Acta Farm. Bonaerense **25** (4): 571-3 (2006)
Recibido el 5 de abril de 2006
Aceptado el 24 de abril de 2006

Determinación del Contenido de Derivados Cafeilquínicos en Especies Sudamericanas del Género *Achyrocline*

Paula G. LÓPEZ, Graciela E. FERRARO * & Adriana M. BROUSSALIS

Cátedra de Farmacognosia, IQUIMEFA (UBA-CONICET)
Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires,
Junín 956, Buenos Aires, Argentina

RESUMEN. Las partes aéreas de diferentes especies sudamericanas del género *Achyrocline,* conocidas popularmente como "marcela", son ampliamente utilizadas en medicina folclórica especialmente en malestares gastrointestinales. En este trabajo se describe el análisis cualitativo y cuantitativo realizado por HPLC del contenido en derivados cafeil quínicos, en las 4 especies más usadas del género: *A. satureioides, A. tomentosa, A. flaccida* y *A. alata.* El contenido porcentual en ácidos cafeico, clorogenico e isoclórogenico está relacionado con su uso popular.

SUMMARY. "Determination of Caffeoylderivatives Content in South American Species of the Genus *Achyrocline"*. Aerial parts of four Southamerican *Achyrocline* species *(A. satureioides, A. tomentosa, A. flaccida* and *A. alata),* generally called "marcela", are widely used in folk medicine against gastrointestinal pains. Qualitative and quantitative analysis of the caffeoylderivative contents were carried out by HPLC with a photodiode-array detector. The percent content of total caffeoylderivatives is in accordance to their ethnomedical use.

INTRODUCCIÓN

El género *Achyrocline* (Asteraceae) está ampliamente distribuido en América del Sur. Numerosas especies de este género son usadas en medicina tradicional o folclórica. Las más utilizadas son: *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C., *Achyrocline tomentosa* Rusby, *Achyrocline alata* (HBK) DC y *Achyrocline flaccida* (Weinm.) D.C.

A. satureioides conocida vulgarmente como "marcela del campo", "marcela", "marcela hembra", "marcelita", "pag (a) rá lauró", "yateí caá" y "yataí caá", se emplea como infusión para el tratamiento de diversas enfermedades particularmente aquellas que afectan el tracto gastrointestinal. La infusión de la planta es considerada digestiva y antidiabética. Los indios tobas emplean la planta macerada en agua fría como adelgazante. Se la agrega también como amargo en bebidas alcohólicas caseras [1,2]. *A. tomentosa* ("vira-vira") tiene reportadas propiedades antitusivas y es usada contra la influenza [3]. La infusión y la decocción de *A. flaccida* ("marcela", "marcela macho") se usan como febrífugas, antiespasmódicas, antihelmínticas y tónicas [1]. Se consumen también las infusiones y decocciones de *A. alata,* conocida vulgarmente como "yateí-caá" o "marcela brasileira" [4]. Las propiedades etnofarmacológicas citadas están fuertemente relacionadas con la presencia de compuestos fenólicos en las especies estudiadas. En trabajos previos se ha determinado cuantitativamente la presencia de polifenoles (flavonoides y derivados cafeil quínicos) [5-10] en estas cuatro especies. También se han realizado estudios sobre la morfología y la composición química de muestras comerciales argentinas de "marcela" [11,12].

La acción estimulante del flujo biliar del ácido cafeico y sus ésteres está ampliamente des-

PALABRAS CLAVE: *Achyrocline, A. alata, A. flaccida, A. tomentosa, A. satureioides,* Cuantificación de ácidos cafeico, clorogénico e isoclórogenico.
KEY WORDS: Achyrocline, A. alata, A. flaccida, A. tomentosa, A. satureioides, Quantification of caffeic, chlorogenic and isochlorogenic acids.

* Autora a quien dirigir la correspondiencia. *E-mail:* gferraro@ffyb.uba.ar

cripta [13]. También se comprobó la actividad hepatoprotectora de la cinarina, de los ácidos clorogénico, cafeico y quínico y de sus derivados [14] y los efectos antihepatotóxicos del ácido clorogénico [15]. La determinación de la actividad hepatoprotectora y colerética de la infusión de *A. satureioides* (que contiene flavonoides y derivados cafeil quínicos) ha permitido validar su uso popular como digestiva [16].

El ácido cafeil quínico tiene a su vez actividad hipocolesterolémica [17]. El ácido clorogénico y los ácidos cafeico y ferúlico y sus respectivos derivados tienen actividad antioxidante [18,19]. Esta actividad los convierte en sustancias sumamente promisorias como protectores no tóxicos, muy solubles en agua, contra la peroxidación lipídica y otras injurias celulares mediadas por radicales libres [20-22]. Se han reportado las actividades antibacteriana y antiviral para los ésteres del ácido cafeico [23]. Algunos glicósidos del ácido cafeico presentan una inhibición selectiva de la 5-lipooxigenasa, relacionada con la biogénesis de los leucotrienos, y estos a su vez, están implicados en la regulación de la inmunomodulación [24].

El objetivo del este trabajo ha sido identificar y cuantificar el ácido cafeico y sus derivados en las especies del género *Achyrocline* más empleadas en nuestro país, debido a que estos compuestos están fuertemente relacionados con las propiedades etnofarmacológicas descpritas para estas especies.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Achyrocline flaccida fue colectada en Colonia Benitez (Chaco), *A. satureioides* en Concepción del Uruguay (Entre Ríos) y *A. tomentosa* y *A. alata* en Los Cocos (Córdoba). El material vegetal fue identificado por el Dr. Gustavo Giberti. Los ejemplares de herbario están depositados en el Herbario del Museo de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires *(A. satureioides,* BAF 2981; *A. tomentosa,* BAF 2974; *A. alata,* BAF 2971 y *A. flaccida,* BAF 2983).

Preparación de los extractos

Las partes aéreas, secas y pulverizadas de cada especie (5 g de cada una), fueron extraídas a reflujo tres veces con 100 mL de MeOH 70% V/V durante dos horas y luego filtradas en caliente. Los extractos fueron concentrados a presión reducida. El residuo seco, solubilizado en 50 mL de MeOH-H_2O (1:1), fue lavado con tres porciones de de 10 mL de éter de petróleo – éter etílico (1:2). Las fases orgánicas se descartaron. Las fases acuosas fueron reunidas y liofilizadas. Aproximadamente 180 mg de extracto fueron disueltos en 25 mL de MeOH - H_2O (7:3) y luego filtrados por filtro de nylon de 0.45 µ. La solución se inyectó en el cromatógrafo. Este procedimiento se realizó por triplicado para cada una de las muestras analizadas.

Análisis por HPLC

Se empleó un equipo Varian provisto de una válvula de inyección Rheodyne®, con un lazo de 20 µL. Se utilizó una columna Phenomenex IB-SIL®, RP18 (250 x 4,6 mm; 5 µm). La fase móvil binaria compuesta por H_2O-AcOH (98:2) (solvente A), y MeOH-AcOH (98:2) (solvente B), se eluyó en gradiente de concentración (85% a 50% de A, 30 min. y 50% a 15% de A, 10 min.). El flujo fue de 1.20 mL/min. La detección se realizó a 325 nm con un detector UV con arreglo de fotodiodos. El método cromatográfico fue desarrollado por Adzet *et al.* [25].

La presencia de los ácidos cafeico y clorogénico fue determinada por comparación de sus tiempos de retención y de sus espectros UV contra los de los respectivos patrones de referencia (Carl Roth®). El ácido isoclorogénico fue determinado por comparación con el ácido 4,5-dicafeil quínico aislado de *Pluchea saggittalis* (Asteraceae) [26].

Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados en forma estadística con el test de Student.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se consignan en la Tabla 1.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran que *A. alata, A. satureioides* y *A. tomentosa* presentan un mayor contenido porcentual en derivados cafeil quínicos. Debido a la actividad farmacológica de estos compuestos, los resultados están en concordancia con los datos etnomédicos previos. Se observa que en *A. flaccida* el contenido porcentual de estos compuestos es menor.

El trabajo presentado es un aporte al conocimiento de la composición química de estas especies y, dado el extendido uso de las mismas en la medicina folklórica, a su vez podría constituir un punto de partida para la determinación de nuevos parámetros para el control de calidad de estas especies medicinales.

	Achyrocline satureioides	***Achyrocline flaccida***	***Achyrocline tomentosa***	***Achyrocline alata***
	X ± SD	**X ± SD**	**X ± SD**	**X ± SD**
Acido cafeico	0.02 ± 0.007	0.01 ± 0.001	0.02 ± 0.007	0.01 ± 0.001
Acido clorogénico	0.62 ± 0.04	0.11 ± 0.01	0.23 ± 0.05	0.21 ± 0.01
*3,4 ADCQ	0.65 ± 0.04	0.11 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.69 ± 0.02
*3,5 ADCQ	0.55 ± 0.06	0.33 ± 0.03	1.00 ± 0.01	1.06 ± 0.1
*4,5 ADCQ	0.57 ± 0.01	0.15 ± 0.04	0.41 ± 0.01	0.82 ± 0.01
Derivados cafeil quínicos totales	2.4 ± 0.16	0.73 ± 0.09	1.79 ± 0.09	2.79 ± 0.14

Tabla 1. Contenido en ácido cafeico y sus ésteres en 4 especies del género *Achyrocline* (%P/P). Resultados expresados como X ± SD. Cantidades expresadas en gr/100gr de droga vegetal.
* Nomenclatura IUPAC. ADCQ: Acido Dicafeil Quinico. Límite de cuantificación: 5 x 10^{-5} mg %.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Zardini, E.M. (1984) *Acta Farm. Bonarense* **3**: 77-99.
2. Toursarkissian, M. (1980) *Plantas Medicinales de la Argentina*. Hemisferio Sur, Buenos Aires, pág. 25.
3. Giberti, G.C. (1983) *J. Ethnopharmacol.* **7**: 321-2.
4. Giangualani, R.N. (1976) *Darwiniana* **20**: 549-76.
5. Broussalis, A.M., G.E. Ferraro, A. Gurni & J.D. Coussio (1988) *Biochem. Syst. Ecol.* **16**: 401-2.
6. Norbedo, C., G. Ferraro & J.D. Coussio (1982) *J. Nat. Prod.* **45**: 635-6.
7. Norbedo, C., G. Ferraro & J.D. Coussio, (1984) *Phytochemistry* **23**: 2698-700.
8. Ferraro, G. E., C. Norbedo & J.D. Coussio (1981) *Phytochemistry* **20**: 2053-4.
9. Ferraro, G.E., V.S. Martino, S.L. Villar & J.D. Coussio (1985) *J. Nat. Prod.* **48**: 817-8.
10. Broussalis, A.M., G.E. Ferraro & J.D. Coussio, (1993) *Biochem. Syst. Ecol.* **21**: 306.
11. López, P.G., A.M. Broussalis, M.G. Rodríguez, J.D. Coussio & G.E. Ferraro (1996) *Acta Farm. Bonaerense* **15**: 243-9.
12. Petenatti, E.M., C.M. Nievas, M.E. Petenatti & L.A. Del Vitto (2004) *Acta Farm. Bonaerense* **23**: 489-91.
13. Czoc G & P.J. Schulze (1973) *Ernaehrungswiss* **12**: 224-36.
14. Adzet T.J., J. Camarasa & J.C. Laguna (1987) *J. Nat. Prod.* **50**: 612-9.
15. Kapil A., B. Koul & O.P. Suri (1995) *Phytoter. Res.* **9**: 180-93.
16. Kadarian, C., A.M. Broussalis, J. Miño, P. López, S. Gorzalczany, G. Ferraro & C. Acevedo (2002) *Pharmacological Research* **45** (1): 57-61.
17. Lietti A. (1977) *Fitoterapia* **4**: 153-9.
18. King, A.M.J. & G. Youez (1996) *J. Am. Diet. As - soc.* **96**, A55-A56.
19. Russo , A., R. Longo, & A. Vanella (2002) *Fito - terapia* **73**: S21-S29.
20. Fraga G., V. Martino, G. Ferraro, J.D. Coussio & A. Boveris (1987) *Biochem. Pharmacol.* **36**: 712.
21. Desmarchelier, C., J.D. Coussio & Ciccia G. (1998) *Braz. J. Med. Biol. Res.* **31**: 1163-70.
22. Morquio, A., F., Rivera-Megret & F. Dajas (2005) *Phytother. Res.* **19**: 486-90.
23. Castaldo, S. & F. Capasso (2002) *Fitoterapia* **73**: S1-S6.
24. Oliveira Simões, C.M., E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C. Palazzo de Mello, L. Auler Mentz, & P.R. Petrovick (2000) *"Farmacognosia, da planta ao medicamento"* 2ª Ed. Rev. Ed. Universidade / FRGS, Porto Alegre, págs. 443-9; 489-95.
25. Adzet, P.T.& M. Puigmacía (1985) *J. Chroma - togr.* **348**: 447-53.
26. Martino, V., S.L. Debenedetti & J.D. Coussio (1979) *Phytochemistry* **18**: 2052.