polvo se calentó a reflujo con metanol al 70% (V/V) durante dos horas. Se filtró en caliente. Se repitió esta extracción tres veces, hasta agotamiento del material vegetal. Se reunieron los extractos, se llevó a sequedad en evaporador rotatorio y se tomó con metanol-agua (50:50). El residuo se lavó con éter de petróleo-éter etílico (1:2) tres veces. Las fases hidroalcohólicas se reunieron y se llevaron a sequedad. Las fases orgánicas se descartaron. Este proceso de purificación no modifica el contenido de las sustancias analizadas.

El residuo hidroalcohólico se llevó a volumen con metanol al 70% (V/V) en matraz aforado.

Las soluciones de testigos y muestras se filtraron por filtros Millipore de 0,45 µm. Se inyectaron 100 µl de cada una de las soluciones.

RESULTADOS

El análisis cromatográfico cualitativo se realizó comparando los perfiles cromatográficos de las muestras comerciales contra el perfil de la muestra auténtica de *A. satureioides*.

Se realizó el análisis de los tiempos de retención y de los espectros ultravioleta de las sustancias analizadas en la droga patrón y en las muestras comerciales, comparándolas con sus respectivos testigos.

A modo de ejemplo se han incluido los perfiles cromatográficos del patrón de *A. satureioides* (Figura 1a) y de la muestra muestra 5 (Figura 1b). En las Figuras 2a, 2b y 2c se muestran los espectros ultravioleta del ácido 4,5-dicafeoil quínico testigo y del mismo en *A. satureioides* y en la muestra 5, respectivamente.

De este análisis no surgen diferencias significativas en los perfiles cromatográficos de las muestras estudiadas respecto del patrón de *A. satureioides*.

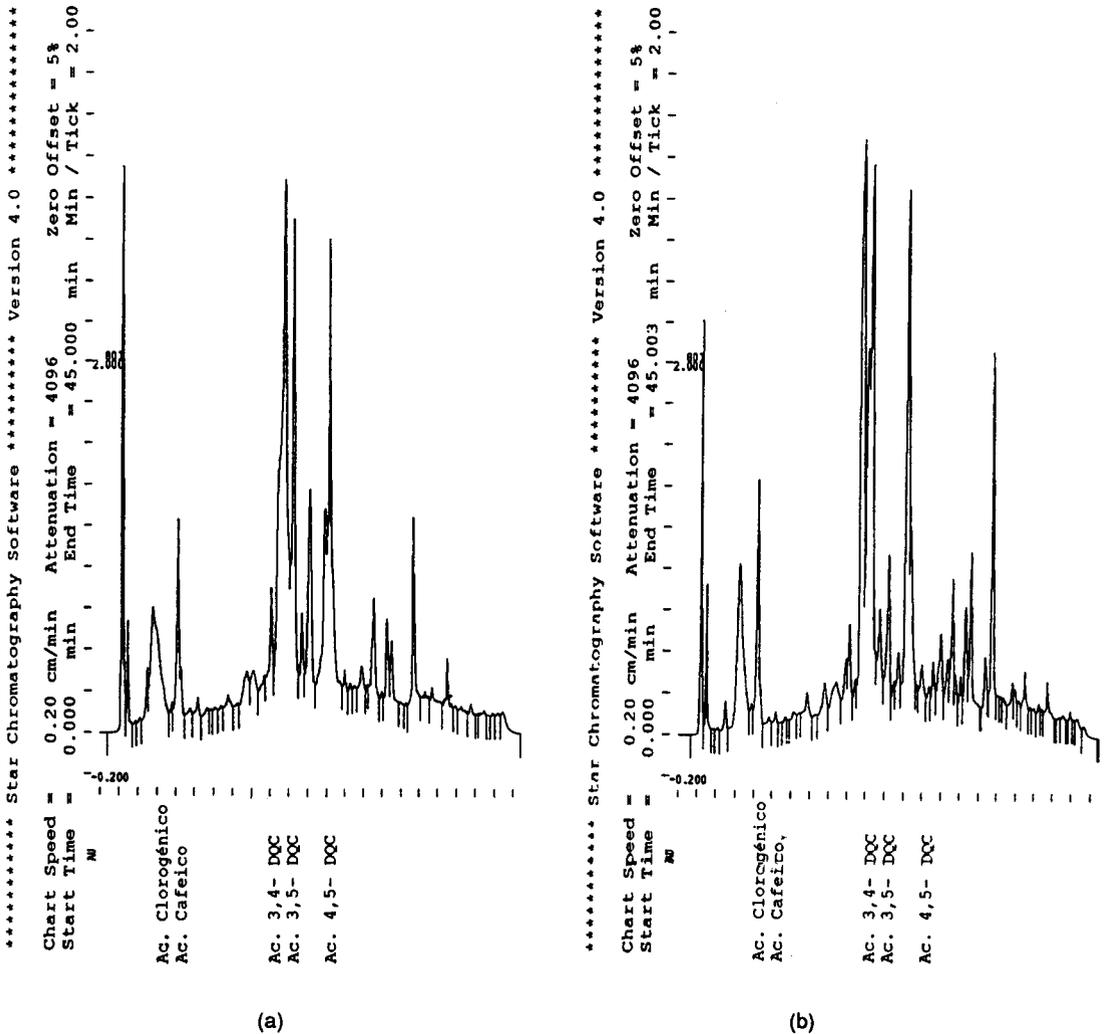
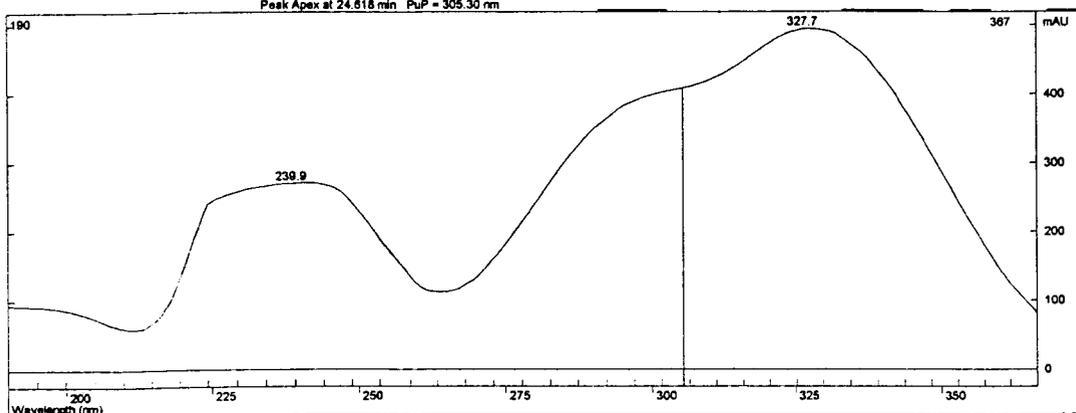


Figura 1. Perfiles cromatográficos del patrón de *A. satureioides* (a) y de la muestra muestra 5 (b).

Channel Range: 190 to 367 nm Absorbance Range: 60.636 to 492.36 mAU

Max Wavelength (nm):	239.86	327.72
Percent Max Abs.:	54.9%	100.4%

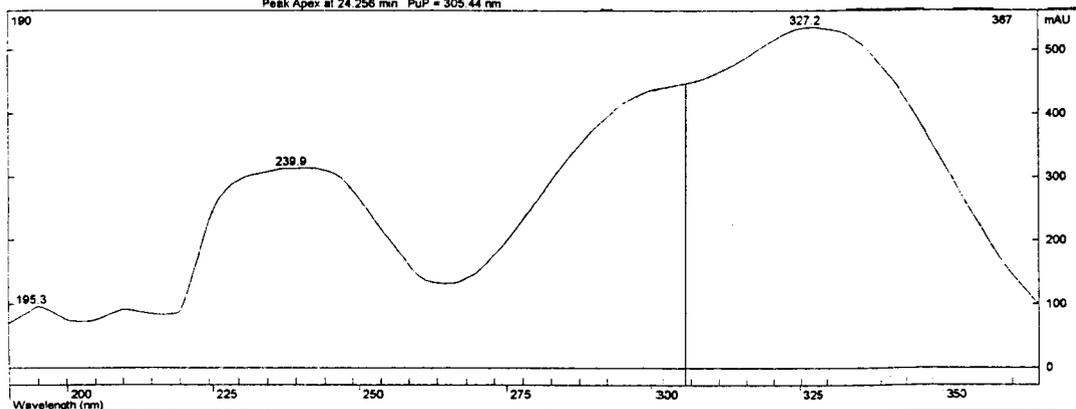
Peak Apex at 24.618 min PuP = 305.30 nm



Channel Range: 190 to 367 nm Absorbance Range: 70.008 to 534.26 mAU

Max Wavelength (nm):	195.32	239.86	327.21
Percent Max Abs.:	18.0%	58.7%	100.3%

Peak Apex at 24.256 min PuP = 305.44 nm



Channel Range: 190 to 367 nm Absorbance Range: 35.559 to 416.88 mAU

Max Wavelength (nm):	239.80	327.42
Percent Max Abs.:	53.2%	100.5%

Within Peak at 24.471 min PuP = 307.15 nm

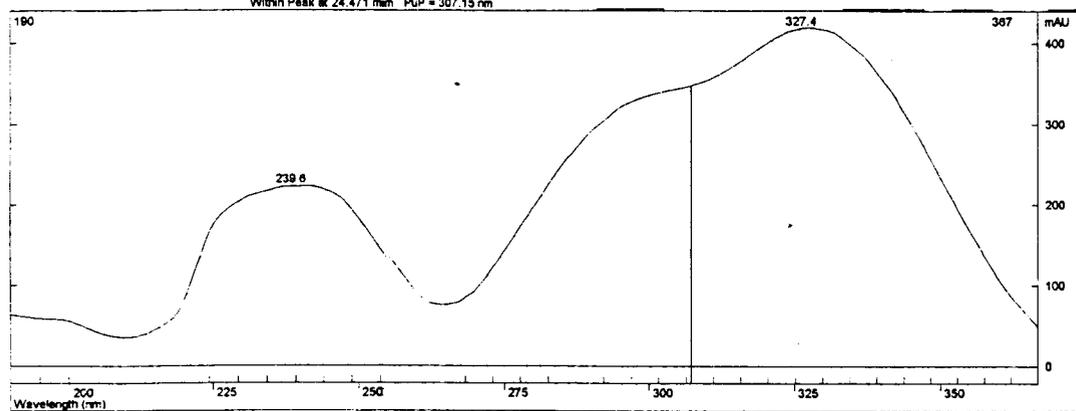


Figura 2. Espectros ultravioleta del ácido 4,5-dicafeoil quínico testigo (a) y del mismo en *A. saturoioides* (b) y en la muestra 5 (c).

En la Tabla 1 se transcriben comparativamente los datos obtenidos por determinación cuantitativa por HPLC de ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido ferúlico y los tres isómeros del ácido isoclorogénico (3,4-dicafeoil quínico; 3,5-dicafeoil quínico y 4,5-dicafeoil quínico) en el patrón de *A. satureioides* y en las 8 muestras comerciales.

Teniendo en cuenta que se trata de drogas vegetales, no hay diferencias significativas en el contenido en ácido cafeico en las muestras comerciales con respecto al testigo de *A. satureioides*.

Sólo dos muestras comerciales (1 y 5) contienen ácido clorogénico en proporciones semejantes al patrón utilizado. No se detectó la presencia de ácido ferúlico.

Con respecto al contenido en ácidos clorogénico e isoclorogénico total, se observa que en tres de las muestras comerciales (3, 4 y 7), si bien el contenido es menor, la diferencia no es significativa. En las muestras 2 y 6 el contenido en los mismos es considerablemente menor que en el patrón.

Como conclusión, se debe remarcar que, de las ocho muestras comerciales analizadas, sólo una (muestra 5) es semejante cuali y cuantitativamente al patrón utilizado.

	Acido clorogénico	Acido cafeico	Acido isoclorogénico			
			3,4-DCQ	3,5-DCQ	4,5-DCQ	TOTAL
Muestra 1	199,12	4,00	41,87	96,01	90,90	228,78
Muestra 2	13,89	0,75	16,29	20,22	20,23	56,74
Muestra 3	33,30	2,39	44,06	64,02	62,22	170,30
Muestra 4	25,60	1,95	46,81	55,72	62,75	165,28
Muestra 5	155,11	3,10	127,03	113,24	110,20	350,47
Muestra 6	16,95	1,03	28,60	31,45	27,36	87,41
Muestra 7	24,09	2,80	31,99	50,30	36,22	118,51
Muestra 8	59,03	2,06	88,94	79,42	78,75	247,11
<i>A. satureioides</i>	129,80	4,65	121,77	111,36	123,16	356,29

Acido ferúlico: no se detectó.

Tabla 1. Determinación cuantitativa por HPLC de ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido ferúlico y los tres isómeros del ácido isoclorogénico (3,4-dicafeoil quínico; 3,5-dicafeoil quínico y 4,5-dicafeoil quínico) en el patrón de *A. satureioides* y en las 8 muestras comerciales analizadas.

Los valores fueron calculados en mg/100 g de droga vegetal seca. El ácido isoclorogénico fue valorado como ácido 4,5-dicafeoil quínico (DCQ). El límite de detección fue de 0,05 mg % (P/V).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Es sabido que el contenido en principios activos de cada especie vegetal varía con la época de recolección, condiciones de conservación y secado. Las muestras comerciales pueden además haber sido recolectadas por personal no idóneo. Por lo tanto, las diferencias encontradas en el tenor de los derivados del ácido cafeoil quínico pueden deberse a que el material vegetal haya sido recolectado en diferentes épocas del año y/o a la mala conservación del mismo.

Los resultados obtenidos permiten además considerar este método analítico como una contribución para el control de calidad de muestras comerciales de "marcela". Sin embargo, su aplicación efectiva a los fines de comparación requiere la correcta recolección, identificación botánica y almacenamiento del material vegetal en idénticas condiciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Toursarkissian, M. (1980) *Plantas Medicinales de la Argentina*, Hemisferio Sur, Argentina, pág. 45
2. Galecka, H. (1969) *Acta Pol. Pharm.* **26**: 479
3. Czoc, G; W. Midani & R.I. Finke (1971) *Coll. Int. Chim. Cafes* **5**: 408
4. Czoc, G. & P.J. Schulze (1973) *Ernährungswiss.* **12**: 224
5. Kiso, I., M. Thokin, & H. Hikino (1983) *J. Nat. Prod.* **46**: 841-7
6. Wood, A.W., M.T. Huang, R.L. Chang, H.L. Newmark, R.E. Lehr, H. Yagi, J.M. Sayer, J.M., D.M. Jerina & A.H. Conney (1982) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **79**: 5513
7. Adzet, T.; J. Camarasa & J.C. Laguna (1987) *J. Nat. Prod.* **50**: 612-7
8. Kapil, A., I.B. Koul & O.P. Suri (1995) *Phytother. Res.* **9**: 189-93
9. Debenedetti, S.L., P.S. Palacios, E.G. Wilson & J.D. Coussio (1993) *Acta Horticulturae* **333**: 191-9
10. Martino, V.S.; S.L. Debenedetti & J.D. Coussio (1987) *Acta Farm. Bonaerense* **8**: 3-9
11. Adzet, P.T. & M. Puigmacía (1985) *J. Chromatogr.* **348**: 447-53