



UNIVERSIDAD DE BELGRANO

# Las tesis de Belgrano

**Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Carrera de Licenciatura en Ciencias Biológicas**

**Evaluación de parámetros botánicos y  
fitoquímicos para el control de calidad de  
«carqueja»**

**Nº 126**

**Paola Antonela Mangiaterra**

**Tutor: Silvia Debenedetti**

Departamento de Investigación  
Febrero 2005



**Dra. Silvia Debenedetti**, Profesora de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Belgrano;

CERTIFICA,

El trabajo titulado «**Evaluación de parámetros botánicos y fitoquímicos para el control de calidad de «carqueja»**» ha sido realizado en el Laboratorio de Química de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Belgrano bajo mi supervisión.

Buenos Aires, 10 de Febrero de 2004



## Agradecimientos

Mi agradecimiento en especial a la Dra. Silvia Debenedetti, quien me guió en mis primeros pasos en la investigación brindándome su tiempo, espacio, confianza y amistad.

Agradezco la colaboración de la Dra. E. Spegazzini perteneciente a la cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP; y a la Dra. Amelia Henriques perteneciente a la Universidad Federal de Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil por su invaluable colaboración en la realización de mi tesina.

Al Dr. Marcelo Vernengo, decano de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Belgrano, mi profundo reconocimiento por su labor como maestro y guía que supo brindarme durante toda mi carrera.

A la Dra. Cecilia Di Rissio, quien siempre estuvo presente apoyándome durante toda la carrera.

A mis profesores por haberme transmitido todos sus conocimientos.

A mamá y papá, por haberme brindado siempre su amor y por su permanente apoyo en cada etapa de mi vida.

A Georgina, por su incondicionalidad.

A mis abuelos, por todo su amor y por seguir de cerca mis pasos.

A mis amigos en particular a Alejo, Carolina, Florencia, María, Milagros, Lía y Sandra por haberme acompañado y alentado durante este último tiempo.

A mis compañeros, por los momentos inolvidables.



# Indice

RESUMEN .....	9
1. INTRODUCCIÓN .....	10
2. OBJETIVOS .....	14
3. ANTECEDENTES .....	14
3.1. Estado Actual de la Legislación .....	14
3.1.1. Directivas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) respecto a plantas medicinales como recursos terapéuticos .....	14
3.1.2. Problemática en el control de calidad de las drogas vegetales y Medicamentos Fitoterápicos .....	15
3.1.3. Estado actual de la investigación y situación reglamentaria en países desarrollados .....	16
3.1.4. Estado de la investigación y situación legal en Argentina .....	17
3.2. Antecedentes botánicos de las especies del género Baccharis conocidas como «carqueja» .....	18
3.2.1. Nomenclatura .....	19
3.2.2. Descripción morfológica de las especies argentinas conocidas como «carqueja» .....	20
3.2.3. Análisis micrográfico cuantitativo .....	22
3.3. Antecedentes Etnofarmacológicos y usos tradicionales de «carqueja» .....	22
3.4. Antecedentes fitoquímicos de las especies conocidas como «carquejas» .....	24
3.5. Actividad farmacológica y toxicológica de las especies conocidas como «carquejas» .....	24
3.6. Productos medicinales y alimenticios, actualmente comercializados en Argentina, que contienen «carqueja» .....	25
3.7. Antecedentes sobre la calidad de los productos que medicinales que contienen «carqueja» .....	27
4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	28
4.1. Material Vegetal .....	28
4.1.1. Material de Herbario .....	28
4.1.2. Material Vegetal de recolección silvestre .....	29
4.2. Identidad Botánica .....	29
4.2.1. Descripción morfológica .....	29
4.2.2. Valores numéricos .....	29
4.2.3. Descripción microscópica .....	29
4.3. Cromatografía en capa delgada (TLC) .....	29
4.3.1. Preparación de los extractos y de soluciones estándares .....	29
4.3.2. Sistemas cromatográficos .....	31
4.3.3. Revelado .....	31
4.4. Análisis por Cromatografía Gaseosa / Espectroscopia de masa (CG/EM) .....	31
4.4.1. Preparación de los extractos .....	31
4.4.2. Análisis Cualitativo .....	31
5. RESULTADOS.	
5.1. Descripción morfológico .....	31
5.2. Análisis cromatográfico. Valores numéricos .....	32
5.3. Descripción microscópica .....	32
5.4. Perfiles cromatográficos de TLC .....	34
5.5. Cromatografía Gaseosa / Espectroscopia de Masa (CG/EM) .....	37
6. CONCLUSIONES .....	41
7. REFERENCIAS .....	43



## Resumen

El presente trabajo tiene como objetivo general colaborar con el control de calidad de los Medicamentos Fitoterápicos, regulados a partir de 1998 por la Disposición 144/98 y sus disposiciones reglamentarias.

Se entiende por Medicamento Fitoterápico a los productos farmacéuticos cuyas materias primas son drogas vegetales o sus extractos y que llevan una indicación terapéutica.

Se denomina droga vegetal a la parte/s del vegetal, que por contener el/los principios activos, se utilizan con fines terapéuticos y pueden constituirse en materia prima para la elaboración de medicamentos. Estos medicamentos, al igual que cualquier especialidad medicinal, deben cumplir con los requisitos de seguridad, eficacia y calidad para constituir una alternativa terapéutica. Sin embargo, a diferencia de Europa en muchos países Latinoamericanos incluyendo Brasil y Argentina las plantas medicinales nativas no fueron investigadas en forma integral de manera de poder ser consideradas materias primas de medicamentos. Solo existen investigaciones parciales botánicas, químicas o farmacológicas. En la actual Farmacopea Nacional Argentina VI Ed. (1978) no existen monografías que garanticen la calidad adecuada del producto según los criterios de investigación científica modernos.

Una de las drogas vegetales de mayor popularidad en la medicina tradicional Argentina y Sudamericana es la conocida bajo el nombre de «carqueja». Sus partes aéreas han sido tradicionalmente usadas en todos los países de donde es originaria (Argentina, Brasil, Uruguay, Bolivia y Paraguay) para corregir disfunciones estomacales y digestivas por sus propiedades como tónico amargo y estimulante de la función gástrica y para combatir la impotencia masculina y la infertilidad femenina. En uso externo es utilizada como antiséptica y secante de úlceras. Actualmente se comercializan productos medicinales, tanto en los países de donde es originaria como en Estados Unidos y Europa, promocionando diferentes usos: como adelgazante, para combatir la diabetes, la esterilidad femenina y para la impotencia sexual masculina (denominada «viagra natural»).

De la información recogida, surge claramente que tanto en Argentina como en Brasil, Uruguay, Bolivia y Paraguay se conocen como «carqueja» varias especies del género *Baccharis*. Fundamentalmente cuatro son las mencionadas en la bibliografía, dos de ellas figuran en la Farmacopea Nacional Argentina VI Ed: *Baccharis articulata* (Lam.) Persoon; *Baccharis crispa* Sprengel, una tercera *Baccharis trimera* (Less.) DC, es la que figura bajo el nombre de carqueja en la Farmacopea Brasileña IV Ed. y una cuarta especie *Baccharis genistelloides* que no se encuentra descripta en la bibliografía taxonómica revisada. Es importante señalar que *B. crispa* y *B. trimera* figuraron durante varios años como variedades de esta especie, bajo los nombres de *Baccharis genistelloides* var. *crispa* y *B. genistelloides* var. *trimera*. Esta situación hace que, todos los estudios químicos, farmacológicos o toxicológicos que figuran en bibliografía para *Baccharis genistelloides* sin especificar su variedad no constituyen datos relevantes dado que no pueden ser adjudicados ni a *B. crispa* ni a *B. trimera*.

En lo que respecta a la identificación de la droga vegetal, como parte del control de calidad, no existen problemas de identificación macroscópica entre las dos especies oficiales (*B. articulata* y

*B. crispa*) dado que su diferenciación se encuentra en la cantidad de alas de sus tallos: *Baccharis articulata* (Less.) posee tallos con dos alas estrechas y largas, mientras que *Baccharis crispa* Sprengel presenta tallos con tres alas más anchas (Giuliano, 2000). Por el contrario, la diferenciación entre *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera* no es evidente ya que ambas presentan tallos trialados y se describen mínimas diferencias en sus características botánicas.

Estas características ponen de manifiesto la necesidad de contar con parámetros inequívocos de identificación y ensayos para la verificación de su calidad. De esta manera, el presente trabajo se encuentra dirigido a establecer parámetros de identidad botánicos y químicos de las tres especies de *Baccharis* conocidas como «carqueja» y a la puesta a punto de técnicas de análisis que puedan ser incluidas en una monografía para su control de calidad.

Se analizaron las características macroscópicas y microscópicas y se realizó la caracterización química por cromatografía en capa delgada y por CG/EM (Cromatografía gaseosa / Espectroscopia en masa) de varias muestras de herbario de *Baccharis crispa* Sprengel. y *Baccharis trimera* Less. depositadas en distintos herbarios reconocidos el Herbario del Museo de La Plata (LP) y en el Herbario y Museo de Botánica y Farmacognosia «Carlos Spegazzini» (LPE), La Plata Argentina y con 11 muestras de colección recolección silvestre de *Baccharis articulata*, *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera* botánicamente identificadas provenientes de distintas provincias Argentinas y del sur de Brasil.

Asimismo, fue necesario recopilar toda la información existente desde el punto de vista botánico, químico, etnofarmacológico y farmacológico que hasta el momento se encontraba dispersa en diferentes fuentes de información nacionales e internacionales.

De la revisión bibliográfica realizada sobre la descripción morfológica y sobre algunas de las claves sistemáticas para el reconocimiento de *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera* (Sprengel, 1826; Ariza Espinar, 1974; Cortadi et al., 1999; Giuliano, 2000; Barboza et al., 2001) surge que no existen diferencias entre ambas especies en cuanto a sus características macroscópicas. Las diferencias señaladas para los capítulos femeninos en cuanto al tamaño, involucro y estilo no son significativas y éstas no pudieron ser corroboradas cuando se realizó el estudio macroscópico en las muestras de herbario y en las muestras de recolección silvestre. De igual manera, la característica diferencial propuesta en la clave sistemática de Giuliano, 2000 para *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera* basada en el borde cespado de sus tallos alados no pueden ser considerado como parámetro de diferenciación dado que todas las muestras de herbario y de recolección silvestre clasificadas tanto como *Baccharis crispa* o *Baccharis trimera* presentan tallos con alas crespas.

Los valores numéricos (índice de empalizada e índice de estomas) de todas las muestras estudiadas de *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera* se encuentran en un mismo rango y coinciden con lo señalado por Gianello et al., 2000, corroborando que estos índices no pueden ser utilizados para la diferenciación de estas especies.

La observación microscópica de los cortes histológicos de todas las muestras analizadas, se centró en los pelos glandulares y tectores y en el número de cavidades secretoras en el extremo del ala, como únicas características diferenciales mencionadas por Cortadi et al., 1999. Estas características fueron encontradas indistintamente en las diferentes muestras de herbario clasificadas como *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera*.

En conclusión se puede decir que las características macroscópicas y microscópicas que señalan los distintos autores solo pueden ser útiles en el reconocimiento de *B. articulata* pero no son suficientes para la diferenciación entre *B. crispa* y *B. trimera*.

Esta problemática hace que la caracterización química de las especies sea imprescindible. Para esto, se ensayaron varios sistemas cromatográficos para compuestos polares y no polares en CCD (Cromatografía en Capa Delgada) y CG-EM (Cromatografía Gaseosa-Especrometría de Masas), de manera de encontrar perfiles característicos de cada especie y diferencias químicas significativas entre ellas. Los extractos metanólicos y diclorometánicos de las muestras del material vegetal fueron analizados en distintos sistemas en CCD encontrando un perfil cromatográfico característico para compuestos polifenólicos y otro para compuestos terpénicos para cada especie. Así mismo, se encontraron bandas diferenciales entre los extractos de *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera*, siendo útiles para su diferenciación. Los perfiles cromatográficos de los extractos metanólico y diclorometánico de *Baccharis articulata* mostraron bandas diferenciales con respecto a los mismos extractos de *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera*.

En el análisis de CG/EM de los extractos hexánicos de las muestras de recolección silvestre clasificadas como *Baccharis trimera* se encontró la presencia de dos picos diferenciales que pudieron ser identificados por espectroscopia de masas como acetato de carquejilo y ledol.

Estos picos se encuentran ausentes en los extractos hexánicos de las muestras de recolección silvestre clasificadas como *Baccharis crispa*. Por lo tanto, este análisis puede considerarse de gran utilidad en la diferenciación entre *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera*.

Concluyendo que los perfiles cromatográficos son los únicos análisis que aportan parámetros de diferenciación entre las tres especies resultando imprescindibles al momento del control de calidad de la droga vegetal.

De esta manera, la comparación de las características botánicas propias de las tres especies así como el análisis cualitativo de sus perfiles cromatográficos, permitirán aportar los datos necesarios para el control de calidad de las tres especies conocidas como «carqueja», estableciendo parámetros de identidad para la droga vegetal en estudio. Estos parámetros diferenciales junto con la recopilación de la información existente sobre carqueja posibilitará además evaluar la incorporación de *Baccharis trimera* (Less.) DC en la nueva edición de la Farmacopea Argentina, posibilitando su comercialización nacional e internacional.

## 1. Introducción

«Que tu alimento sea tu medicina y tu medicina sea tu alimento». Hipócrates

Desde los más remotos tiempos hasta nuestros días, las plantas han sido empleadas por las diferentes civilizaciones para aliviar los males de la humanidad. Indudablemente, la fitoterapia (fito= planta; terapia= curación) es considerada la medicina más ancestral por excelencia. La receta más antigua data del tercer

milenio antes de Cristo y fue hecha por un médico sumerio. En la India, China y el Medio Oriente comenzaron desde entonces a desarrollar sus Materias Médicas.

Algunos de los primeros escritos descubiertos recopilaban la información sobre el poder curativo de las plantas. Es así que históricamente, las plantas medicinales siempre han estado ligadas con el bienestar de la humanidad. La primera información detallada sobre las plantas medicinales y sus usos data de China del año tres mil años antes de Cristo (a.C) y es considerada la primer Farmacopea China. *Shen-nung pen ts'ao ching* (Divine Husbandman's Materia Medica) se cree que fue escrita por Shen-nung aproximadamente en el año 2.800 a.C. y describe 365 drogas derivadas de plantas, animales y minerales. Shen Nung es venerado como el Padre de la medicina China.



Shen Nung

Existen más de 50 ediciones revisadas del **Pen ts'ao** siendo la última versión el **Pen ts'ao kang mu**, publicada en 1.596, cuyo autor Li Shihh-Chen recopila más de 2.000 drogas de origen natural. Cerca de 5.000 plantas nativas son usadas en ese país como hierbas medicinales en la actualidad.

El *Vedas* en la India, una colección de himnos del año 1.000 a.C. incluye más de 1.000 hierbas curativas, muchas de las cuales continúan siendo usadas en la medicina ayurvédica.

Sin embargo se piensa que el primer texto escrito sobre plantas medicinales data del año 7.000 a.C. Sus autores, los sumerios, grabaron en tablillas de arcilla todos los conocimientos recopilados hasta aquella época sobre las propiedades curativas de las plantas. Así es como comienza la historia oficial de la fitoterapia.



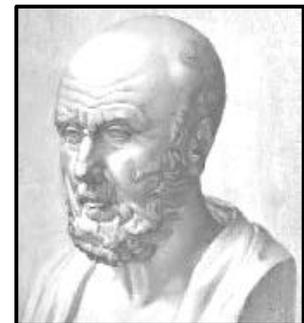
Pen ts'ao kang mu



Papiro de Edwin Smith

Las materias médicas de la antigua civilización egipcia y su experiencia en las ciencias de curar, nos han sido dadas a conocer gracias a los papiros hieráticos. El más valioso de ellos es el de Smith (primera mitad del siglo XVII a.C.), copia de otro más antiguo (2.980-2.700 a.C.), denominado papiro quirúrgico Edwin Smith. Por su parte, en el papiro de Ebers, que se remonta a más de 1.500 años a.C., existen multitud de fórmulas que le dan aspecto de ser una codificación de las mismas, o sea una recopilación de documentos desaparecidos de fechas mucho más anteriores.

Hipócrates (460 a.C), considerado el padre de la medicina, fue un auténtico herbalista. De acuerdo con la historia de la botánica, sólo 235 hierbas eran conocidas en la isla de Cos, en la Turquía Asiática, pero apenas con unas cuantas seleccionadas de éstas



Hipócrates (460 a.C)

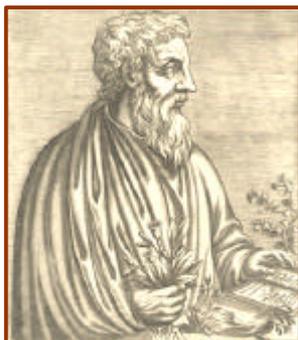
Hipócrates curaba a toda su nación y a los países circundantes. Cuando Roma observó las maravillas realizadas por este gran herbalista con apenas unas cuantas hierbas, desterró a sus médicos por espacio de 600 años. Y dice la tradición histórica que tras esto toda la gente recobró la salud y la mantuvo a lo largo de la vida.

El conocimiento empírico acerca de las plantas y sus efectos curativos se acumuló durante muchos milenios y posteriormente pasó a ser parte integral de sistemas y tradiciones curativas como el ayurveda en la India, la medicina tradicional china o las tradiciones curativas de los indios americanos. La información sobre principios y prácticas que tendían a proteger la salud y también a curar enfermedades era transmitida además mediante la tradición oral de generación en generación. Sólo una mínima parte de estos conocimientos iban acompañados de instrucciones escritas.

En Europa, la Materia Médica del griego Dioscórides (I siglo d.C.) tuvo impacto durante mucho tiempo. Dioscórides fue un médico farmacólogo y botánico que viajó por Grecia e Italia con la armada como médico. Esto le permitió estudiar las propiedades de las plantas medicinales y utilizarlas para la preparación de remedios.



Pinturas en madera realizadas por Dioscórides



**Pedanios Dioscórides  
(50 d.C)**

Su influencia en el campo farmacéutico perduró hasta tiempos modernos.

En Latino América dos culturas predominaron: los Aztecas en México y los Incas en Perú. Sin embargo, otras culturas jugaron anteriormente un papel muy importante como los Mayas en México y Moche en el Perú. A través de cerámicas, tejidos y keros actualmente se tiene bastante información acerca del uso de plantas medicinales en tiempos precolombinos.

Aunque a partir del siglo pasado el empuje de la industria farmacéutica, fundamentada en el empleo de plantas viniera a verse como una práctica «primitiva» e irracional, en décadas recientes, la fitoterapia ha experimentado un extraordinario resurgir. Esta disciplina defiende que frente a los tratamientos químicos las plantas medicinales ofrecen numerosas ventajas. Los principios activos están equilibrados en las especies vegetales por la presencia de sustancias complementarias que se potencian entre sí y no se acumulan en el organismo limitando los efectos secundarios. Por lo tanto la principal ventaja de la fitoterapia reside

en su propio modo de acción ejerciendo un efecto más suave y profundo sin agredir al organismo.

Se puede decir entonces que, históricamente, los productos de origen vegetal, particularmente drogas y extractos, han pasado de tener un papel hegemónico en el arsenal terapéutico, a un discreto segundo plano, para volver a tener, en las dos últimas décadas una presencia cada vez mayor en la terapéutica.

El retorno hacia el uso de los productos de origen natural en terapéutica se ha visto favorecido por:

- ✂ El descubrimiento de graves efectos secundarios en fármacos de síntesis.
- ✂ Un mayor conocimiento químico, farmacológico y clínico de las drogas vegetales y sus productos derivados.
- ✂ El desarrollo de nuevas formas de preparación y de administración de las drogas vegetales y sus extractos.
- ✂ El desarrollo de métodos analíticos que garantizan un mejor control de calidad.
- ✂ El aumento de la automedicación, ya que los productos fitoterápicos son, en general, menos peligrosos y por tanto más aptos para la automedicación.
- ✂ El cambio del perfil del consumidor que, desde finales de la década de 1980, está prefiriendo los productos naturales en detrimento de los productos sintéticos en todos los segmentos del mercado, abarcando de esta manera los sectores de salud, alimentación, higiene y vestimenta.



En la actualidad el consumo mundial de las llamadas plantas medicinales y sus derivados se traduce en volúmenes considerables de intercambio comercial. Solo en Estados Unidos, en el año 2002, las ventas en tiendas minoristas de productos a base de drogas vegetales alcanzaron casi 350 millones de dólares, sin encontrarse incluidas en estas cifras las ventas producidas en otros canales de comercialización (Blumenthal, 2002). En Europa el mercado de los fitofármacos era estimado en el año 2002 en 400 millones de dólares, con un crecimiento anual del 12% (Ríos, 2000). Si bien la medicina moderna está bien desarrollada en la mayor parte del mundo, grandes sectores de la población de los países en desarrollo todavía dependen de las plantas medicinales y los medicamentos herbarios para su atención primaria. La organización mundial de la Salud estima que la atención médica del 80% de la población mundial depende de la medicina tradicional, incluyendo la herboristería. De esta manera las plantas juegan un papel primordial en los sistemas de salud pública de países en desarrollo. Es más, durante las últimas décadas, el interés del público en las terapias naturales ha aumentado enormemente en los países industrializados, y se halla en expansión el uso de plantas medicinales y medicamentos cuyas materias primas son drogas vegetales o sus extractos.

En Europa y Estados Unidos y Canadá ha renacido el interés por los productos naturales estimulado por un mayor conocimiento de la acción de las plantas y la elaboración de normas relativas a la seguridad, calidad y fiabilidad de estos preparados. Por ello y por el enorme potencial curativo que posee el mundo vegetal la fitoterapia se está transformando en una práctica muy distinta a la de nuestros antepasados.

En Europa y Estados Unidos y Canadá ha renacido el interés por los productos naturales estimulado por un mayor conocimiento de la acción de las plantas y la elaboración de normas relativas a la seguridad, calidad y fiabilidad de estos preparados. Por ello y por el enorme potencial curativo que posee el mundo vegetal la fitoterapia se está transformando en una práctica muy distinta a la de nuestros antepasados.

Los medicamentos utilizados en esta nueva fitoterapia, «medicamentos herbarios», «fitoterápicos» o «medicamentos fitoterápicos», deben ajustarse a los requerimientos actuales de seguridad, eficacia y calidad necesarios para cualquier medicamento. Es así como la Organización Mundial de la Salud (OMS) en la resolución WHA 42.43 (1989) de la Asamblea Mundial de la Salud (WHA) urgió a los países miembros a realizar una comprensiva evaluación de los sistemas tradicionales de salud a efectos de llevar a cabo, en lo que respecta a las plantas, un listado de especies a ser incorporadas en las farmacopeas nacionales, pero que se ajusten a los estándares de seguridad, eficacia y calidad recomendados para los productos de salud

humana.

Muchas de las drogas vegetales internacionalmente reconocidas y utilizadas como materia prima de medicamentos (manzanilla, pasiflora, hipérico, ginseng, ginkgo, etc.) ya tienen su incorporación en las Farmacopeas internacionales, con normas que definen su identidad y calidad. Así mismo, muchas Universidades y entidades gubernamentales han centrado sus investigaciones en la certificación de seguridad y eficacia a través de estudios farmacológicos, toxicológicos y clínicos. Hoy en día, la Farmacopea Europea y la USP-NF (United State Pharmacopoeia-National Formulary) incluyen una gran cantidad de monografías de drogas vegetales.

En nuestro país, la última edición de Farmacopea Nacional Argentina data de 1978 y si bien incluye algunas monografías de drogas vegetales, los ensayos para certificar su identidad y calidad son incompletos e insuficientes. Actualmente la Farmacopea Argentina se encuentra en etapa de revisión y se ha creado una Sub-Comisión de Drogas Vegetales para la redacción de monografías que cumplan con los parámetros internacionalmente propuestos para la evaluación de estas drogas. La redacción de monografías de drogas vegetales autóctonas representa un verdadero desafío. Las investigaciones botánicas, químicas o farmacológicas sobre plantas argentinas son escasas y generalmente se encuentran publicadas en revistas nacionales de difícil acceso. Recopilar esa información y desarrollar metodologías de análisis para la identificación y evaluación de calidad de dichas drogas representa una importante contribución no solo a la Farmacopea Argentina, sino un aporte al control de calidad de las materias primas para los laboratorios farmacéuticos nacionales que elaboran medicamentos herbarios conteniendo dichas drogas.

Una de las drogas vegetales de mayor popularidad en la medicina tradicional Argentina y Sudamericana es la conocida bajo el nombre de «carqueja».



Las partes aéreas de la «carqueja» han sido tradicionalmente usadas en todos los países de donde es originaria (Argentina, Brasil, Uruguay, Bolivia y Paraguay) para corregir disfunciones estomacales y digestivas por sus propiedades como tónico amargo y estimulante de la función gástrica y para combatir la impotencia masculina y la infertilidad femenina. En uso externo es utilizada como antiséptica y secante de úlceras.

Desde hace más de 50 años existen en Brasil y Argentina medicamentos conteniendo «carqueja» como materia prima, en forma de tisana o como integrante de diversas fórmulas farmacéuticas y medicamentos herbarios (simple y/o en mezclas). Estos productos son usados en terapéutica basados en su uso tradicional como digestivo y hepato-

protector.

Actualmente se comercializan productos medicinales, tanto en los países de donde es originaria como en Estados Unidos y Europa, promocionando diferentes usos: como adelgazante, para combatir la diabetes, la esterilidad femenina y para la impotencia sexual masculina (denominada «viagra natural»).

Estas características ponen de manifiesto su interés comercial y la necesidad de contar con parámetros inequívocos de identificación y ensayos para la verificación de su calidad.

Bajo el nombre de «carqueja» se conocen tres especies del género

*Baccharis*: *Baccharis articulata* (Lam.) Persoon, *Baccharis crispa*

Sprengel y *Baccharis trimera* (Less.). Dos de ellas, *Baccharis articulata* y *Baccharias crispa*, figuran en Farmacopea Nacional Argentina VI Ed. (1978) bajo el nombre oficial de «Carqueja», mientras que *Baccharis trimera* es la única que figura en la Farmacopea Brasileira IV Ed. (2001).

Si bien en Farmacopea Argentina VI Ed. se describen las características macro y microscópicas de *B. articulata* y *B. crispa*, éstas son insuficientes a la luz de las exigencias actuales para el control de calidad de drogas vegetales. Por otra parte no existen parámetros de diferenciación entre estas dos especies y *B. trimera*, la cual se encuentra ampliamente distribuida, utilizada y comercializada en Argentina y el cono sur.



## 2. Objetivos

El presente trabajo se encuentra dirigido a establecer parámetros de identidad de las tres especies de *Baccharis* conocidas como «carqueja» cuando es comercializada como droga vegetal y a la puesta a punto de técnicas de análisis que posibiliten la elaboración de una monografía para su control de calidad permitiendo de esta manera su inclusión en la nueva edición de la Farmacopea Argentina.

Es importante señalar que la identificación de una droga vegetal (parte usada de la planta) con fines farmacéuticos es sustancialmente diferente a la identificación botánica. En este caso es necesario un ejemplar completo de la especie que se trata, mientras que para los fines farmacéuticos se tienen en cuenta las características diferenciales que se encuentran en el órgano empleado de la planta.

Para la identificación de la droga vegetal, como parte del control de calidad, se tomarán los parámetros que figuran en todas las monografías de las Farmacopeas internacionales reconocidas (USP/NF, Farmacopea Europea, Farmacopea Francesa, Farmacopea Italiana) y los propuestos para las monografías que van a ser parte de la Farmacopea Argentina VII Ed: características macroscópicas y microscópicas, caracterización química por cromatografía en capa delgada y/o CG (Cromatografía gaseosa), HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Presión).

Así mismo se hace necesario una exhaustiva búsqueda bibliográfica recopilando la información existente sobre las tres especies: hábitat, distribución geográfica, parte utilizada, usos etnofarmacológicos, características macro y microscópicas, composición química y ensayos farmacológicos y toxicológicos que puedan servir a la industria en el momento de justificar la eficacia y seguridad de esta droga vegetal.

La comparación de las características propias de las tres especies así como el análisis cualitativo de sus perfiles cromatográficos, permitirán aportar los datos necesarios para el control de calidad de las tres especies conocidas como «carqueja», estableciendo parámetros de identidad para la droga vegetal en estudio. Estos parámetros diferenciales junto con la recopilación de la información existente sobre carqueja posibilitará evaluar la incorporación de *Baccharis trimera* (Less.) en la nueva edición de la Farmacopea Argentina, posibilitando su comercialización nacional e internacional.

## 3. Antecedentes

### 3.1- Estado actual de la Legislación.

#### 3.1.1- Directivas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) respecto a plantas medicinales como recursos terapéuticos.

Las plantas medicinales como recurso terapéutico ha sido una constante preocupación de la OMS (Organización Mundial de la Salud). En la recordada reunión de Alma Ata (1978), donde la Asamblea Mundial de la Salud (WHA) dictaminó la importancia de incorporar en los sistemas de salud de los países miembros aquellas disciplinas consideradas como tradicionales, las plantas medicinales se constituyeron por fuerza propia en el primer recurso a tener en cuenta.

En su resolución WHA 42.43 (1989) se urgió a los países miembros a realizar una comprensiva evaluación de los sistemas tradicionales de salud a efectos de llevar a cabo, en lo que respecta a las plantas, un listado de especies a ser incorporadas en las Farmacopeas nacionales, pero que se ajusten a los estándares de seguridad, eficacia y calidad recomendados para los productos de salud humana.

La temática de las plantas medicinales ha sido incluida en la 4ª. Conferencia Internacional sobre Autoridades Regulatorias de Drogas (ICDRA) en el año 1986. En las sucesivas reuniones (1986-9) del ICDRA se concluyó que la OMS debería preparar un modelo de guía que contenga los elementos necesarios y fundamentales para legislar y registrar este tipo de productos. Es así como en junio de 1991 en Munich, se elevó el proyecto: «Guidelines for the Assessment of Herbal Medicines» el cual fue consensuado dentro de la 6ª ICDRA en Ottawa en 1991, definiendo Medicamento Herbario como:

*«Productos medicinales, acabados y etiquetados cuyos ingredientes activos están formados por partes aéreas o subterráneas de plantas u otro material vegetal (gomas resinas, aceites grasos o esenciales) o combinaciones de este, en estado bruto o en forma de preparaciones vegetales tradicionalmente usadas con fines medicinales y que no contengan sustancias activas químicamente definidas o sus mezclas aún cuando fuesen constituyentes aislados de plantas.»*

Esa guía define los criterios básicos de evaluación de calidad, seguridad y eficacia de las hierbas medicinales, como así también elementos para el rotulado y envasado a efectos de asistir a las autoridades de regulación nacional (organizaciones científicas, elaboradores, etc.). En la guía también se hace referencia al uso tradicional de una hierba (a través de literatura histórica, médica y etnológica bien fundamentada), la forma farmacéutica más recomendada y las indicaciones terapéuticas mejor consensuadas. Asimismo, se

hace particular hincapié en la correcta identificación botánica, análisis de estabilidad de la droga, aspectos toxicológicos a ser realizados en casos de hierbas de dudoso historial, revisión bibliográfica a consultar, etc.

En 1994 la OMS, en su oficina regional para el oeste del Mediterráneo, publicó una **«Guía para la Formulación de Políticas Nacionales para Hierbas Medicinales»**. En la misma se destaca el importante papel que tienen las hierbas en trastornos que afectan a gran parte de la humanidad, tales como: trastornos gastrointestinales, infecciones urinarias, patologías respiratorias, enfermedades dermatológicas, etc. El principal objetivo en esta nueva guía es el reconocimiento de la medicina tradicional como parte integrante en los sistemas tradicionales de salud de cada país.

En su último documento sobre Medicinas Tradicionales (WHO/EDM/TRM/2002.1) en su Capítulo 5 «Estrategias y plan de acción» se promueve la inclusión de medicamentos herbarios de seguridad y eficacia comprobada en planes para mejorar el estado sanitario a fin de reducir el exceso de mortalidad, morbilidad y discapacidad, especialmente en poblaciones pobres y marginadas. También declara que ésta es una de las direcciones estratégicas de la OMS para 2002–2005 dado que la medicina tradicional es una forma de atención sanitaria muy accesible y asequible en muchos países con ingresos bajos. De manera que los esfuerzos de los países deben estar dirigidos a asegurar que la salud del gran público llegue a un número mayor de usuarios (WHO, 1993, 1996 1998a, 1998b).

### 3.1.2-Problematika en el control de calidad de las drogas vegetales y Medicamentos Fitoterápicos.

Las plantas, pueden ser consideradas como un laboratorio biosintético no solo por los compuestos elaborados por su metabolismo primario como hidratos de carbono, proteínas y grasas, utilizados como alimento por el hombre y animales, sino también por una gran cantidad de otras sustancias químicas (producto de su metabolismo secundario), como alcaloides, terpenoides y polifenoles, que ejercen efectos fisiológicos. Estas últimas, son generalmente las responsables de las acciones y efectos farmacológicos que poseen las drogas vegetales por lo que se las conoce como constituyentes activos o principios activos

Una planta medicinal por lo tanto puede ser definida como toda especie vegetal en la que todo o una parte de la misma está dotada de actividad farmacológica. Se denomina droga vegetal a la parte/s del vegetal, que por contener el/los principios activos, se utilizan con fines terapéuticos y pueden constituirse en materia prima para la elaboración de medicamentos. Estos medicamentos, al igual que cualquier especialidad medicinal, deben cumplir con los requisitos de seguridad, eficacia y calidad para constituir una alternativa terapéutica.

Los medicamentos cuyos constituyentes activos son drogas vegetales o sus extractos tienen, por lo tanto, características especiales que los distinguen de los medicamentos cuyos principios activos son compuestos químicos puros de síntesis o naturales. Estas características diferenciales hacen que la demostración de eficacia, seguridad y calidad sean esencialmente diferentes que para las especialidades medicinales.

Mientras que los productos puros se definen por su estructura química y son identificados y valorados por análisis químico, los productos fitoterapéuticos tienen composición química variable y por consiguiente son definidos por su proceso de extracción. De manera tal que dos factores son de importancia fundamental en la industrialización de productos fitoterapéuticos: la calidad de la materia prima utilizada y la opción para seleccionar el solvente de extracción (Sharapin, 2000)

Además, se debe tener en cuenta que:

- ✗ Una única hierba puede contener muchos compuestos químicos (producto del metabolismo vegetal), lo que se complica aún más cuando se trata de mezclas de hierbas o mezclas de extractos.
- ✗ En muchos casos su/s principio/s activo/s pueden ser desconocidos. A pesar de que muchas de las drogas vegetales de mayor uso a nivel internacional tienen un estudio fitoquímico y farmacológico bastante completo, en la mayoría de los casos todavía se encuentra en discusión cuál o cuáles son los compuestos responsables de su actividad terapéutica. Podemos poner como ejemplo algunas de las drogas vegetales de amplio uso mundial y que figuran en la mayoría de la Farmacopeas internacionales reconocidas: valeriana, manzanilla, hipérico, pasiflora, melisa, tilo, etc. Hasta el momento varios de los grupos químicos presentes en estas drogas vegetales contribuyen con la actividad terapéutica.
- ✗ Generalmente varios compuestos o grupos de compuestos contribuyen en la eficacia terapéutica ya sea en forma sinérgica (muchas veces con diferentes mecanismos de acción), colaborando en su biodisponibilidad, disminuyendo efectos colaterales, etc.
- ✗ La calidad de la materia prima generalmente es problemática. Los productos del metabolismo, como en todo ser vivo, dependen de factores externos (condiciones edáficas y climáticas, condiciones de almacenamiento, época de recolección, técnicas de cultivo, ataque de insectos, luz) y de factores internos (órgano de la planta, edad de la planta, estado vegetativo, características genéticas, etc.). Por lo tanto

los compuestos presentes pueden variar cualitativa y cuantitativamente. Estos factores son de gran importancia y debido a ellos se presentan grandes diferencias entre los diferentes lotes de las plantas.

Para mantener constante la actividad de un medicamento elaborado con drogas vegetales, la proporción entre los componentes debe mantenerse dentro de límites bastante estrechos entre una preparación y otra. Esto es particularmente difícil especialmente en drogas vegetales que provienen de la recolección silvestre de plantas nativas dado que, al no poder controlar algunos parámetros edáficos, climáticos, edad del vegetal, etc. como en las plantas de cultivo, éstas presentan una gran variabilidad con relación al contenido de sus compuestos activos y secundarios.

A lo antes mencionado se debe sumar el hecho de que:

- ✍ La recolección silvestre de las drogas vegetales se encuentra en manos de personas no acreditadas para estos fines, con el consiguiente riesgo de confusión de especies.
- ✍ Los acopiadores no son controlados por las autoridades sanitarias de manera que el secado, almacenamiento y conservación se realizan en la mayoría de los casos en condiciones inapropiadas para salvaguardar la integridad y la contaminación por insectos, roedores, microbios, etc.

Por los motivos mencionados y por otros tales como la influencia de abonos y pesticidas utilizados, las condiciones de secado y conservación del material vegetal, hacen que los métodos de control de calidad no puedan ni deban ser los mismos que para los medicamentos de síntesis.

### 3.1.3 -Estado actual de la investigación y situación reglamentaria en países desarrollados.

En años recientes, muchos países desarrollados han mostrado interés creciente en los sistemas alternativos o complementarios de la medicina, con el consiguiente aumento del comercio internacional de medicamentos herbarios y otros tipos de medicamentos tradicionales. En consecuencia, tanto en países desarrollados como en aquellos en desarrollo existe un estímulo para evaluar y racionalizar las prácticas y para controlar la explotación comercial de medicamentos herbarios mediante la venta sin prescripción y otros rotulados como «naturales» (WHO, 1998b).

Muchos de los medicamentos herbarios comercializados en el mundo y en nuestro país contienen drogas vegetales internacionalmente conocidas como ginkgo, ginseng, serenoa, sen, pasiflora, valeriana, centella, etc.; cuya eficacia y seguridad se encuentran perfectamente documentadas.

La Unión Europea en sus Directivas 65/65/EEC y 75/318/EEC ha establecido normas para la aprobación de productos farmacéuticos como paso previo a su comercialización. Las drogas vegetales y los productos herbarios han sido considerados desde entonces medicamentos. Países como Alemania, Francia, Italia desde hace más de 40 años se han dedicado a la investigación de plantas medicinales y al desarrollo de métodos de control de calidad para drogas vegetales con gran tradición de uso en Europa. Las Farmacopeas Alemanas (DAB 1996) y Francesa (10ª edición) son las que contienen un mayor número de monografías dedicadas a drogas vegetales. El creciente interés por la Fitoterapia ha interesado otras farmacopeas, como la Italiana (9ª edición) que ha publicado un volumen monográfico sobre drogas vegetales. La Farmacopea Europea no sólo sigue incrementando cada año el número de monografías dedicadas a drogas vegetales y derivados (aceites esenciales, extractos, etc.) sino que en los últimos años ha publicado también normativas específicas referidas a los ensayos de contaminación.

Desde su creación en 1964, la Farmacopea Europea ha dedicado gran parte de su trabajo al desarrollo de monografías de drogas vegetales que se utilizan ya sea en su estado natural después de la desecación o en preparaciones farmacéuticas y fueron descritos en muchas farmacopeas nacionales. En Estados Unidos la promulgación de la DSHEA (Dietary Supplement Health and Education Act) en Noviembre de 1994 y los problemas que trajo aparejado la regulación de hierbas y productos botánicos como Suplementos dietarios, determinaron que desde marzo de 1995 la FDA (Food and Drug Administration) se encuentre desarrollando monografías sobre hierbas, las que actualmente se encuentran incluidas en el National Formulary y con miras a su inclusión en la USP (United State Pharmacopoeia). En la actualidad un sinnúmero de Organismos oficiales y privados en los países desarrollados han elaborado monografías de plantas medicinales entre los cuales se puede citar a la OMS, American Herbal Pharmacopoeia (EE:UU), British Herbal Pharmacopoeia (Reino Unido), ESCOP (Comunidad Económica Europea, Comisión E (Alemania). Sin embargo, aún en estos países con mayor inversión en la investigación de plantas medicinales, el control de calidad sigue siendo un permanente desafío y la dificultad para definir el o los compuestos responsables de la actividad hace que persistan preguntas sin respuestas.

Aunque las disposiciones legales que rigen la aplicación de las normas difieren de país en país, el objetivo final en todos los casos es el mismo: hacer que el producto ofrecido como medicamento, satisfaga un patrón de calidad enmarcado en las exigencias de la monografía, al ser sometido a un análisis utilizando los métodos preconizados por la farmacopea.

### 3.1.4 Estado de la investigación y situación legal en Argentina.

En la Argentina, donde más del 50% de la población se encuentra bajo los niveles de la línea de pobreza y no tiene acceso a medicamentos esenciales o su acceso se encuentra severamente restringido, la provisión de una medicina tradicional o alternativa segura y efectiva podría ser una herramienta crítica para incrementar el acceso al cuidado de la salud.

Cada vez más, las plantas medicinales y los medicamentos herbarios son utilizados en nuestro país no solo para la atención primaria de la salud sino en reemplazo de medicamentos convencionales, existiendo en la actualidad una demanda creciente. Sin embargo el uso de plantas medicinales o productos a base de ellas no estuvo adecuadamente regulado.

Muchas empresas, a partir exclusivamente del uso tradicional de las plantas como medicamentos, han colocado en el mercado varios fitomedicamentos sin tener la documentación necesaria que compruebe tanto la toxicidad de las plantas utilizadas como la acción de las mismas. Para que nuestros países den un salto cualitativo en el uso de fitomedicamentos es necesario que paralelamente a las investigaciones en plantas medicinales en el área fitoquímica y farmacológica, se determinen los parámetros para su control de calidad siendo su actividad y nivel de toxicidad bien establecidos de manera de que estos productos sean tratados como medicamentos iguales a aquellos cuyas materias primas son productos puros.

A diferencia de Europa en muchos países Latinoamericanos incluyendo Brasil y Argentina las plantas medicinales nativas no fueron investigadas en forma integral de manera de poder ser consideradas materias primas de medicamentos. Solo existen investigaciones parciales botánicas, químicas o farmacológicas. En la actual Farmacopea Nacional Argentina VI Ed. (1978) no existen monografías que garanticen la calidad adecuada del producto según los criterios de investigación científica modernos.

Son muchas las drogas vegetales a las cuales recurre la población que provienen de plantas medicinales nativas, cuyo uso tradicional es ampliamente reconocido pero cuentan con escasa información bibliográfica botánica y/o química que permita controlar su calidad. Esto determina que muchos laboratorios nacionales se vean imposibilitados de registrar medicamentos que contengan drogas vegetales autóctonas, generando un doble perjuicio: a la salud de la población que las consume y al desarrollo de nuevos medicamentos fitoterápicos con miras al consumo interno y a la exportación.

La OMS en su documento sobre «Situación reglamentaria. Una reseña Mundial» (WHO, 1998b) señala para la Argentina en Falta de controles de materias primas

«Antes de 1993, los siguientes eran problemas importantes:

- ✗ No había ningún control de la recolección de plantas medicinales en la naturaleza;
- ✗ No había ningún criterio científico para la recolección de estas plantas;
- ✗ No había ningún control de los métodos de secado, conservación o desintegración;
- ✗ Aunque las herboristerías eran controladas por la ley, la venta de las plantas medicinales por medio de otros canales de distribución se realizaba sin control alguno, lo cual quizá revista importancia crítica en los casos en que se venden plantas potencialmente tóxicas;
- ✗ Si bien se describen métodos farmacognósticos en la Farmacopea Nacional Argentina, no se indicaba ningún método para la determinación de los principios activos, por ejemplo el análisis cuantitativo;
- ✗ No había ninguna definición oficial de lo que es una planta medicinal y lo que no es, siendo usadas algunas plantas como alimentos aunque estaban incluidas en la farmacopea. En lo que se refiere a la Ley No. 16,463, no estaba claro cuáles requisitos tenían que cumplirse para solicitar el registro de un medicamento nuevo basado en plantas medicinales».

A partir de 1992 con el Decreto 150/92, donde se establecen definiciones precisas para las Especialidades Medicinales, los medicamentos a partir de plantas (debido a sus características particulares) en su gran mayoría no cumplían con los requisitos solicitados para poder demostrar eficacia, seguridad y calidad por lo que no pudieron ser registrados y por ende no eran adecuadamente controlados por las autoridades regulatorias. Recién en el año 1998 el Ministerio de Salud y Acción Social de la Nación dio a conocer la Resolución 144/98, que otorgó el marco legal necesario para la reglamentación de los Medicamentos Fitoterápicos. Esta resolución define al Medicamento Fitoterápico como:

*«Los medicamentos definidos de acuerdo con el Art. 1° inciso a) del Decreto 150/92 pero que no reúnen los requisitos para especialidades medicinales o farmacéuticas, establecidos en el inciso d) del Art. 1° de dicha norma y que contengan como principio activo drogas vegetales puras y/o mezclas definidas de éstas y/o preparados de drogas vegetales, tradicionalmente usadas con fines medicinales y que no contengan sustancias activas químicamente definidas o sus mezclas aún cuando fuesen constituyentes aislados de plantas, salvo en el caso que así se justifique».*

Esta definición fue basada en la propuesta por la OMS para medicamentos Herbarios.

La Resolución 144/98 fue reglamentada por la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) en las Disposiciones 2671, 2672 y 2673/99 teniendo en cuenta las recomendaciones de la OMS respecto del control de calidad y buenas prácticas de manufactura (BPM). Esto implica que como todo medicamento, los Medicamentos Fitoterápicos actualmente estén regulados y controlados

por el INAME. En la disposición 2673/99 del ANMAT se encuentran perfectamente definidos los requisitos necesarios para su registro y para certificar que cumplen con las tres condiciones esenciales de cualquier medicamento: eficacia, seguridad y calidad.

Si bien algunas de las deficiencias planteadas por la OMS en 1993 han sido superadas por la reglamentación vigente (Res. 144/98 y Disposiciones Reglamentarias), otras están siendo corregidas por la elaboración de la nueva Farmacopea Argentina (FA VII Ed.).

La nueva edición de Farmacopea Argentina será editada luego de casi veinte años de la última, sobre la base de una estructura dinámica que permite una revisión periódica a fin de evitar la obsolescencia de los métodos codificados. Esto da un salto importante al incorporar en sus monografías la utilización de técnicas cromatográficas para su identificación y métodos para la valoración de sus componentes activos. De manera que las monografías de drogas vegetales consten de:

- ✍ Definición de la droga vegetal: con nombre científico, parte usada, porcentaje de principios activos
- ✍ Identificación: ensayos macro y microscópicos, Reacciones de caracterización y cromatografía analítica (generalmente TLC) de sus extractos.
- ✍ Ensayos de Pureza: límites de materia orgánica e inorgánica extraña, porcentaje de humedad, límites de aflatoxina, metales pesados y radioactividad (en caso de ser necesario).
- ✍ Control microbiológico
- ✍ Valoración: cuantificación de sus componentes activos por diferentes métodos según la droga vegetal que se trate (Espectrofotométrico, CLAP o Cromatografía Gaseosa).

La puesta a punto de parámetros que permitan establecer inequívocamente su identidad constituye el primer desafío especialmente en drogas vegetales autóctonas. Por este motivo pocas o ninguna de las drogas vegetales nativas pueden ser incorporadas en la Farmacopea. Las plantas medicinales autóctonas han sido poco estudiadas desde el punto de vista de droga vegetal y hasta el momento no existen estudios tendientes a establecer parámetros analíticos, micrográficos y cromatográficos que sirvan como base para la elaboración de una monografía farmacopeica.

### 3.2-Antecedentes botánicos de las especies del género *Baccharis* conocidas como «carqueja».

El género *Baccharis* pertenece a la familia de las Asteraceae. Los miembros de esta familia se caracterizan por ser organismos avanzados en las siguientes características: número de partes definido, ovarios ínferos, pétalos unidos (fusionados), corolas irregulares, en ocasiones cuentan con flores incompletas y a veces flores imperfectas. El rasgo más característico de este grupo es la disposición de sus flores en cabezuelas, cada una de las cuales está rodeada por brácteas que tienen forma más o menos semejante a la de los sépalos. Para un observador aficionado, o para un insecto, la cabezuela puede parecer una sola flor.

Con frecuencia las flores son bisexuales, y los estambres o los pistilos pueden estar ausentes o bien en las flores del radio o en las del disco. En contadas ocasiones se encuentran los sexos en cabezuelas distintas o incluso en flores separadas. Algunos miembros de la familia se polinizan por medio del viento.

Esta familia es la más grande, o tal vez, la segunda más grande de todo el mundo y se encuentra distribuida en todo el planeta. Casi todos los miembros del grupo son especímenes herbáceos, e incluso unos cuantos son árboles.

Los distintos taxónomos dividen a esta familia en 12 o 15 subgrupos llamados tribus. Su clasificación se está revisando en la actualidad mediante trabajos referentes a bioquímica, análisis de polen, microbiología, anatomía y citología de estas plantas (Jensen, Salisbury, 1988).

Una de estas tribus o subgrupo se denomina *Astereae* Cass., a la cual pertenece la subtribu *Baccharinae* Less. Esta subtribu se caracteriza por plantas monoicas, dioicas o polígamo-dioicas. Son arbustos, sufrútices o hierbas perennes. Las hojas son alternas raramente opuestas y a veces bracteiformes y reducidas. Los capítulos son homógamos o heterógamos, discoides, disciformes o subradiados. El involucro puede ser hemisférico, acampanado o cilíndrico, pluri o pauciseriado. El receptáculo suele ser plano, convexo o cónico, liso o alveolado, desnudo o provisto de páleas en algunos capítulos pistilados. Las flores del margen son pistiladas con corola generalmente filiforme de ápice dentado, truncado o levemente ligulado, constituyendo capítulos propios en las plantas dioicas y gino-dioicas: estilo con ramas lineares largas. Las flores del disco son perfectas, pero en general funcionalmente estaminadas por atrofia del ovario con corola tubulosa de limbo ensanchado y ápice 5-lobado o 5-secto, conformando capítulos propios en las plantas dioicas y antro-dioicas; anteras con tecas obtusas en la base; estilo con ramas desarrolladas y separadas o bien breves y adheridas entre sí. Los aquenios de las flores pistiladas son bien desarrollados, glabros o con algún tipo de pubescencia, mientras que los aquenios de las flores estaminadas son rudimentarios. El papus 1-2 uniseriado formado por pelos escabrosos frecuentemente acrescentes en las flores pistiladas (Giuliano, 2000).

El género *Baccharis* pertenece a la subtribu Baccharinae Less. y viene del latín Bacchus=Baco, el dios romano del vino y las vendimias haciendo referencia al aroma a especias de las raíces. Las especias eran postres que en la antigüedad se consumían acompañados de vino. Es por ello, la vinculación con esta deidad pagana (Giuliano, 2000).

Algunas de las características taxonómicas de las hojas y de las inflorescencias son consideradas herramientas útiles para la sistemática. Varios autores las han utilizado con el fin de establecer una clasificación infragenérica para este género. De Candolle en 1836 fue el primer autor que estableció una clasificación a nivel infragenérico de *Baccharis* teniendo en cuenta la morfología de las hojas. De esta manera, subdividió al género en 8 secciones. Baker en 1882 empleó un criterio similar para clasificar a las especies brasileñas considerando cuatro secciones de De Candolle, a las que le agregó otras dos secciones. Más recientemente, Giuliano en 2001 agrupó a las 96 especies argentinas del género en 15 secciones. Entre otras, se puede mencionar a la sección Caulopterae DC. la cual fue caracterizada en 1967 por la presencia de alas longitudinales por el autor Cuatrecasas. Algunas especies de esta sección han sido previamente aceptadas como pertenecientes a la sección Alatae Less. (Ariza Espinar, 1973). Este género es el más rico en especies dentro de la tribu Astereae, estimándose su número entre 400 y 500 (Bremer, 1994; Malagarriga Heras, 1976; Nesom, 1990), de las cuales aproximadamente 120 habitan el territorio argentino (Cabrera, 1963; Giuliano, 2000). Su distribución geográfica es exclusivamente americana, desde el sur de los Estados Unidos de América hasta el extremo austral de Argentina y Chile (Giuliano, 2001).

El género *Baccharis* comprende plantas dioicas, excepcionalmente monoicas o polígamo-dioicas. Se caracteriza por ser arbustos, sufrútices o hierbas, a veces provistos de xilopodios o de raíces gemíferas. Las hojas son alternas (pocas veces opuestas o subopuestas), algunas veces tempranamente caducas o reducidas a brácteas inconspicuas. Los capítulos son solitarios o dispuestos en inflorescencias diversas, discoides (excepcionalmente disciformes) y homógamos (en casos excepcionales heterógamos). En las plantas pistiladas están constituidos por flores pistiladas (raramente puede haber algunas flores estaminadas centrales) y en las plantas estaminadas por flores morfológicamente perfectas pero funcionalmente estaminadas por atrofia del ovario (rara vez se presentan algunas flores pistiladas periféricas). El involucro hemisférico puede ser acampanado o cilíndrico, con filarios dispuestos en varias series, imbricados siendo los exteriores gradualmente menores. El receptáculo plano, convexo o cónico, puede ser liso o alveolado, desnudo o con páleas caducas en algunos capítulos pistilados. Con respecto a las flores pistiladas, su corola es filiforme de ápice dentado, truncado o brevemente ligulado; estilo exserto, con ramas lineares. Por el contrario, las flores estaminadas presentan una corola tubulosa de limbo ensanchado y ápice 5-lobado o 5-secto; anteras con tecas obtusas en la base; estilo con ramas largas, oblongas y separadas, o bien cortas y adheridas entre sí. Los aquenios de las flores pistiladas son cilíndricos, elipsoides u ovoides y en ocasiones comprimidos 5- (8) 10-costados; los aquenios de las flores estaminadas son rudimentarios. En lo referente al papus está formado por pelos delgados escabrosos, dispuestos en 1-2 (a veces más) series; en las flores pistiladas con frecuencia acrescentes, en las estaminadas por lo general crespos, ensanchados o no en el ápice (Giuliano, 2000).

### 3.2.1.-Nomenclatura

A pesar del gran número de publicaciones sobre *Baccharis* todavía existen controversias en cuanto a la nomenclatura y las sinonimias de sus especies, especialmente las pertenecientes a la sección Caulopterae DC.

*Baccharis crispa* Spreng. y *Baccharis trimera* (Less.) DC originalmente fueron consideradas como dos especies diferentes. *Baccharis crispa* fue descrita por primera vez por Sprengel en 1826 y fue considerada como *Molina crispa* cuando Lessing en 1831 transfirió todas las especies del género *Baccharis* al género *Molina*. En ese mismo año describe a *Molina trimera* como nueva especie, la que en 1836 vuelve a ser transferida al género *Baccharis* por De Candolle como muchas otras especies del mismo género. Baker en «Flora Brasiliensis» (1882) consideró que *B. crispa* y *B. trimera* junto a otras 4 especies eran variedades de una misma especie. Define así 6 variedades de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. sin caracterizar la especie tipo de la que parten estas variedades: *Baccharis genistelloides* var. *trimera* (Less.) Baker, *Baccharis genistelloides* var. *typica*, *Baccharis genistelloides* var. *brachystachys* Baker, *Baccharis genistelloides* Pers. var. *cylindrica* (Less.) Baker, *Baccharis genistelloides* Pers. var. *crispa* (Spreng.) Baker y *Baccharis genistelloides* var. *milleflora* Baker. De esta manera, tanto a *Baccharis crispa* como a *Baccharis trimera* se las conocía como variedades de la especie *Baccharis genistelloides*.

Posiblemente por esto se consideró el nombre de *Baccharis genistelloides* var. *trimera* bajo el nombre vulgar de «carqueja-amarga» en Farmacopea Brasileña I Ed. No obstante, la cuarta edición (Farmacopea Brasileña IV Ed., 2001) considera el nombre de *Baccharis trimera*.

Por otro lado, trabajos fitoquímicos y farmacológicos realizados a partir de ejemplares de «carqueja»

clasificados como *Baccharis genistelloides* recolectados en Bolivia (Abad et al., 1999; Suttisri et al., 1994), Brasil (Bauer et al., 1978; Soicke, Leng-Peschlow, 1987) y Chile (Daily et al., 1984) puedan posiblemente corresponder tanto a *Baccharis crispa* como *Baccharis trimera*.

Actualmente tanto a *Baccharis crispa* como a *Baccharis trimera* se las consideran como dos entidades diferentes con las siguientes sinonimias:

- ✎ ***Baccharis crispa* Sprengel:** *Baccharis cylíndrica* (Less.) DC.; *Baccharis genistelloides* Pers. var. *crispa* (Spreng.) Baker; *Baccharis genistelloides* Pers. var. *cylíndrica* (Less.) Baker; *Baccharis perplexa* I.L. Teodoro & J.E. Vidal; *Molina crispa* (Spreng.) Less.; *Molina cilíndrica* Less.; *Pingraea crispa* (Spreng.) F.H. Hellwig (Giuliano, 2001; Giuliano, 2000; Zuloaga F.O., 1999).
- ✎ ***Baccharis trimera* (Less.) DC:** *Molina trimera* Less.; *Baccharis genistelloides* var. *trimera* (Less.) Baker (Giuliano, 2000; Giuliano, 2001; Zuloaga F.O., 1999).

### 3.2.2-Descripción morfológica de las especies argentinas conocidas como «carqueja».

En la República Argentina el género *Baccharis* está representado por 96 especies (Giuliano, Ariza Espinar, 1999; Giuliano, 2000). Una de ellas es la droga vegetal «carqueja», la cual es de amplio uso en medicina popular en países sudamericanos como Perú, Bolivia, Argentina, Uruguay, Paraguay y Brasil. En Argentina se conocen como «carqueja» tres especies del género *Baccharis* L. (Asteraceae), con características generales muy parecidas: *Baccharis articulata* (Lam.) Persoon, *Baccharis crispa* Sprengel y *Baccharis trimera* (Less.) DC. Dos de ellas, *Baccharis articulata* (Lam.) Persoon y *Baccharis crispa* Sprengel, están incluidas en la Farmacopea Nacional Argentina desde 1966 (V Ed), bajo el nombre de «carqueja». Actualmente se encuentran codificadas como drogas oficiales en la Farmacopea Nacional Argentina VI Ed. (1978). La tercera, *Baccharis trimera* (Less.) DC, es la única «carqueja» que figura en la Farmacopea Brasileira IV Ed. (2001).

No existen problemas de identificación macroscópica entre las dos especies oficiales (*B. articulata* y *B. crispa*) dado que su diferenciación se encuentra en la cantidad de alas de sus tallos: *Baccharis articulata* (Less.) posee tallos con dos alas estrechas y largas de 0,5-3 mm de latitud, mientras que *Baccharis crispa* Sprengel presenta tallos con tres alas más anchas de hasta 1-12 mm de latitud (Giuliano, 2000).

En general, la anatomía del tallo es muy parecida pero poseen algunos rasgos distintivos en la estructura de las expansiones caulinares (Barboza et al., 2001). Las diferencias fundamentales entre los tallos de las dos especies oficiales se encuentran descriptas en la Tabla 3.1.

De esta manera, el tallo bialado o trialado es un carácter anatómico diagnóstico entre las dos especies oficiales conocidas como «carqueja»: *Baccharis articulata* y *Baccharis crispa*. Por el contrario, la diferenciación entre *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera* no es evidente, ya que ambas presentan tallos trialados y se describen sólo mínimas diferencias en sus características botánicas. Según Giuliano (2000) la diferenciación se basaría en que las alas de *Baccharis trimera* son siempre planas, el involucre de los capítulos pistilados es de 5-6 mm de alt. y el papus de las flores pistiladas es uniseriado. En cambio las alas de *Baccharis crispa* son frecuentemente crespas, el involucre de los capítulos pistilados es de 8-10 mm de alt. y el papus de las flores pistiladas es biseriado.

	<b><i>Baccharis crispa</i></b>	<b><i>Baccharis articulata</i></b>
<b>Eje</b>	Con tres alas	Con dos alas
<b>Nervaduras Intermedias</b>	Haces vasculares con fibras extrafloemáticas conspicuas	Haces vasculares sin fibras
<b>Nervaduras Marginales</b>	Haz fibroso muy conspicuo; sin colénquima ni clorénquima entre la epidermis y dicho haz; endodermis prácticamente aplastada por las fibras contra la epidermis. Conductos secretores ausentes.	Haz fibroso comparativamente menor que el paquete vascular; con clorénquima entre éste y la epidermis. Endodermis normal. Conductos secretores frecuentes.

Tabla 3.1. Diferencias entre los tallos de *Baccharis articulata* (Lam.) Persoon y *Baccharis crispa* Sprengel (Barboza et al., 2001).

Una de las claves sistemáticas para el reconocimiento de las tres especies de *Baccharis* conocidas como «carqueja» es la propuesta por Giuliano en «Flora Fanerogámica Argentina» (Giuliano, 2000).

### Grupo 1

1. Capítulos sésiles o brevísimamente pedunculados (pedúnculos de solo 1-2 mm de long. Excepcionalmente de hasta 6 mm).
2. Tallos provistos de alas longitudinales.

1 - Hojas normales grandes.

1'- Hojas reducidas a brácteas inconspicuas.

#### 2- Tallos con dos alas.

3-Alas estrechas y largas, de 0.5-3 mm de lat.

#### ***B. articulata***

3'-Alas anchas y cortas, de 2-10 mm de lat.

2'- Tallos con tres alas.

3-alas muy estrechas, de 0.3-0.5 mm de lat.

#### 3'-Alas más anchas, de 1-12 mm de lat.

4-Capítulos dispuestos en racimos de glomérulos.

4'-Capítulos dispuestos en espigas alargadas de glomérulos.

5-Alas de hasta 3 mm de lat. Involucro de los capítulos pistilados de 5-9 mm de alt.

5'-Alas generalmente mayores de 3 mm de lat. Involucro de los capítulos pistilados - de 5-9 mm de alt.

6- Alas siempre planas. Involucro de los capítulos pistilados de 5-6 mm de alt.

#### ***B. trimera***

6'- Alas frecuentemente crespas. Involucro de los capítulos pistilados de 8-10 mm de alt. Pappus de las flores pistiladas biseriado.

#### ***B. crispa***

A continuación se describen las características morfológicas encontradas para las especies conocidas como «carqueja»:

✂ ***Baccharis articulata* (Lam.) Persoon:** arbustos perenne dioico ramoso de 0,5-1,5 m de altura. Tallos provistos de dos alas longitudinales angostas de 0,5-3 mm de latitud. Hojas reducidas a brácteas inconspicuas. Capítulos sésiles, solitarios o dispuestos en glomérulos de 2-6 a su vez ordenados en un racimo simple o un racimo de espigas terminal. Capítulos pistilados con involucro acampanado de 4-5 x 4-5 mm; filarios en 3-4 series, obtusos, los exteriores ovados y los interiores oblongos. Flores numerosas de ápice desigualmente dentado. Capítulos estaminados con involucro acampanado de 3-4 x 4 mm; filarios semejantes a los pistilados. Flores numerosas; estilo con ramas separadas. N=9. (Giuliano, 2000; Hieronymus, 1882; Boelcke, 1989).

✂ ***Baccharis crispa* Sprengel:** sufrútices de 15-45 cm de altura glanduloso-pubérulos. Ramas provistas de tres alas frecuentemente crespas de 2-8 mm de latitud. Hojas reducidas a brácteas inconspicuas prontamente caducas. Capítulos sésiles en el ápice de las ramitas, solitarios o en glomérulos de 2-4, a su vez reunidos en espigas en el extremo de las ramas y de ramitas laterales. Capítulos pistilados con involucro largamente acampanado de 8-10 x 4-5 mm; filarios en 5-6 series, obtusos o subobtusos, los exteriores ovados, los intermedios angostamente ovados u oblongos y los interiores linear-oblongos. Flores numerosas de ápice irregularmente denticulado o brevemente ligulado; corola filiforme de 4-4,3 mm long y ápice cortísimamente ligulado. Aquenios glabros, 10-costados, de 1,5-2 mm long. Capítulos estaminados con involucro acampanado de 5-6 x 4-5 mm; filarios en 4-5 series semejantes a los pistilados. Flores numerosas; estilo con ramas largas y adheridas entre sí, pappus blanco o amarillento, cespito, con cerdas de ápice no engrosado (Barboza et al., 2001; Giuliano, 2000).

✂ ***Baccharis trimera* (Less.) DC.:** sufrútices de 30-50 cm. De altura, glanduloso-pubérulos. Tallos provistos de tres alas longitudinales de 2-10 mm de latitud. Hojas bracteiformes inconspicuas. Capítulos sésiles, solitarios o en glomérulos de 2-4, a su vez reunidos en espigas en el extremo de las ramas y de ramitas laterales. Capítulos pistilados con involucro cilíndrico de 5-6 x 2-3 mm; filarios en 3-4 series, agudos o subagudos, los exteriores ovados y los interiores oblongos a linear-oblongos. Flores numerosas, de ápice brevemente ligulado. Aquenios glabros, 10-costados. Capítulos estaminados con involucro acampanado de 4-5 x 4-6 mm; filarios en 3-4 series, obtusos o subobtusos, los exteriores ovados y los interiores oblongos u ovado-oblongos. Flores numerosas; estilo con ramas separadas (Giuliano, 2000).

### 3.2.3 Análisis micrográfico cuantitativo

Considerando el uso de las «carquejas» en la medicina popular de la Región de Cuyo se realizó un trabajo en la provincia de San Luis abordando la medición de los parámetros micrográficos de las tres especies conocidas como «carqueja». En este estudio se encontraron diferencias en los parámetros micrográficos en las tres especies (ver Tabla 3.2). El número de estomas en *Baccharis crispa* varía entre 5-8 y en *Baccharis trimera* entre 4-6. Ambas se diferencian de *Baccharis articulata* en que ésta presenta un número estable de generalmente 3/mm<sup>3</sup>. Por su parte, el número de estomas está en relación directa con el tamaño de las células estomáticas. Es así como en *Baccharis articulata* miden 65 μm, mientras que en *Baccharis crispa* varía entre 35-38 μm y en *Baccharis trimera* entre 37-45 μm. Como el número permanece invariable en ambas caras no se hizo alusión a diferencias entre ambas epidermis.

Con respecto al número de islotes, *Baccharis trimera* es la especie que presenta menor cantidad (0,25 +/- 0,15), al igual que en los terminales de nerviación (0,95 +/- 0,40). *Baccharis articulata* presenta un valor intermedio de 1,30 +/- 0,25 islotes / mm<sup>2</sup> y de 2,80 +/- 0,40 terminales / mm<sup>2</sup>. Por último, *Baccharis crispa* es la que presenta mayor valor: 1,65 +/- 0,30 islotes y 3,60 +/- 0,30 terminales (Gianello et al, 2000).

Parámetros Micrográficos	<i>Baccharis crispa</i>	<i>Baccharis trimera</i>	<i>Baccharis articulata</i>
Nº de estomas /mm <sup>2</sup>	6,50 +/-1,50	4,90 +/-1,10	3,10 +/- 0,30
Índice de estomas	10,70-14,30	8,00-11,00	4,20-5,40
Nº de islotes/mm <sup>2</sup>	1,65 +/- 0,30	0,25 +/- 0,15	1,30 +/- 0,25
Nº de terminales de nerviación/mm <sup>2</sup>	3,60 +/- 0,30	0,95 +/- 0,40	2,80 +/- 0,40

Tabla 3.2. Parámetros micrográficos cuantitativos de las especies de *Baccharis* expendidas como «carquejas» en la Región de Cuyo. (Gianello et al., 2000).

### 3.3-Antecedentes Etnofarmacológicos y usos tradicionales de «carqueja»

Dentro de las especies medicinales autóctonas la «carqueja» es una de las plantas medicinales de mayor tradición de uso no solo en nuestro país sino también en todos los países de donde es oriunda: Bolivia, sur de Brasil, Chile, Paraguay, Uruguay y Perú. Se la conoce también como «carquejilla», «carqueja amarga», «carqueja cenicienta», «carqueja gris», «carqueja crespá», «cola de yacaré» y «planta del yaguaraté». Estos dos últimos nombres vienen de la traducción del guaraní donde era conocida por los indios guaraníes como yacaré tuguái y yagaraté-caá. En Brasil se la conoce como carquija, carqueijinho, carqueija doce y carqueija amarga.

Los primeros registros de uso se encuentran descritos por Hieronymus en 1882 y Parodi en 1886, como antirreumáticas y antisépticas para úlceras y heridas. Parodi, en 1881 y 1886 y Paccard en 1905, también señalan su uso en infusiones o decocciones por sus propiedades tónicas, antidispépsicas, digestivas y colagogas, para el tratamiento de enfermedades hepáticas, como febrífugas, antidiarreico y antiespasmódicas, tanto en Argentina como en Uruguay y Paraguay. Más recientemente Gonzalez (1937) y Sorarú y Bandoni (1978) describen estas mismas propiedades en sus libros sobre la medicina tradicional de Uruguay y Argentina, respectivamente.

En Brasil, Martius en 1843 cita el uso de la carqueja como amargo y aromático. Moreira en 1862 como tónico y antifebril. Pío Correa en 1909 y 1931 describe su utilización, en forma de infusión, como tónico y febrífugo y para el tratamiento de la esterilidad femenina y la impotencia sexual masculina. Por otra parte señala que es utilizada como tónica amarga y le adjudica eficacia en el tratamiento de enfermedades como gastroenteritis y enfermedades del hígado (Pío Correa, 1931). Ha sido usada en la medicina tradicional brasileña para el tratamiento de enfermedades hepáticas, para fortalecer el estómago y las funciones intestinales y como depurador de obstrucciones en el hígado (Costa, 1978; Pavanm, 1952).

La «carqueja» ha sido tradicionalmente usada para el tratamiento de desordenes estomacales, diabetes, reumatismos y como antiséptica (Camargo, 1985; Martínez Corvetto, 1964 y 1981). También ha sido utilizada como diurética (Camargo, 1985), hepatoprotectora (Toursarkissian, 1980), antiinflamatoria, en casos de hipertensión, hemorragias cerebrales y en obesidad (Di Stasi et al., 2002).

A continuación se mencionan las referencias de usos tradicionales encontradas para las especies conocidas como «carqueja».

✎ ***Baccharis articulata*** (Lam.) Persoon.

A esta especie se le atribuyen propiedades digestivas, colagogas, diuréticas y protectoras del hígado en infusión o decocción (Giuliano, 2000; Martínez Crovetto, 1981; Toursarkissian, 1980; Saggese, 1959, Ratera, Ratera, 1980). En el Brasil se le adjudican propiedades estomacales y se utiliza la infusión contra indigestiones. Los campesinos de Argentina la usan para la impotencia masculina y la esterilidad femenina (Bandoni et al., 1972; Saggese, 1959). De esta manera, para hacer concebir a las cabras, las obligan a tragar el agua de la planta hervida. Además la usan estos baños de agua hervida para enfermedades de la piel, la lepra y el reumatismo (Bandoni et al., 1972; Hieronymus, 1882) y para el tratamiento de la gota (Saggese, 1959). Se sirve también el polvo de la planta seca como secante para llagas sifilíticas (Hieronymus, 1882). Por otra parte es también utilizada en uso externo como antiséptica y secante de úlceras (Bandoni et al., 1972; Hieronymus, 1882; Martínez Crovetto, 1981; Toursarkissian, 1980). Además se le han atribuido propiedades tónicas (Bandoni et al., 1972; Dai et al., 1993), antihelmínticas, febrífugas, estimulantes gástricas (Dai et al., 1993) y afrodisíacas (Saggese, 1959). En forma de decocción se la suele usar como antidiarreica y para el tratamiento de infecciones respiratorias y urinarias (Perez, Anesini, 1994).

✎ ***Baccharis crispa*** Sprengel.

Se utiliza en uso interno, la infusión o decocción de la planta entera, como digestiva, diurética, colagoga y como protector hepático (Bandoni et al., 1972; Giuliano, 2000; Martínez Crovetto, 1981; Toursarkissian, 1980; Giberti, 1983). La infusión de las hojas y de las ramas posee propiedades tónicas, estimulantes de las funciones gástricas y se usa para el tratamiento de la impotencia masculina y la esterilidad femenina (Saggese, 1959). También se la utiliza en forma externa como antiséptica y secante de úlceras (Martínez Crovetto, 1981; Toursarkissian, 1980). Además se le han atribuido propiedades antihelmínticas, afrodisíacas, febrífugas, tónicas y estimulantes gástricas (Dai et al., 1993).

✎ ***Baccharis trimera*** (Less.) DC.

Esta especie es utilizada principalmente como digestivo, colagogo y protector hepático (Giberti, 1983; Giuliano, 2000; González et al., 1993; Simoes et al., 1999). Tradicionalmente se administran las hojas en infusión y se emplea como analgésica, diurética y para dolencias renales, estomacales (Toursarkissian, 1980; Di Stasi et al., 2002; Giberti, 1983; Hilgert, 2001; Hirschmann, Rojas de Arias, 1990), e intestinales (Di Stasi et al., 2002; Hilgert, 2001; Nakasugi, y Komai, 1998; Soicke, Leng-Peschlow, 1987) y para el tratamiento del reumatismo (Nakasugi, Komai, 1998; Gene, et al., 1996). También en casos de hipertensión y diabetes (Di Stasi et al., 2002; Gene et al., 1996; Stehmann, Brandao, 1995; Zani et al., 1995), resfrío y tos (Hilgert, 2001). Además se la usa para promover la fertilidad femenina y para el tratamiento de la impotencia masculina (Arenas, Moreno Azorero, 1977; Simoes et al., 1999) corroborando los dichos de Pío Correa en 1931.

Otros usos tradicionales son: antihelmíntico (Gonzalez et al., 1993; Hirschmann, Rojas de Arias, 1990; Zani et al., 1995), antiinflamatorio (Gene et al., 1992; Hirschmann, Rojas de Arias, 1990; Pedrazzi et al., 1997); tratamiento de la lepra y antifebril (Zani et al., 1995); analgésico (Di Stasi et al., 1988); antiviral (Vlietinck, 1987). En Paraguay la población rural la utiliza como regulador de la fertilidad (Hnatyszyn et al., 1974), abortivo y emmenagogo (Moreno Azorero, 1975). En Bolivia se utiliza para matar insectos incrustados en la piel (Bastien, 1983).

Debido a la controversia existente en su taxonomía, existen numerosas publicaciones que mencionan a «carqueja» bajo el nombre de *Baccharis genistelloides*. Como se menciona en el ítem 3.2.1 *Baccharis crispa* Sprengel y *Baccharis trimera* (Less.) fueron consideradas variedades de *B. genistelloides*. Por este motivo es importante describir también, los usos tradicionales encontrados para esta especie.

En la medicina tradicional Peruana *Baccharis genistelloides* es usada para el tratamiento de dolencias hepáticas y de cálculos biliares, diabetes, alergias, para el tratamiento de la gota y de enfermedades venéreas (Herboper, 1997). También se administra la infusión de sus partes aéreas como emenagogo (Hoet, 1980). Además, el extracto acuoso es utilizado para el tratamiento de la malaria, para enfermedades hepáticas, para dolores reumáticos y para dolencias uterinas (Ramírez et al., 1988). En el caso de las dolencias estomacales en Perú se utiliza la decocción de las hojas y los tallos (Yelasco-Negueruela et al., 1995). En Colombia se usa la planta entera como emenagogo y hemostático (Hirschhorn, 1981). En Brasil se administra la decocción de la hoja como antifebril (Brandao, et al., 1985) y el extracto acuoso para el tratamiento de la malaria (Wasick et al., 1942) y para el de diabetes (Felcman, Braganca, 1988). En el Paraguay la población rural lo utiliza como promotor de la fertilidad femenina (Moreno Azorero, 1975), mientras que en Bolivia se le atribuye a la infusión de las hojas, en altas dosis, propiedades abortivas (Muñoz et al., 2000).

### 3.4- Antecedentes fitoquímicos de las especies conocidas como «carquejas».

De la amplia revisión bibliográfica realizada se resumen las referencias encontradas en revistas científicas nacionales e internacionales sobre la composición química de las especies de *Baccharis* conocidas como «carqueja».

Los compuestos fueron agrupados según el órgano de la planta en que se encuentran para definir con mayor precisión la composición de la droga vegetal

#### ☞ *Baccharis articulata* (Lam.) Persoon.

-Planta entera: 7-4'-dimetilapigenina, acacetina, genkwanina, cirsimaritina, salvigenina (Gianello, Giordano, 1984; Tonn et al., 1987);

-Partes aéreas: diterpenos: articulina 0,0064 % (Stapel, Menssen 1977); acetato de articulina 0,0357 % (Stapel et al., 1980); a-bisabolol 2,0 g-cadineno 2,6%, a-cadinol 8,3 %, a-calaconeno 1,1%, trans-calameneno, b-cariofileno 16,8%, a-cubebeno 0,1%, b-cubebeno 0,1%, cubenol 3,8%, b-elemeno 0,4%, b-cis-farneseno 1,0%, germacreno D 9,3%, a-gurjuneno 1,5%, a-humuleno 0,6%, limoneno, linalol, a-muroleno, g-muroleno 3,7 %, murolol 0,4%, trans-nerolidol 15,6%, b-pineno, terpineol, terpinoleno 0,1%, valenceno (Zunino et al., 1998); %, d-cadineno 1,1 %, a-pineno, aromadendreno (Tonn et al., 1987; Zunino et al., 1998); a-cariofileno, b-guaieno, g-elemeno, (Tonn, et al., 1987); flavonoides luteolina, flavonoide quercetina (Stapel, Menssen, 1977); salvigenina (Gianello, Giordano, 1984).

-Flores: diterpenos: baccotricuneatina A, barticulidiol (Gianello, Giordano, 1982; Tonn et al., 1987).

#### ☞ *Baccharis crispa* Sprengel.

-Planta entera: flavonoide 7-4'-dimetilapigenina (Gianello, Giordano, 1984); diterpenos: ácido hautriwaiico, 1-desoxi-bacrispina (Tonn et al., 1979; Tonn, Giordano, 1980); trans-nerolidol 27 %, germacrene-D 18,7 %, b-caryophylleno 10,0 % (Zunino et al., 1997).

-Partes aéreas: flavonoides: apigenina 0,15 % (Palacios et al., 1983), 3'-4'-7-tri-O-metiluteolina (Bandoni et al., 1978) genkwanina 0,25 % (Gianello, Giordano, 1984; Palacios et al., 1983); diterpenos: sustancia B (Bandoni et al., 1978), bacrispina (Tonn et al., 1979; Ceñal et al., 1997); neo: 15-16-epoxy-7-a-hidroxi:cleroda-3-13-diene-16-15:18-19-diol 0,00066 %, neo:1-a-7-a—15-trihidroxi-cleroda-3-13-diene-16-15:18-19-diol diterpeno 0,005% (Ceñal et al., 1997); a-pineno, a-cariofileno, a-elemeno, g-elemeno, b-cariofileno, b-cubebeno (Tonn et al., 1979).

#### ☞ *Baccharis trimera* (Less.).

-Planta entera: diterpenos: ácido hawtriwaiico, 1-desoxibacrispina y bacrispina, 7-4'-di-O-metilapigenina, a-pineno (1%), b-cariofileno (35,5%), a-cariofileno (3,9%), b-cubebeno (21,7%), a-elemeno (12,0%), g-elemeno (22,8%) (Gianello et al., 2000); carquejol (Bohlmann, Zdero, 1961; Ferretti-Alloise et al., 1970; Naves, 1959; Naves, 1959a); acetato de carquejilo (Farmacopea Brasileña IV Ed., 2001); germacreno-D (Nakasugi, Komai, 1998).

-Partes aéreas: Flavonoides: apigenina 0,07143 % (Di Stasi et al., 1988; Soicke, Leng-Peschlow, 1987) cirsimaritina (0,0053 %), genkwanina (0,00011 %) (Nakasugi, Komai, 1998) eupatorina, escoparol (De Mello y Petrovick, 2000); luteolina 0,14286 %, nepetina (Soicke, Leng-Peschlow, 1987); quercetina 0,05714 % (Daily et al., 1984; Soicke, Leng-Peschlow, 1987); hispidulina 0,07143 % (Daily et al., 1984; Nakasugi, Komai, 1998; Soicke, Leng-Peschlow, 1987) y rutina (Gene et al., 1996); dilactona A 0,00064 %, dilactona B 0,0075 %, dilactona C 0,0102 % (Herz et al., 1977).

### 3.5- Actividad farmacológica y toxicológica de las especies conocidas como «carquejas».

Las tres especies de *Baccharis* conocidas como «carqueja» han sido estudiadas desde el punto de vista farmacológico por varios autores. Varios de estos trabajos comprueban las actividades hepatoprotectoras, digestivas, antiinflamatorias y antimicrobianas, entre otras, descritas en la bibliografía etnofarmacológica.

Sin embargo existen pocas referencias sobre ensayos de toxicidad y/o efectos adversos de estas especies. Los ensayos realizados demuestran ausencia de toxicidad aguda.

A continuación se mencionan las actividades farmacológicas comprobadas mediante ensayos in-vitro y en animales y se mencionan los resultados de los ensayos toxicológicos para cada especie:

#### ☞ *Baccharis articulata* (Lam.) Persoon.

-Acciones Farmacológicas: débil actividad antioxidante (Desmachelier et al., 1997); fuerte actividad antioxidante de la fracción butanólica obtenida a partir del extracto acuoso de la droga vegetal (De Olivera et al., 2003); actividad antiviral del extracto etanólico 80% contra el virus del herpes (Zanon et al., 1999); actividad antiinflamatoria (Gene et al., 1992).

-Efectos adversos y/o tóxicos: no se han encontrado efectos tóxicos (Rocha, Silva, 1943). La administración oral de 3 g/kg de la infusión liofilizada en ratones no provocó signos de toxicidad, muertes ni alteraciones macroscópicas en órganos. No se produjeron cambios de comportamiento ni modificaciones de conductas en los perfiles observados (Gorzalczany et al., 1999).

✎ *Baccharis crispa* Sprengel.

-Acciones Farmacológicas.

-Extracto acuoso: actividad antiinflamatoria-dosis 100.0 mg/Kg (Gene et al., 1992); débil actividad antioxidante (Desmachelier et al., 1997).

-Extracto etanólico 95 %: actividad antibacteriana contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sobrinus* y *Micrococcus luteus*; esta actividad fue atribuida a la presencia del flavonoide genkwani-na (Palacios et al., 1983).

-Extracto EtOH: H<sub>2</sub>O (1:1): actividad antiviral contra el virus de la estomatitis vesicular (*Vesicular stomatitis*) (Wachsman et al., 1988).

-Efectos adversos y/o tóxicos: no se observaron efectos tóxicos ni adversos en humanos luego de varios días de administrar infusiones de esta planta (Alonso A., 1998).

✎ *Baccharis trimera* (Less.).

-Acciones Farmacológicas:

-Extracto acuoso: la fracción butanólica del extracto acuoso mostró actividad antiinflamatoria y analgésica, cuando se administró en ratas por vía intraperitoneal atribuyendo dicha actividad a las saponinas presentes en el extracto. No mostró actividad antiinflamatoria cuando se administró por vía gástrica (Gene et al., 1992 y 1996).

Un ensayo realizado en ratones demostró que el extracto acuoso actúa inhibiendo la secreción gástrica y como preventivo de las úlceras gástricas producidas por stress o por etanol (Gamberini, Lapa, 1992; Lapa et al., 1992); actividad diurética conferida por los flavonoides pudiendo generar hipotensión arterial (Gamberini, Lapa, 1992).

El extracto acuoso demostró actividad antiviral contra el virus del HIV (Abdel-Malek et al., 1996).

-Extracto etanólico (95%): el ensayo de mortandad de *Artemia salina* para predecir actividad tripanomicida dio resultados negativos (Zani, 1995). Similares resultados se encontraron en el ensayo de actividad antimalárica contra *Plasmodium berghei*, realizado por administración intragástrica del extracto en ratas (Brandao, 1985). La administración de un extracto etanólico al 50% por vía gástrica en ratones mostró actividad analgésica a una dosis de 1 g/kg.

-Extracto EtOH: H<sub>2</sub>O (1:1): la administración del extracto en ratones

-Extracto de acetato de etilo: obtenido de las partes aéreas demostraron actividad hepatoprotectora en ratones, atribuyendo esa actividad a la fracción rica en flavonoides (Soicke, Peschlow, 1987);

-Extracto metanólico: actividad antimutagénica (Nakasugi, Komai, 1988). Un extracto metanólico al 75% fue ensayado en su actividad antiviral en adenovirus, poliovirus II y virus de estomatitis resultando ser inactivo, al igual que el ensayo de citotoxicidad con una CIM de 1,000 ig/ml. (Simoies et al., 1999).

-Extracto clorofórmico: el extracto clorofórmico mostró una actividad relajante de los vasos de la musculatura en ratones (Brandao Torres et al., 2000).

-Efectos adversos y/o tóxicos: ensayos en roedores no revelaron efectos tóxicos (Gamberini et al., 1992; Lapa et al., 1992); Investigadores de la Universidad de San Pablo (Brasil) llevaron a cabo un estudio doble ciego de toxicidad oral (agudo y crónico) en ratas, administrando infusiones en base a 2 gramos de planta en 40 ml. Los resultados observados al finalizar las pruebas no mostraron señales de toxicidad ni cambios en los perfiles hematológicos de los animales estudiados (Pedrazzi et al., 1997).

### 3.6 -Productos medicinales y alimenticios, actualmente comercializados en Argentina, que contienen «carqueja».

Las partes aéreas de «carqueja» se encuentran incluídas en tisanas digestivas y hepatoprotectoras y sus extractos hidroalcohólicos se incluyen en especialidades medicinales o medicamentos herbarios colágo-coleréticos, digestivos y hepatoprotectores. Las partes aéreas de carqueja se utilizan también en la preparación de bebidas comerciales de gran consumo y en reemplazo del lúpulo por sus propiedades amargas.

Desde hace más de 50 años se comercializan en Argentina y Brasil una gran cantidad de productos farmacéuticos conteniendo «carqueja» como materia prima ya sea en forma simple o combinada con otras drogas vegetales. Actualmente se puede encontrar estos productos no solo en los países de donde es originaria sino comercializados en Estados Unidos y Europa.

La importancia de esta droga vegetal en el mercado farmacéutico se encuentra reflejada en la gran cantidad de productos farmacéuticos que se comercializan actualmente en el país. A modo de ejemplo a continuación se citan algunos de ellos.

☞ **Productos que contienen «carqueja», droga vegetal entera o rota**

-CACHAMAI COLAGOGA (Laboratorio Cachamai S.A.C.I.F.I.)

-**Composición: cada 100 g contiene *Boldea boldus* 20 g; *Baccharis articulata* 20 g; *Cynara scolymus* 15 g; *Xanthium spinosum* 15 g; *Argemone mexicana* 10 g; *Lippia integrifolia* 10 g; *Mentha piperita* 10 g.**

-Acción Terapéutica: colagoga.

-Presentación: bolsas conteniendo 100 g. Estuches conteniendo 20 saquitos ensobrados de 2 g cada uno.

-CACHAMAI DIURETICA (Laboratorio Cachamai S.A.C.I.F.I.)

-Composición: cada 100 g. contiene *Equisetum giganteum* 35 %; *Xanthium spinosum* 35 %; *Baccharis articulata* y/o *Baccharis crispa* 20 %; *Mentha piperita* 10 %.

-Acción terapéutica: diurética.

-Presentación: bolsas conteniendo 100 g. Estuches conteniendo 20 saquitos ensobrados de 2 g. cada uno.

-SABELIN (Laboratorio Argenfarma)

-Composición: boldo, alcaucil, **carqueja**, manzanilla, melisa y peperina.

-Acción terapéutica: bebida dietética sin alcohol con extractos vegetales edulcorada con sacarina con propiedades colagogas y coleréticas.

-Presentación: envase conteniendo 200 ml.

-CARQUEJA (Laboratorio Biokosma)

-Acción terapéutica: depurativo del hígado, estómago y riñones.

-Presentación: envase conteniendo 45 ml.

☞ **Productos que contienen diferentes extractos de «carqueja».**

-CARQUEJA LEPOUP (Laboratorio Hexa)

-Composición: cada 100 ml contiene **extracto fluido de carqueja 28 ml**; extracto fluido de boldo 28 ml; extracto fluido de *Cynara scolymus* 28 ml; extracto de *Billis de Buey* 5 g; Metilbromuro de homatropina 0.2 g.

-Acción terapéutica: colagogo, colerético y digestivo.

-Presentación: envase conteniendo 60 ml de gotas.

-CARQUEJA TROP (Laboratorio Byk)

-Composición: extracto fluido de *Baccharis articulata* obtenido de 36 g. de polvo en solución hidroglicero-alcohólica.

-Indicaciones: trastornos hepáticos y vesiculares. Dispepsias y alteraciones digestivas en general.

-Presentación: gotas por 40 y 120 ml.

-HEPATODIRECTOL (Laboratorio Sanitas)

-Composición: cada 100 ml contiene clorhidrato de papaverina 1.2 g; metilbromuro de homatropina 1.15 mg; extracto fluido de boldo 20 ml; **extracto fluido de Carqueja 21 ml**; extracto fluido de *Cynara scolymus* 21.5 ml; extracto fluido de *Crataegus* 2ml; tintura de Belladona 5 ml; vehículo c.s.p. 100 ml.

-Acción terapéutica: protector hepático.

-Presentación: envase conteniendo 30 ml.

-RADICURA-RADICURA (Laboratorio Walker S.R.L.)

-Composición: extracto de boldo 13 mg; **extracto de carqueja 9 mg**; extracto de canchalagua 10 mg; excipientes c.s.p. 200 mg. Cada 100 ml. de gotas contiene extracto de boldo 1.3 mg; **extracto de carqueja 0.9 mg**; extracto de canchalagua 1 mg; excipientes c.s.p. 100 ml.

-Acción terapéutica: digestivo, colagogo y colerético.

-Presentación: cajas por 40 comprimidos y frascos goteros de 45 y 120 ml.

-DIGENAT (Laboratorio Natufarma)

-Composición: extracto fluido de boldo 15 ml, **extracto fluido de carqueja 52.5 ml**, extracto fluido de alcachofa 15 ml, mentol.

-Acción terapéutica: digestivo hepatoprotector natural.

-Presentación: envases conteniendo 70 y 150 ml.

-HERBACCION DIG FRESH (Laboratorio ISA)

-Composición: cada 5 gramos de polvo contiene vitamina C 6 mg; extracto de alcachofa 100 mg; **extracto de carqueja 100 mg**; extracto de boldo 100 mg.

-Acción terapéutica: colagogo, hepatoprotector, efervescente y refrescante con sabor menta y limón.

-Presentación: envases conteniendo 20 sobres de 5g.

-BOLDINA (Laboratorio Pharma del Plata)

-Composición: cada comprimido contiene extracto seco de boldo 100 mg; **extracto seco de carqueja 100 mg**; extracto seco de alcachofa 50 mg.

-Acción terapéutica: suplemento dietario.

-Presentación: 20 comprimidos.

#### ☞ **Productos que contienen tintura de «carqueja».**

-HEPATOPROTECTOR (Laboratorio La Serranita S.A.)

-Composición: **tintura de carqueja 18 ml**; tintura de boldo 15 ml; tintura de cepa de caballo 15 ml.

-Acción terapéutica: colagogo, colerético y diurético.

-Presentación: gotas.

-CYM COLAGOGO HEPATICO (Laboratorio Heredia)

-Composición: cada 100 ml contiene tintura de boldo 80 ml; **tintura de carqueja 20 ml**; esencia natural de menta.

-Acción terapéutica: estimulante de la secreción biliar.

-Presentación: envases conteniendo 60 y 150 ml.

### **3.7- Antecedentes sobre la calidad de los productos que medicinales que contienen carqueja.**

Un estudio macroscópico realizado en 1995 por la Universidad Nacional de Córdoba (Argentina) sobre muestras de carqueja listas para expendio determinó que el 90% de las muestras analizadas no se ajustaban a los requerimientos mínimos requeridos por la Farmacopea Nacional Argentina (Alonso A., 1998). En un trabajo realizado en la Región de Cuyo de nuestro país se determinó, a partir de encuestas semiestructuradas e información obtenida de la población, que las tres especies son usadas simplemente como "carqueja" sin reconocimiento de la especie utilizada. Por otra parte, los ejemplares expendidos en la vía pública constan de raíces a pesar de que la droga vegetal está constituida por las partes aéreas, contribuyendo al deterioro de la calidad de la droga (Gianello et al., 2000).

El mercado farmacéutico brasileño incluye varios productos que contienen la droga vegetal o sus extractos (González-Ortega et al., 1989), pero no existen datos publicados acerca de la producción o sobre otros aspectos como el control de calidad. Las únicas referencias encontradas son las realizadas en la Universidad Federal de Rio Grande do Sul por Pallazo de Mello y Petrovick (Pallazo de Mello, 1989; Pallazo de Mello, Petrovick, 2000) quienes desarrollaron algunas técnicas de control de calidad para los extractos hidroalcohólicos de las partes aéreas de *Baccharis trimera*. En estos trabajos se evalúan también los efectos de distintos factores de producción en las características de los extractos. Sin embargo no aportan datos respecto de ensayos macro y microscópicos ni cromatográficos para la identificación de las especies como un primer paso en el control de calidad.

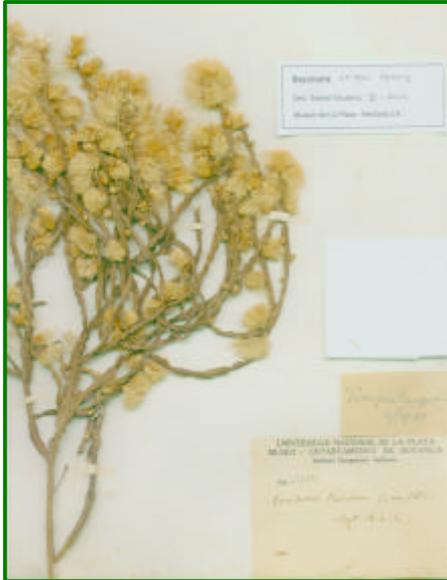
## 4. Materiales y métodos

### 4.1-Material vegetal.

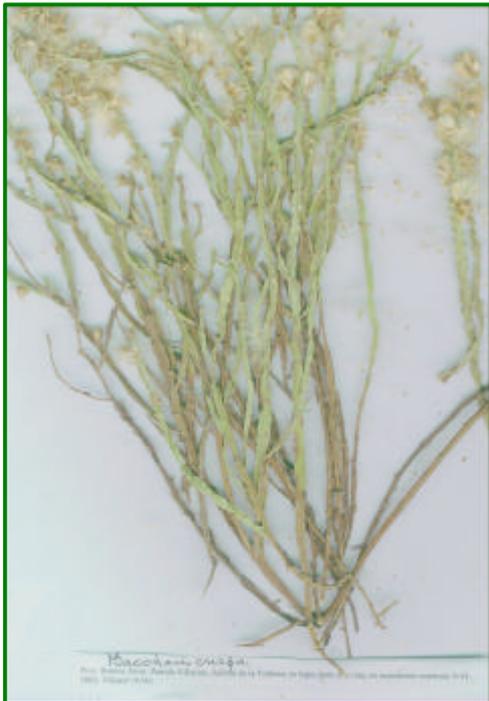
#### 4.1.1-Material de herbario

Las muestras de herbario se encuentran depositadas en el Herbario del Museo de La Plata (LP) y en el Herbario y Museo de Botánica y Farmacognosia «Carlos Spegazzini» (LPE), La Plata Argentina.

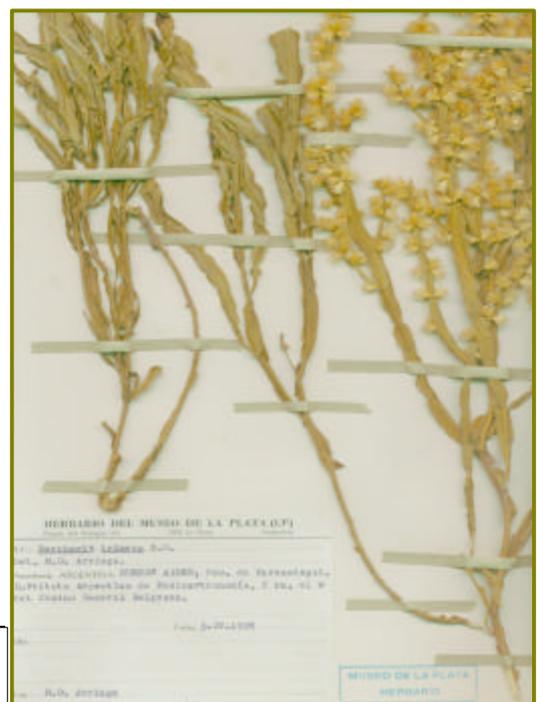
*Baccharis crispera* Spreng. N° LP-285, LP-11494, LP-11474, LPE-1004; *Baccharis trimera* (Less.) DC. N° LP-45, LPE-32.



***Baccharis crispera* Spreng re-clasificado por D. Giuliano, originalmente clasificado como *B. trimera* por C. Spegazzini LP-285**



***Baccharis crispera* Spreng clasificado por A. Espinar LPE-1004**



***Baccharis trimera* (Less) DC clasificado por N. Arriaga LP-45**

#### 4.1.2-Material vegetal de recolección silvestre.

Las partes aéreas en flor del material vegetal fueron recogidas en su hábitat natural.

*Baccharis trimera* (Less.) proveniente de la Provincia de Buenos Aires: Pereyra Iraola, partido de Berazategui (LPE-1010; M1), B. Bavio (LPE-1006; M3), Brandsen (LPE-1005; M4); Provincia de Córdoba (LPE-1009; M2); Gauíba-RS, Brasil (ICN-128440; M5).

*Baccharis crispa* Spreng. proveniente de la provincia de Córdoba (LPE: 1008; M6); Provincia de Buenos Aires, Villarino (LPE-1004; M7); Provincia de San Luis (LPE-10007; M8); Gauíba-RS, Brasil (ICN-128451; M9).

*Baccharis articulata* proveniente de la Provincia de Santa Fe (M10); Guaíba – RS. Brasil, pié femenino (M11); Guaíba – RS, Brasil, pié masculino (M12).

Las muestras provenientes de Argentina fueron identificadas por E. Spegazzini, D. Giuliano, L. Ariza Espinar y E. Petenatti. Un ejemplar de herbario de cada una se encuentra depositado en el Herbario y Museo de Botánica y Farmacognosia «Carlos Spegazzini» (LPE), La Plata, Argentina. Las muestras provenientes de Brasil fueron identificadas por N. I. Matzenbacher y los ejemplares de herbario se encuentran depositados en el Herbario ICN (Universidad Federal de Río Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil).



Muestra de recolección silvestre  
*Baccharis crispa* LPE-1008 ( M6)



Muestra de recolección  
silvestre *Baccharis trimera*  
LPE-1010 ( M1)

#### 4.2-Identidad botánica (se realizó en colaboración con la Prof. Dra. E. Spegazzini, Cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP).

##### 4.2.1-Descripción morfológica.

Se realizó una exhaustiva revisión bibliográfica en cuanto a la descripción morfológica y claves sistemáticas para el reconocimiento de *B. crispa* y/o *B. trimera* de distintos autores: Sprengel, 1826; De Candolle, 1836; Ariza Espinar, 1973; Cortadi et al., 1999; Giuliano, 2000; Barboza et al., 2001.

##### 4.2.2-Valores numéricos.

El material vegetal utilizado en los estudios micrográficos fueron las muestras de herbario y el material obtenido por recolección silvestre (M1-M9). Se midieron los valores numéricos proporcionales (índice de estomas e índice de empalizada) por diafanización de los tallos alados (Gianello et al., 2000; WHO, 1998a).

##### 4.2.3-Descripción microscópica.

Para el estudio histológico de todas las muestras de herbario y de recolección silvestre (M1-M9) se realizaron cortes transversos de los tallos alados y se coloreó con Safranina Fast-Green. Se comparó con lo descripto por Cortadi et al., 1999 para *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera* y por Barboza et al., 2001 para *Baccharis crispa*.

#### 4.3-Cromatografía en Capa Delgada (TLC).

##### 4.3.1-Preparación de los extractos y de soluciones estándares.

Para la preparación de los extractos a analizar se utilizó el material vegetal seco y molido de cada una de las muestras silvestres (M1-M12).

##### Preparación de los extractos de diclorometano (DMC.)

- Se pesaron aproximadamente 2 g de cada muestra y se colocaron en erlenmeyers de 25 ml.
- A cada erlenmeyer se le agrega 20 ml de diclorometano y se calienta en baño de agua durante 40 minutos.



- Se deja enfriar y se filtra.
- A cada residuo se lo lava con otros 20 ml de diclorometano y se filtra.
- Los filtrados se transfieren a balones de 100 ml y se llevan a sequedad a presión reducida en evaporador rotatorio.
- Los residuos secos obtenidos se redisuelven en 5 ml de diclorometano para luego ser utilizado en el análisis cromatográfico.

#### Preparación de los extractos de metanol (MeOH.)

- El marco del material vegetal de cada muestra, extraída previamente con diclorometano, se deja secar a temperatura ambiente y se los transfiere a erlenmeyers de 25 ml.
- A cada erlenmeyer se le agrega 20 ml de metanol y se calienta en baño de agua durante 20 minutos.
- Se deja enfriar y se filtra.
- A cada residuo se lo lava con otros 20 ml de metanol y se filtra.
- Los filtrados se transfieren a balones de 100 ml y se llevan a sequedad en un evaporador rotatorio.
- Los residuos secos obtenidos se redisuelven con 5 ml de metanol para luego ser utilizado en el análisis cromatográfico.

#### Preparación de la solución estándar.

5 mg de rutina se disuelven en 10 ml de metanol.

Muestra de recolección silvestre  
*Baccharis crisper* ICN-128451 ( M9)

#### 4.3.2-Sistemas cromatográficos.

#### Análisis de los extractos diclorometánicos.

##### Sistema A

Fase estacionaria: Cromatofolios de Silicagel Merck HF 254

Fase móvil: benceno: acetato de etilo (70:30)

##### Sistema B

Fase estacionaria: Cromatofolios de Silicagel Merck HF 254

Fase móvil: tolueno: acetato de etilo (30:10)

##### Sistema C

Fase estacionaria: Cromatofolios de Silicagel Merck HF 254

Fase móvil: tolueno: acetato de etilo (95:5)

##### Sistema D

Fase estacionaria: Cromatofolios de Silicagel Merck HF 254

Fase móvil: tolueno: acetato de etilo (70:30)

#### Análisis de los extractos metanólicos.

##### Sistema E

Fase estacionaria: Cromatofolios de Silicagel Merck HF 254

Fase móvil: acetato de etilo: metanol: agua (100:17:10)

Muestra de recolección silvestre  
*Baccharis trimera* ICN-128440 (M5)

##### Sistema F

Fase estacionaria: Cromatofolios de Silicagel Merck HF 254

Fase móvil: acetato de etilo: ác. acético: ác. fórmico: agua (100:11:11:27)



Muestra de recolección silvestre *Baccharis articulata* pie femenino M11

**Sistema G**

Fase estacionaria: Cromatofolios de Silicagel Merck HF 254

Fase móvil: tolueno: acetato de etilo: metanol (75:25:5)

Se dejan desarrollar los cromatogramas hasta alcanzar una distancia aproximada de 10 cm.

**4.3.3-Revelado.**

Una vez retirada la placa de la cámara, se marca el frente de solvente y se deja secar al aire. Luego se examina cada placa bajo lámpara de luz UV254 nm, UV366 nm y UV366 nm con vapores de amoníaco.

Además se utilizan los siguientes reactivos reveladores:

- ‡ *Reactivo de Productos naturales (RPN)*: se rocían la placa con una solución de 1g de 2-aminoetiléster de difenilbórico en 100 ml de metanol, se secan con aire caliente y se observan al UV 366nm.
- ‡ *Reactivo de vainillín sulfúrico*: se mezclan 1 g. de vainillina en 4 ml de HCL y en 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Se lleva a un volumen final de 100 ml con metanol. Se rocían las cromatoplacas correspondientes y posteriormente se calienta en la estufa a 110 °C durante 15 minutos.

**4.4-Análisis por Cromatografía Gaseosa / Espectroscopia de masa (CG/EM) (se realizó en colaboración con la Dra. Amelia Henriques, de la Universidad Federal de Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil).**

Se realizó la detección y cuantificación de acetato de carquejillo y ledol en las muestras de recolección silvestre (M1-M9)

**4.4.1-Preparación de los extractos.**

100 mg de las partes aéreas desecadas de cada muestra fueron extraídas con 5 ml de hexano durante 5 minutos en Ultra-Turrax T8 (Ika<sup>®</sup>-Werke).

**4.4.2-Análisis Cual-cuantitativo.**

El análisis de los extractos hexánicos fue realizado por CG y CG/EM utilizando un cromatógrafo Shimadzu GC 17-A equipado con una columna capilar de sílica (30 m x 0.25 mm x 0.25 mm, recubierto con DB-5). La temperatura del inyector y del detector fue ajustada a 220 °C y 250 °C respectivamente; la temperatura del horno fue programada entre 60-300 °C en 3 °C/min. Se utilizó el helio como gas carrier. El aparato de CG se encuentra equipado con un detector de ionización de llama, mientras que el CG/EM con un sistema cuadrupolo EM (QP 5000), operando a 70 eV. El porcentaje de la composición del aceite esencial fue obtenido por integración electrónica, no teniendo en cuenta los factores de respuesta.

La identificación del acetato de carquejillo y ledol se basó en la comparación de índices de retención (determinados relativamente a partir de tiempos de retención de una serie homóloga de n-alcenos) y de los espectros de masa contra muestras auténticas e información bibliográfica (Adams, 2001).

## 5. Resultados

**5.1-Descripción morfológica.**

De la revisión bibliográfica sobre la anatomía y morfología de las tres especies de *Baccharis* conocidas como «carquejas» y de las claves sistemáticas consultadas, surge una clara diferenciación entre *Baccharis articulata* y *Baccharis crispa* y/o *Baccharis trimera*, por ser la única de las tres que posee tallos bialados. Sin embargo ninguna de las claves sistemáticas consultadas permiten una diferenciación entre las otras dos especies de tallos trialados.

Todas las descripciones morfológicas existentes en bibliografía señalan mínimas diferencias entre *Baccharis crispa* y/o *Baccharis trimera* siendo Giuliano el único autor que las describe (Giuliano, 2000). Estas diferencias radican fundamentalmente en los capítulos femeninos en cuanto a la forma y tamaño del involucreo y al estilo (ver Tabla 5.1).

Citas	<i>B. crispa</i> (capítulo femenino)			<i>B. trimera</i> (capítulo femenino)		
	Involucro	Tamaño	Estilo	Involucro	Tamaño	Estilo
<b>Sprengel, 1826</b>	Acampanado	8-9 mm h4 mm Æ	Ramas separadas		No describe la especie	
<b>De Candolle, 1836</b>		No describe la especie	Cilíndrico	5-6 mm h	-----	
<b>Ariza Espinar, 1974</b>	Acampanado	8-10 mm h4-4,5 mm Æ	ramas largas más o menos pegadas		No describe la especie	
<b>Cortadi et al., 1999</b>	-----	8-9 mm h4 mm Æ	-----	Cilíndrico	5-6 mm h 2-3 mm Æ	Ramas separadas
<b>Giuliano, 2000</b>	Acampanado	8-10 mm h4-4,5 mm Æ	Ramas largas adheridas	Cilíndrico	5-6 mm h 2-3 mm Æ	Ramas separadas
<b>Barboza, 2001</b>	Acampanado	-----	Ramas largas mas o menos pegadas		No describe la especie	

Tabla 5.1. Descripción morfológica de *Baccharis crispa* Sprengel y *Baccharis trimera* (Less.) por distintos autores.

Se analizaron las características diferenciales que surgen de la bibliografía en las muestras de herbario (*B. crispa* N° LP-285, LP-11494, LP-11474, LPE-1004; *B. trimera* (Less.) DC. N° LP-45, LPE-32) y de recolección silvestre (M1-M9). Las características de los capítulos femeninos en cuanto a la forma y tamaño del involucro, así como las características del estilo encontradas, se pueden corresponder a la descripción de ambas especies. Se han encontrado en una misma muestra ambas características. Por lo tanto no se pudieron corroborar las diferencias señaladas en la bibliografía.

Además, la diferenciación propuesta en la clave sistemática de Giuliano, 2000 para *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera* basada en el borde cespado de sus tallos alados no pudo ser corroborada dado que todas las muestras de herbario y recolección silvestre clasificadas tanto como *Baccharis crispa* o *Baccharis trimera* presentan tallos con alas crespas.

## 5.2-Análisis Micrográfico cuantitativo. Valores Numéricos.

### ☞ **Índice de estomas.**

Todas las muestras de herbario estudiadas de *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera* coinciden en un promedio de 12,10 con valores comprendidos entre 7,89-15.

Las muestras de recolección silvestre (M1-M9) coinciden con los promedios anteriores.

### ☞ **Índice de empalizada.**

Todas las muestras de herbario estudiadas coinciden en un promedio de 4,75 con valores comprendidos entre 2,75-5,5.

Todas las muestras de recolección silvestre (M1-M9) coinciden con los valores anteriores.

Todas las muestras de herbario estudiadas de *B. crispa* y *B. trimera* así como las muestras de recolección silvestre (M1-M9) coinciden en el rango de valores encontrados de índice de estomas e índice de empalizada. Estos valores se corresponden con los encontrados por Gianello et al., 2000 (Ver Antecedentes 3.2.3).

La Organización Mundial de la Salud (WHO, 1998) no incluye el número de islotes venosos/mm<sup>2</sup> ni el número de terminales de nervación/mm<sup>2</sup> dado que son parámetros variables con el hábitat de las especies por lo que no pueden ser tenidos en cuenta para el control de calidad (Spegazzini, 2003).

## 5.3-Descripción microscópica.

Solo dos autores describen las características microscópicas de *B. crispa* y uno solo la de *B. trimera* señalando como diferencias las que se especifican en la Tabla 5.2.

La observación microscópica de los cortes histológicos de todas las muestras analizadas se centró en los pelos glandulares y tectores y en el número de cavidades secretoras en el extremo del ala por ser las únicas características diferenciales mencionadas por Cortadi et al., 1999. Estas características fueron encontradas indistintamente en las distintas muestras de herbario clasificadas como *Baccharis.crispa* y *Baccharis trimera*.

La muestra de herbario *B. crispa* N° LP-285 presenta pelos glandulares y no se observó ningún canal en el extremo del ala. Con respecto a las muestras de recolección silvestre analizadas (M1-M9) presentan pelos glandulares y tectores y una cavidad secretora en el extremo del ala.

De esta manera, estas características parecerían no constituir características diferenciales.

Citas	<i>Baccharis crispa</i>		<i>Baccharis trimera</i>	
	Tricomas	Cavidades Secretoras	Tricomas	Cavidades Secretoras
<b>Cortadi et al., 1999</b>	Pelos tectores y glandulares	1 canal en el extremo del ala	Pelos glandulares	3 canales en el extremo del ala
<b>Barboza, 2001</b>	Pelos tectores y glandulares (diferentes de los anteriores)	1 canal en el extremo del ala	No describe la especie	

Tabla 5.2. Descripción microscópica de *Baccharis crispa* Sprengel y *Baccharis trimera* (Less.).

#### 5.4- Perfiles cromatográficos de TLC.

El material vegetal seco y molido se extrajo sucesivamente con diclorometano y metanol y fueron llevados a sequedad calculándose el rendimiento como g de extracto cada 100 g de droga seca (Ver Tabla 5.3).

Los extractos fueron redisueltos en los mismos solventes utilizados en la extracción, para el análisis cromatográfico.

Los sistemas cromatográficos fueron seleccionados sobre la base de su resolución para el análisis tanto de los extractos diclorometánicos como para los extractos metanólicos de las muestras de recolección silvestre (M1-M12).

Muestras de recolección Silvestre	Rendimiento (g de extracto por cada 100 g de droga seca)	
	Extracto Diclorometánico	Extracto Metanólico
<b>M1</b>	6,32	8,72
<b>M2</b>	8,26	7,58
<b>M3</b>	4,65	6,71
<b>M4</b>	4,73	6,57
<b>M5</b>	3,23	8,55
<b>M6</b>	3,75	8,36
<b>M7</b>	3,48	7,97
<b>M8</b>	3,69	8,49
<b>M9</b>	3,87	6,55
<b>M10</b>	5,87	4,37
<b>M11</b>	5,69	4,78
<b>M12</b>	5,43	4,67

Tabla 5.3. Rendimiento de los procesos extractivos de las muestras de recolección silvestre M1-M12.

Los extractos fueron redisueltos en los mismos solventes utilizados en la extracción, para el análisis cromatográfico.

Los sistemas cromatográficos fueron seleccionados sobre la base de su resolución para el análisis tanto de los extractos diclorometánicos como para los extractos metanólicos de las muestras de recolección silvestre (M1-M12).

#### ✍ **Extractos diclorometánicos.**

Los sistemas seleccionados para los extractos DCM fueron:

**C-** FE: Silica gel, FM: Tolueno: EtOAc (95:5)

**D-** FE: Silicagel, FM: Tolueno: EtOAc (7:3)

Para el sistema **C** se utilizó como reactivo revelador vainillín sulfúrico para detectar los compuestos terpenoides.

Los perfiles cromatográficos de los extractos diclorometánicos de las muestras de *Baccharis trimera* (M1-M5) son cualitativamente idénticos presentando pequeñas diferencias cuantitativas. Lo mismo ocurre con las muestras clasificadas como *Baccharis crispa* (M6-M9). En este cromatograma se puede observar que el perfil correspondiente a las muestras silvestres clasificadas como *Baccharis trimera* (M1-M5) presen-

tan una banda violeta-azulada en el tercio superior del cromatograma de Rf 0,74 y una banda azul de Rf 0,63 cuya posición y color se corresponde con el descrito para acetato de carquejilo y ledol respectivamente (Henriques, 2003). Estas bandas se encuentran ausente en los extractos de las muestras clasificadas como *Baccharis crispa* y *Baccharis articulata* (M6-M12) (ver Fig.5.1).

Para el sistema D se utilizó como reactivo revelador RPN (Reactivos de Productos Naturales) para detectar los compuestos polifenólicos. El cromatograma fue observado a la luz visible (Ver Fig. 5.2) y UV 254 nm (Ver Fig. 5.3). Los perfiles cromatográficos de los extractos diclorometánicos de las muestras de *Baccharis trimera* (M1-M5) son cualitativamente idénticos presentando pequeñas diferencias cuantitativas. Lo mismo ocurre con las muestras clasificadas como *Baccharis crispa* (M6-M9). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre los perfiles cromatográficos de las muestras de *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera*. En el perfil cromatográfico de *B. trimera* se encontraron 3 manchas diferenciales (Rf 0,14, 0,36 y 0,55), mientras que para *B. crispa* se observó una sola mancha diferencial de Rf 0,27 pero solo con respecto a *B. trimera* y no a *B. articulata* (Ver Tabla 5.4).

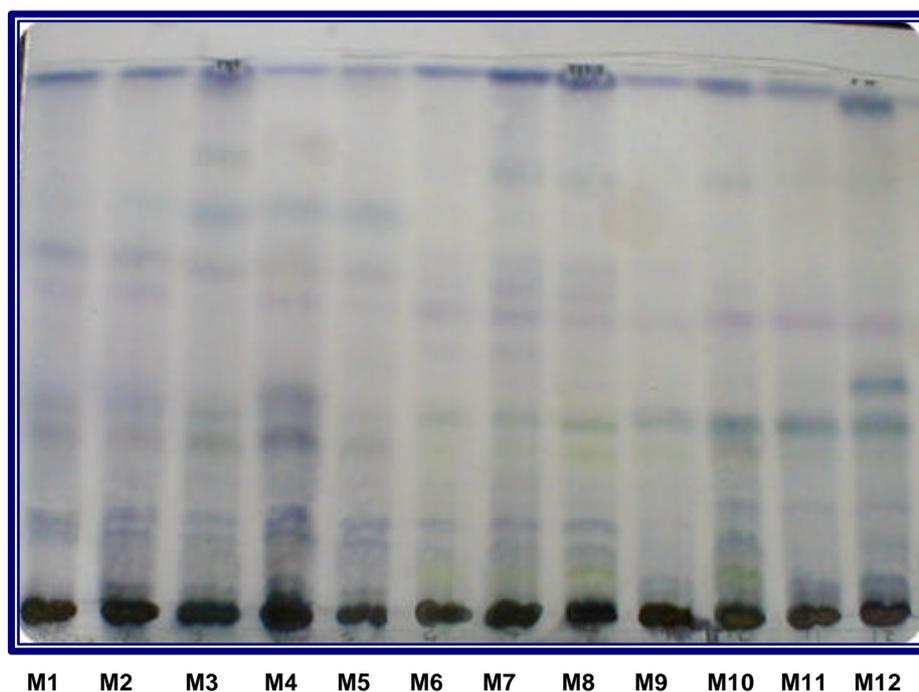


Figura 5.1. Cromatograma de los extractos diclorometánicos de las muestras de recolección silvestre M1-M12 en el sistema C revelado con el reactivo vainillín sulfúrico.

NPR-PG / UV <sub>366nm</sub>	<i>Baccharis crispa</i> (Rf)	<i>Baccharis trimera</i> (Rf)	<i>Baccharis articulata</i> (Rf)
Naranja	—	0.14	—
Amarillo	0.27	—	—
Amarillo	—	—	0.27
Naranja	—	0.30	0.30
Amarillo	—	0.36	—
Amarillo	0.48	0.48	—
Amarillo	—	0.55	—

Tabla 5.4. Bandas presentes en los perfiles cromatográficos de los extractos diclorometánicos de las muestras de recolección silvestre M1-M12 desarrollados en el sistema D revelados con RPN (Reactivos de Productos Naturales).

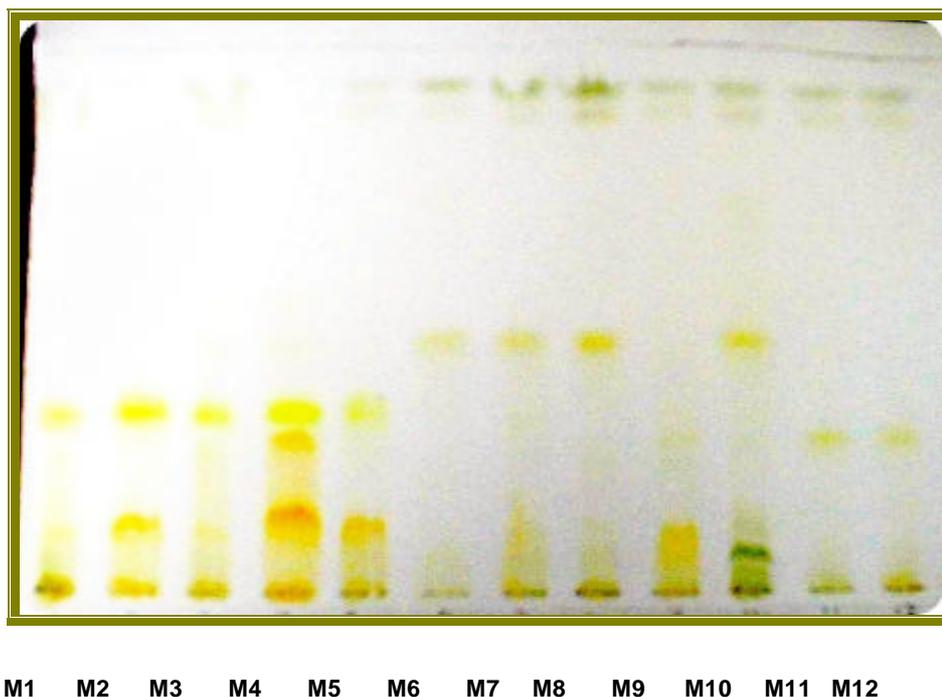


Figura 5.2. Cromatograma de los extractos diclorometánicos de las muestras de recolección silvestre M1-M12 en el sistema D revelado con el reactivo RPN (Reactivos de Productos Naturales) observado a la luz visible.

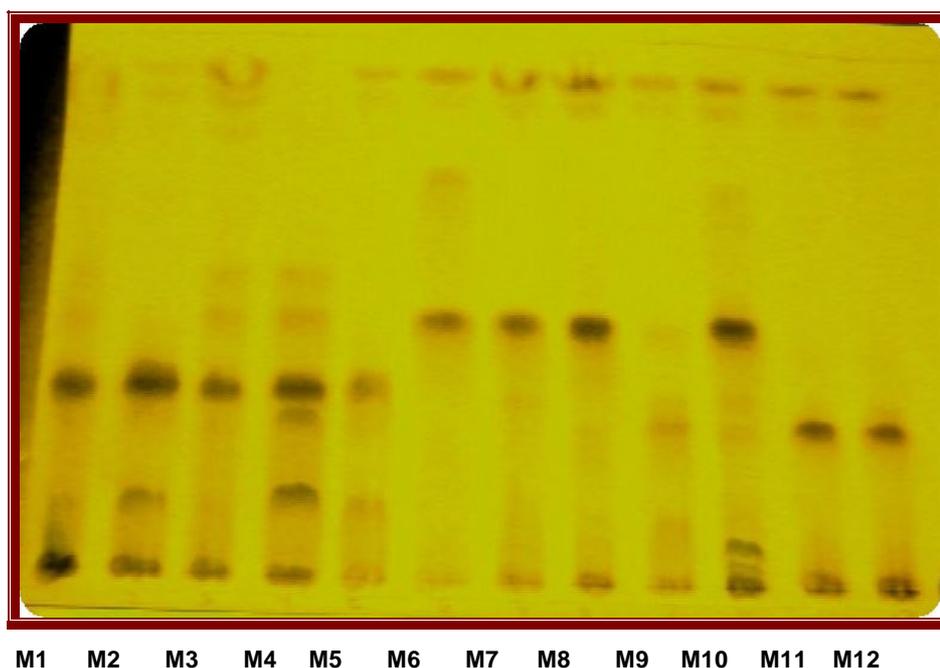


Figura 5.3. Cromatograma de los extractos diclorometánicos de las muestras de recolección silvestre M1-M12 en el sistema D revelado con el reactivo RPN (Reactivos de Productos Naturales) observado al UV 254nm.

#### ✍ **Extractos metanólicos.**

Los extractos metanólicos de las muestras M1-M12 fueron analizados en el sistema **E** (FE: Silica gel, FM:EtOAc: MeOH:H<sub>2</sub>O (100:17:10) frente a un marcador de rutina (3-O-ramnoglucósido de quercetina) y utilizando como reactivo revelador RPN (Reactivos de Productos Naturales) para detectar los compuestos polifenólicos. El cromatograma fue observado a la luz visible (Ver Fig. 5.4), al UV 366 nm (Ver Fig. 5.5) y al UV 254 nm (Ver Fig. 5.6). Los perfiles cromatográficos de los extractos metanólicos de las muestras de *Baccharis trimera* (M1-M5) son cualitativamente idénticos presentando pequeñas diferencias cuantitativas. Lo mismo ocurre con las muestras clasificadas como *Baccharis crispa* (M6-M9).

Sin embargo, los perfiles cromatográficos de las muestras clasificadas como *Baccharis trimera* (M1-M5) y *Baccharis crispa* (M6-M9) muestran diferencias significativas. Con respecto a las muestras silvestres clasificadas como *Baccharis articulata*, éstas presentan cuatro manchas diferenciales (Rf 0,71, 0,62, 0,59 y 0,18) con respecto a *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera*. Las muestras 11 y 12 correspondientes a los ejemplares masculinos y femeninos de *Baccharis articulata* presentaron idénticos perfiles (Ver Tabla 5.5).

NPR-PG / UV <sub>366nm</sub>	<i>Baccharis crispa</i>	<i>Baccharis trimera</i>	<i>Baccharis articulata</i>
Naranja	—	0.92	—
Celeste	—	0.8	—
Naranja	—	—	0.71
naranja	—	—	0.62
Amarillo claro	—	—	0.59
Celeste	0.53	0.53	—
Amarillo anaranjado	—	0.44	—
Amarillo claro	0.41	0.41	0.41
Amarillo anaranjado	0.32	—	—
Amarillo claro	—	0.29	—
Amarillo claro	0.24	—	—
Marrón amarillo	—	—	0.18
Amarillo claro	0.12	0.12	—

Tabla 5.5. Perfiles cromatográficos de los extractos metanólicos de las muestras de recolección silvestre M1-M12 desarrollados en el sistema E revelados con RPN (Reactivos de Productos Naturales).

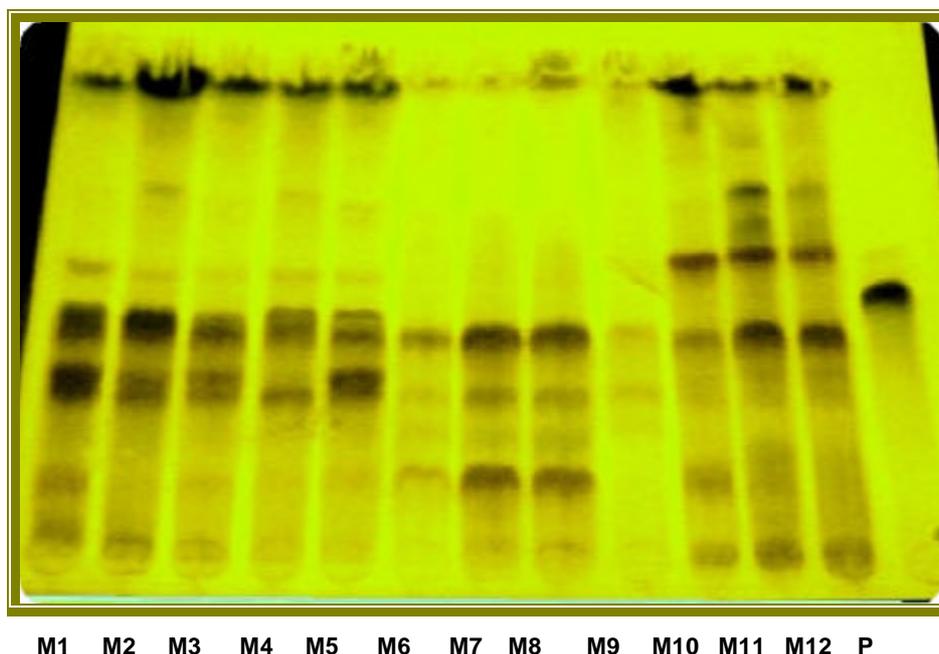
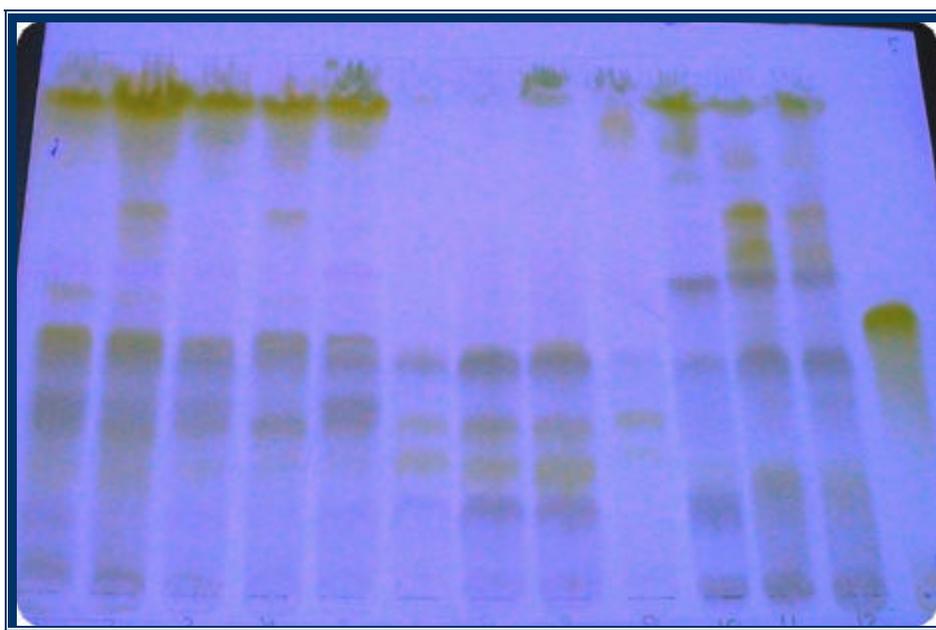


Figura 5.6. Cromatograma de los de los extractos metanólicos de las muestras de recolección silvestre M1-M12 y el patrón rutina (P) desarrollados en el sistema E revelados con RPN (Reactivos de Productos Naturales) observado al UV 254nm.



M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 P

Figura 5.5. Cromatograma de los extractos metanólicos de las muestras de recolección silvestre M1-M12 y el patrón rutina (P) desarrollados en el sistema E revelados con RPN (Reactivos de Productos Naturales) observado al UV 366nm.

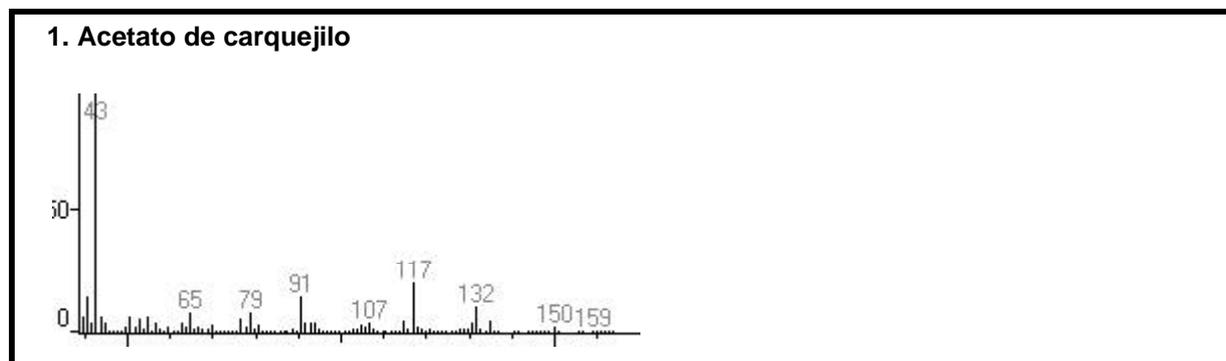
**5.5-Cromatografía Gaseosa / Espectroscopia de Masa (CG/EM).**

Los extractos hexánicos de las muestras de recolección silvestre M1-M9 fueron analizados por cromatografía gaseosa con espectroscopia de masa. La presencia de un pico a un tiempo de retención 10 +/- 1 y otro a 12 +/- 1 pudieron ser identificados por espectroscopia de masa (EM) como acetato de carquejillo y ledol (Ver Fig. 5.7) en las muestras correspondientes a *Baccharis trimera* (Ver Fig. 5.8.1 y 5.8.2). Los porcentajes de acetato de carquejillo encontrados en las muestras M1-M5 se describen en la tabla 5.6.

Las muestras M6-M9, clasificadas como *Baccharis crispa*, no presentan picos en dichos tiempos de retención (Ver Fig. 5.9).

Muestras	Acetato de Carquejillo (%)
<b>M1</b>	30.7
<b>M2</b>	85.1
<b>M3</b>	76.3
<b>M4</b>	43.2
<b>M5</b>	30.7

Tabla 5.6. Porcentajes encontrados de acetato de carquejillo en los extractos hexánicos de las muestras M1, M2, M3, M4 y M5.



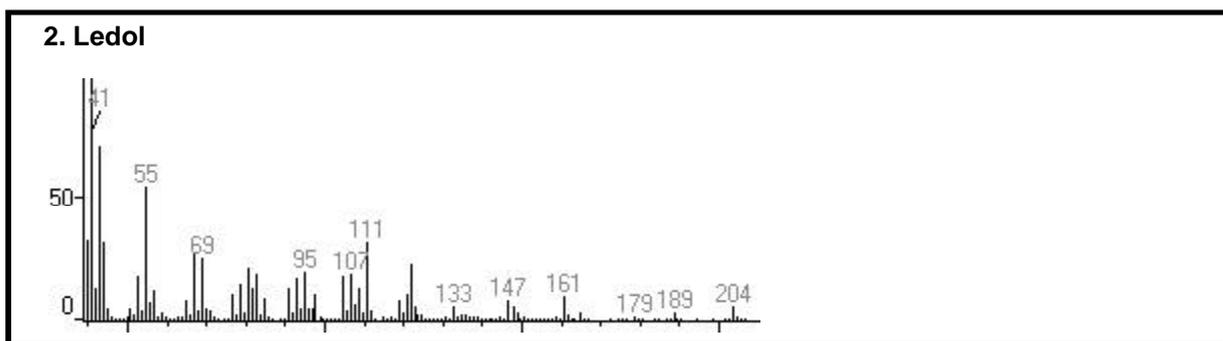


Fig. 5.7. Sección del cromatograma (CG) en el rango que comprende los tiempo de retención de acetato de carquejilo y leedlo.

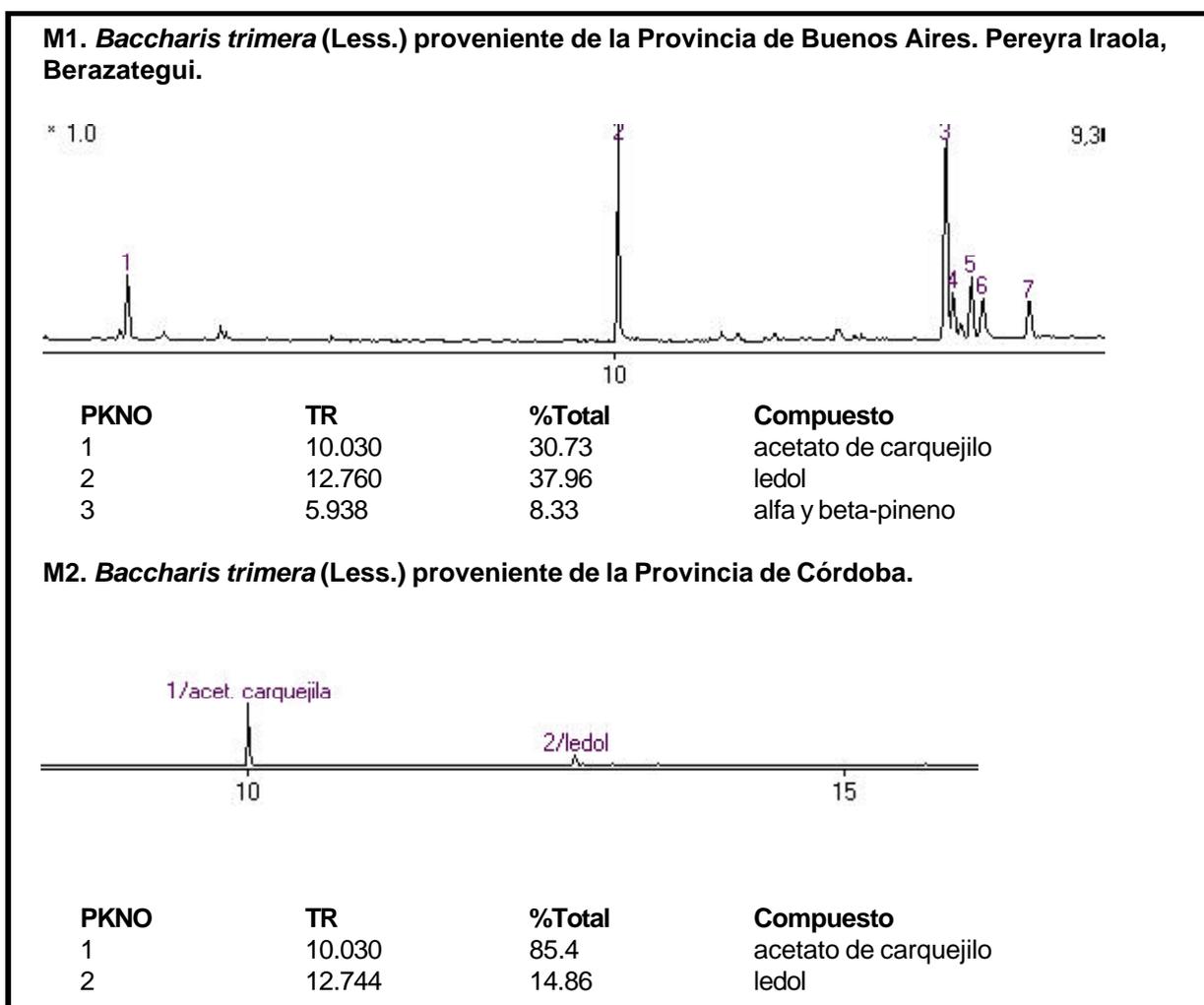


Fig. 5.8.1. Identificación del acetato de carquejilo y ledol por cromatografía graseosa (CG) de las muestras M1-M2 identificadas como *Baccharis trimera*.

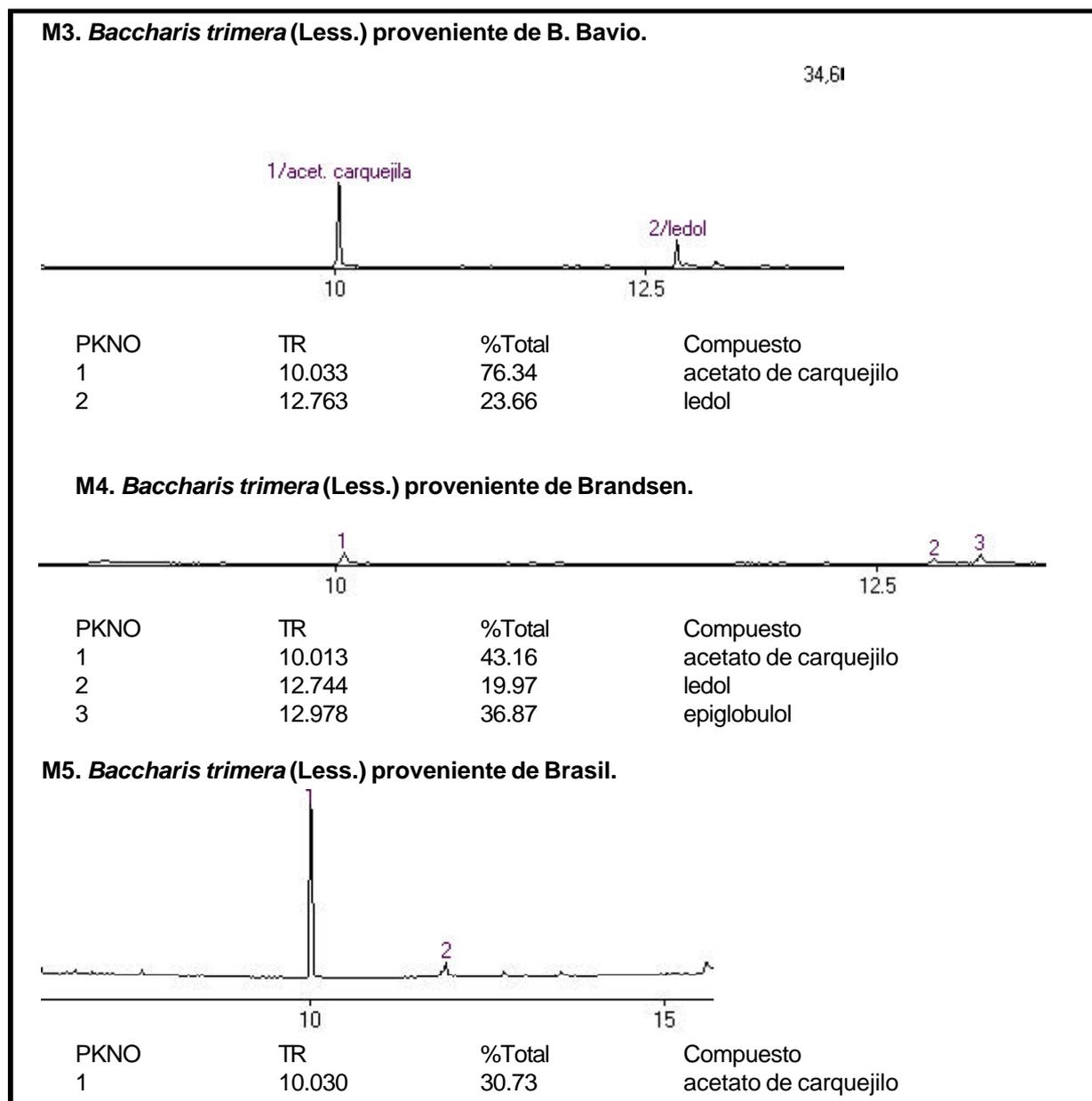


Fig. 5.8.2. Identificación del acetato de carquejilo y ledol por cromatografía gaseosa (CG) de las muestras M3-M5 identificadas como *Baccharis trimera*.

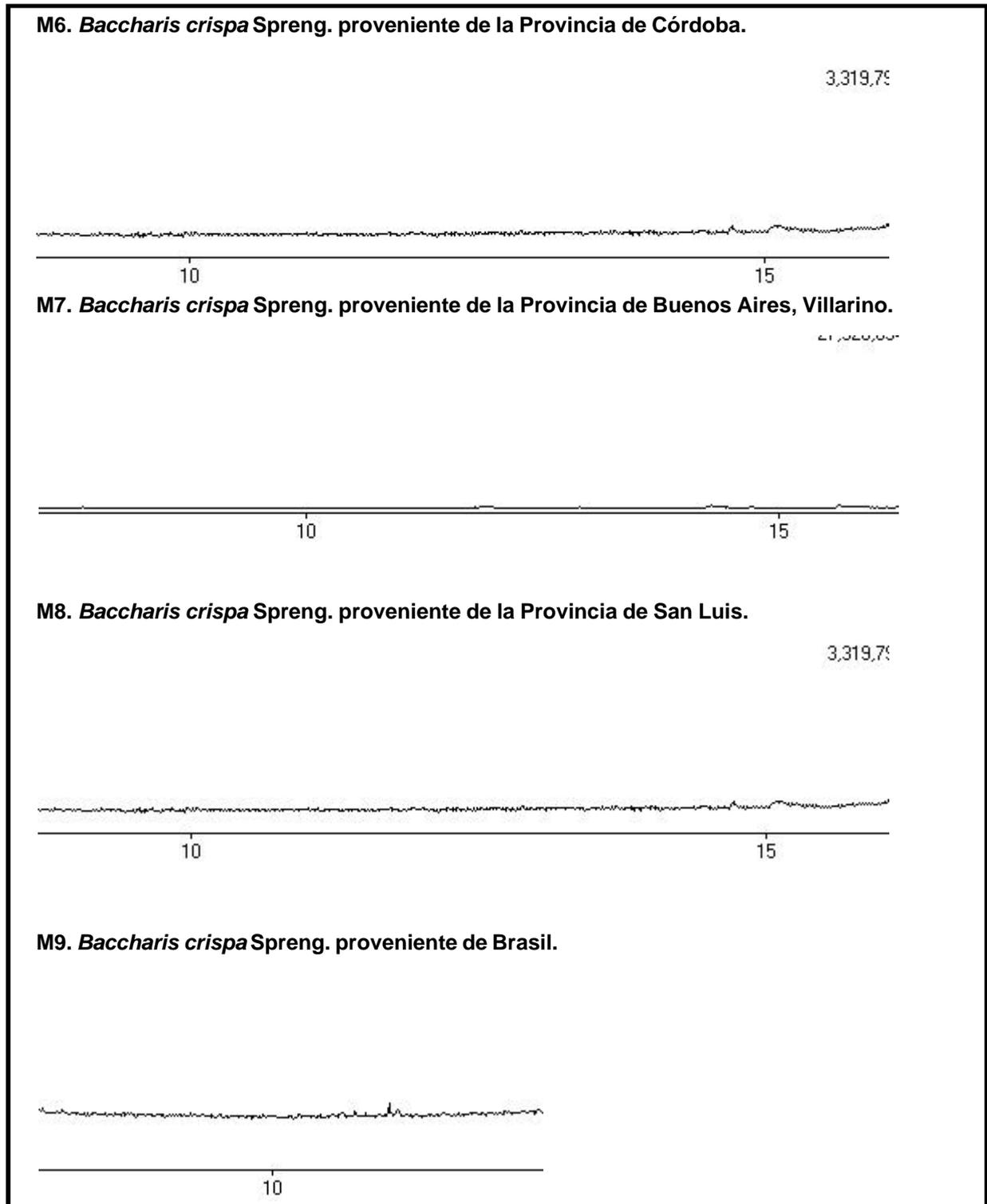


Fig. 5.9. Sección del cromatograma (CG) en el rango que comprende los tiempo de retención de acetato de carquejilo y ledol de las muestras M8-M9 identificadas como *Baccharis crisper*.

## 6. Conclusiones

De los antecedentes etnofarmacológicos y usos populares encontrados para «carqueja» surge claramente la importancia que ha tenido y continúa teniendo en la terapéutica esta planta medicinal. Su amplia distribución en Argentina y en países como Brasil, Bolivia, Uruguay y Paraguay, donde es utilizada con los mismos fines terapéuticos, hacen que su uso tradicional sea consistente. Esto permite, según las reglamentaciones actuales, justificar su eficacia terapéutica basándose en una evidencia «de uso tradicional consistente» de más de cien años. De manera puede ser considerada una droga vegetal.

La inclusión de la droga vegetal «carqueja» o sus extractos, en medicamentos herbarios o fitoterápicos, hace necesario el desarrollo de técnicas analíticas botánicas y químicas para su correcta identificación como una parte importante de su control de calidad.

El trabajo estuvo focalizado en los controles botánicos y químicos para el reconocimiento de cada una de las especies conocidas bajo el mismo nombre vulgar de «carqueja». Para esto fue necesario recopilar toda la información existente desde el punto de vista botánico, químico, etnofarmacológico y farmacológico que hasta el momento se encontraba dispersa en diferentes fuentes de información nacionales e internacionales.

De la información recogida, surge claramente que tanto en Argentina como en Brasil, Uruguay, Bolivia y Paraguay se conocen como «carqueja» varias especies del género *Baccharis*. Fundamentalmente cuatro son las mencionadas en la bibliografía, dos de ellas figuran en la Farmacopea Nacional Argentina VI Ed: *Baccharis articulata* (Lam.) Persoon; *Baccharis crispa* Sprengel, una tercera *Baccharis trimera* (Less.) DC, es la que figura bajo el nombre de carqueja en la Farmacopea Brasileña IV Ed. y una cuarta especie *Baccharis genistelloides* que no se encuentra descripta en la bibliografía taxonómica revisada. Es importante señalar que *B. crispa* y *B. trimera* figuraron durante varios años como variedades de esta especie, bajo los nombres de *Baccharis genistelloides* var. *crispa* y *B. genistelloides* var. *trimera*. Esta situación hace que, todos los estudios químicos, farmacológicos o toxicológicos que figuran en bibliografía para *Baccharis genistelloides* sin especificar su variedad no constituyen datos relevantes dado que no pueden ser adjudicados ni a *B. crispa* ni a *B. trimera*.

Para la identificación de la droga vegetal, como parte del control de calidad, se tomaron los parámetros que figuran en todas las monografías de las Farmacopeas reconocidas (USP/NF, Farmacopea Europea, Farmacopea Francesa, Farmacopea Italiana) y los propuestos para las monografías que van a ser parte de la Farmacopea Argentina VII Ed: características macroscópicas y microscópicas, caracterización química por cromatografía en capa delgada y/o CG (Cromatografía Gaseosa), HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Presión).

De la revisión bibliográfica realizada sobre la descripción morfológica y sobre algunas de las claves sistemáticas para el reconocimiento de *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera* (Sprengel, 1826; Ariza Espinar, 1974; Cortadi et al., 1999; Giuliano, 2000; Barboza et al., 2001) surge que no existen diferencias entre ambas especies en cuanto a sus características macroscópicas. Las diferencias señaladas para los capítulos femeninos en cuanto al tamaño, involucro y estilo no son significativas y éstas no pudieron ser corroboradas cuando se realizó el estudio macroscópico en las muestras de herbario y en las muestras de recolección silvestre. Por otra parte, hay que tener en cuenta que la droga vegetal «carqueja» se haya constituida por las partes aéreas y por lo general el farmacéutico encargado del control de calidad no cuenta con el ejemplar completo del material vegetal. Otra característica diferencial propuesta en la clave sistemática de Giuliano, 2000 para *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera* se basa en el borde cespado de sus tallos alados. Este no puede ser considerado como parámetro de diferenciación dado que todas las muestras de herbario y de recolección silvestre clasificadas tanto como *Baccharis crispa* o *Baccharis trimera* presentan tallos con alas cespadas.

Los valores numéricos (índice de empalizada e índice de estomas) de todas las muestras estudiadas de *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera* se encuentran en un mismo rango y coinciden con lo señalado por Gianello et al., 2000, corroborando que estos índices no pueden ser utilizados para la diferenciación de estas especies.

La observación microscópica de los cortes histológicos de todas las muestras analizadas, se centró en los pelos glandulares y tectores y en el número de cavidades secretoras en el extremo del ala, como únicas características diferenciales mencionadas por Cortadi et al., 1999. Estas características fueron encontradas indistintamente en las diferentes muestras de herbario clasificadas como *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera*.

En conclusión se puede decir que las características macroscópicas y microscópicas que señalan los distintos autores solo pueden ser útiles en el reconocimiento de *B. articulata* pero no son suficientes para la

diferenciación entre *B. crispa* y *B. trimera*.

Esta problemática hace que la caracterización química de las especies sea imprescindible. Para esto, se ensayaron varios sistemas cromatográficos para compuestos polares y no polares en CCD (Cromatografía en Capa Delgada) y CG-EM (Cromatografía Gaseosa-Especrometría de Masas), de manera de encontrar perfiles característicos de cada especie y diferencias químicas significativas entre ellas. Los extractos metanólicos y diclorometánicos de 5 muestras de *B. trimera* y 4 de *B. crispa* de distintas regiones del país y de Brasil, fueron analizados en distintos sistemas en CCD encontrando un perfil cromatográfico característico para compuestos polifenólicos y otro para compuestos terpénicos para cada especie. Así mismo, se encontraron bandas diferenciales entre los extractos de *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera*, siendo útiles para su diferenciación. Los perfiles cromatográficos de los extractos metanólico y diclorometánico de *Baccharis articulata* mostraron bandas diferenciales con respecto a los mismos extractos de *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera*.

En el análisis de CG/EM de los extractos hexánicos de las muestras de recolección silvestre clasificadas como *Baccharis trimera* se encontró la presencia de dos picos diferenciales que pudieron ser identificados por espectroscopia de masas como acetato de carquejilo y ledol.

Estos picos se encuentran ausentes en los extractos hexánicos de las muestras de recolección silvestre clasificadas como *Baccharis crispa*. Por lo tanto, este análisis puede considerarse de gran utilidad en la diferenciación entre *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera*.

En síntesis, si bien los tallos alados permiten la rápida diferenciación entre *B. articulata* y *Baccharis crispa* - *Baccharis trimera*, no se encontraron características macro y/o microscópicas que resulten útiles para el reconocimiento entre *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera*. Por el contrario los perfiles cromatográficos son los únicos parámetros que permiten la diferenciación entre las tres especies resultando imprescindibles al momento del control de calidad de la droga vegetal. La importancia de encontrar perfiles característicos para cada especie y diferenciales de las especies entre sí, radica en la sencillez de dicho análisis y en la posibilidad de realizar la identificación no solo de la droga vegetal entera o rota sino cuando ésta se encuentra en polvo o en forma de extractos.

La recopilación de la información química, etnobotánica y farmacológica-toxicológica realizada para las tres especies muestra la similitud de usos, composición química y actividades farmacológicas y permite sugerir la incorporación de *Baccharis trimera* (Less) DC en la Farmacopea Argentina VII Ed. bajo el nombre de «carqueja» junto con *Baccharis crispa* Spreng. y *Baccharis articulata* (Lam.) Persoon. De esta manera, al estar incluida en Farmacopea Argentina se posibilita su comercialización nacional y entre los países del Merco Sur, siendo necesario una revisión de mayor cantidad de muestras tanto de herbario como de recolección silvestre con el fin de verificar este parámetro de identificación.

De esta manera, la recopilación y comparación de las características propias de las tres especies (hábitat, distribución geográfica, parte utilizada, usos, características macro y microscópicas y composición química) así como el análisis cualitativo de sus perfiles cromatográficos, permiten la diferenciación de las especies y contribuyen a establecer parámetros de identidad y calidad, permitiendo su incorporación en las Farmacopeas y posibilitando su comercialización nacional e internacional.

Mientras no existan métodos de identificación de las drogas vegetales nativas, los medicamentos elaborados con estas materias primas no podrán ser registrados como Medicamentos Fitoterápicos ante el INAME y tampoco podrán ser legalmente comercializados. De lo que se desprende que las drogas vegetales y los productos elaborados con estas drogas al no estar debidamente controlados representan un potencial riesgo para la salud de quienes las consumen.

## 7. Referencias

- Abad M. J., Bermejo P., Gonzales E., Iglesias I., Irurzun A., Carrasco L. (1999). *Antiviral activity of Bolivian plant extracts*. Gen. Pharmacology **32** (4): 499-503.
- Abdel-Malek S., Bastien J.W., Mahler W.F., Jia Q., Reinecke M.G., Robinson J.R., W.E., Shu Y.H., Zalles-Asin J. (1996). *Drug Leads from the Kallaway Herbalists of Bolivia. 1. Background, Rationale, Protocol and Anti-HIV Activity*. Journal Ethnopharmacology **50** (3): 157-166.
- Adams R.P. (2001). *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. Carol Stream, Allured.
- Alonso J.R. (1998). *Tratado de Fitomedicina. Bases Clínicas y Farmacológicas*. Ed. Issis SRL. Buenos Aires, Argentina.
- Arenas P., Moreno Azorero R. (1977). *Plants of common used in Paraguayan Folk Medicine for Regulating Fertility*. Econ. Bot. **31**: 298-301.
- Ariza Espinar L. (1973). *Las especies de Baccharis (Compositae) de Argentina Central*. Boln. Acad. Nac. Ci. **50**: 175-305, 39, f.2.
- Baker J.G. (1882). Compositae in Martius C.F. (ed.). *Flora Brasiliensis: enumerato plantarum* **6** (3).
- Bandoni A.L., Medina J.E., Rondina R.V.D., Coussio J.D. (1978). *Genus Bacchari I: Phytochemical Analysis of a non Polar Fraction from Baccharis crispa*. Planta Med. **34**: 328.
- Bandoni A.L., Mediondo M.E., Rondina R.V.D., Coussio J.D. (1972). *Survey of Argentine Medicinal Plants. I. Folklore and Phytochemical Screening*. Lloydia. **35** (1): 69-80.
- Barboza G.E., et al. (2001). *Atlas Histomorfológico de Plantas de Interés Medicinal*. Ed. Univ. Nacional de Córdoba. Pp. 32-35.
- Bastien J.W. (1983). *Pharmacopeia of Qollahuua Andeans*. Journal of Ethnopharmacology. **8** (1): 97-111.
- Bauer L., Silva G.A.D.B., De Siqueira N.C.S., Bacha C.T.M., Santana B.M.S. (1978). *Essential Oils of Baccharis dracunculifolia DC. and Baccharis genistelloides Pers. From Rio Grande Do Sul (Brazil)*. Rev. Cent. Cient. Saúde **6**: 7-12.
- Blumenthal, M. (2002). *Herb Sales Down in Mainstream Market, Up in Natural Food Stores* HerbalGram **55**: 60.
- Boelcke O. (1989). *Plantas Vasculares de la Argentina*. Ed. Hemisferio Sur. Segunda reimpresión. Buenos Aires. Pp. 265-369.
- Bohlmann F., Zdero C. (1961). *Tetrahedron Lett.* **28**: 2419-2421.
- Brandao M., Botelho M., Krettli E. (1985). *Antimalarial Experimental Chemotherapy using Natural Products*. Cienc. Cult. **37** (7): 1152-1163.
- Brandao Torres L.M., Gamberini M.T., Roque N.F. (2000). *Diterpene from Baccharis trimera with a relaxant effect on rat vascular smooth muscle*. Phytochemistry **55**: 617-619.
- Bremer K. (1994). *Asteraceae-Cladistics & Classification*. Timber Press, Portland, Oregon.
- Cabrera A.I. (1963). *Flora de la Provincia de Buenos Aires*. Colección Científica INTA. Tomo IV. Parte 62.
- Camargo M.T.A. (1985). *Medicina Popular: aspectos metodológicos para pesquisa*. São Paulo, Almed.
- Ceñal J.P., Giordano O.S., Rossomando P.C., Tonn J.C. (1997). *Neoclerodane Diterpenes from Baccharis crispa*. Natural Products. **60** (5): 490-492.
- Chialva F., Doglia G. (1990). *Essential Oil from Carqueja (Baccharis genistelloides Pers)*. J. Essent Oil Res **2**: 173-177.
- Cortadi A., Di Sapio O., Mc Cargo J., Scandizzi S., Gattuso S., Gattuso M. (1999). *Pharm. Biology*. **37**: 357-365.
- Costa A.F. (1978). *Farmacognosia. Vol. II. Segunda Edición*. Fundacai Calouste Gulbenkian. Lisbon. Pp. 1011-12.
- Cuatrecasas J. (1967). *Revisión de las especies colombianas del género Baccharis*. Acad. Colomb. Cienc. Exac. Fis Natural. **13** (49): 5-102.
- Dai J. R., Suttisri E., Bordas D.D., Soejarto D.D., Kinghorn A.D. (1993). *Phytochemistry* **34**: 1087-90.
- Daily A., Wagner H., Seligmann O. (1984). *Hispidulin and stigmasta-7-22-dien-3-ol from Baccharis genistelloides*. Fitoterapia **55** (4): 236-238.
- De Candolle. (1836). *Baccharis*. Prodomus. **5**: 398-429.
- De Mello J., Petrovick P.R., (2000). *Quality control of Baccharis trimera (Less.) DC. (Asteraceae) Hydroalcoholic Extracts*. Acta Farmacéutica Bonaerense **19** (3): 211-215.
- De Olivera S.Q., Dal-Pizzol F., Gosmann G., et al. (2003). *Antioxidant activity of Baccharis articulata extracts: isolation a new compound with antioxidant activity*. Free Radic. Res. **37** (5): 555-9.
- Desmachelier C., Bermudez M.J.N., Coussio J., Ciccía G., Boveris A. (1997). *Antioxidant and Prooxidant*

- Activities in Aqueous Extracts of argentine Plants*. Int. Pharmacog. **35** (2): 116-120.
- Di Stasi L.C., Costa M., Mendacolli L.J., Kirizawa M., Gomes C., Trolin G. (1988). *Screening in mice of some medicinal plants used for analgesic purposes in the state of Sao Paulo*. Journal of Ethnopharmacology. **24** (2/3): 205-211.
  - Di Stasi L.C., Oliveira G.C., Carvalhaes M.A., et al. (2002). *Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest*. Fitoterapia. **73**: 69-91.
  - Farmacopea Brasileira. (2001). 4 Ed. San Pablo, Atheneu.
  - Farmacopea Nacional Argentina V Ed. (1966).
  - Farmacopea Nacional Argentina VI Ed. (1978).
  - Felcman J., Braganca M.L.T. (1988). *Chromium in Plants Comparison between the Concentration of Chromium in Brazilian Nonhypo and Hypoglycemic Plants*. Biol. Trace Element Res. **17** (1): 11-16.
  - Ferretti-Alloise M.G., Jacot-Guillarmod A., Naves Y.R. (1970). Helv. Chim. Acta **53**: 201-208.
  - Gamberini M., Lapa A. (1992). *Ações antiúlcera e antiácida do extracto aquoso e das frações da B. trimera*. Anais XII Simposio de Plantas Mediciniais do Brasil. UFP, Curitiba, Paraná.
  - Gene R.M., Marin E., Adzet T. (1992). *Antiinflammatory Effect of Aqueous Extracts of three species of the Genus Baccharis*. Planta Med. **58** (6): 656-666.
  - Gene R.M., Cartana C., Adzet T., Marin E., Parella T., Canigueral S., et al. (1996). *Antiinflammatory and Analgesic Activity of Baccharis trimera: Identification of its Active Constituents*. Planta Médica. **62** (3): 232-235.
  - Gianello J.C., Giordano O.S. (1982). *Barticulidiol: un nuevo Furano Diteroeno aislado de Baccharis articulata* Lam. (Persoon). Rev. Latinoamer. Quim. **13** (2): 76-78.
  - Gianello J.C., Giordano O.S. (1984). *Exámen Químico en seis Especies del Género Baccharis*. Rev. Latinoamer. Quim. **15** (2): 84-86.
  - Gianello J.C., Ceñal J.P., Giordano O.S., et al. (2000). *Medicamentos Herbarios en el Centro-Oeste Argentino. II. "Carquejas": Control de Calidad de las Drogas Oficiales y Sustituyentes*. Acta Farmacéutica Bonaerense. **19** (2): 99-103.
  - Giberti G.C. (1983). *Herbal Folk Medicine in Northwestern Argentina*. Journal of Ethnopharmacology **7** (3): 321-341.
  - Giuliano D.A., Ariza Espinar L. (1999). Asteraceae: *Baccharis*, en F.O. Zuloaga & O. Morrone (eds.). Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina II. *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* **74**: 113-129.
  - Giuliano D.A. (2000). Subtribu Baccharinae: *Baccharis*, en A. T. Hunziker (ed.). *Flora Fanerogámica Argentina*. ProFlora CONICET **66**: 6-67.
  - Giuliano D.A. (2001). *Clasificación Infragénérica de las especies argentinas de Baccharis (Asteraceae, Astereae)*. Darwiniana **39** (1-2): 138.
  - Gonzalez A., Ferreira F., Vazquez A., et al. (1993). *Biological screening of Uruguayan Medicinal Plants*. Journal of Ethnopharmacology **39** (3): 217-220.
  - González M., Lombardo A., Vallarino A.J. (1937). *Plantas de la Medicina Vulgar del Uruguay*. Cerrito. Pp. 141.
  - González-Ortega G., Schenkel E.P., Athayde M.L., Mentz L.A. (1989). Dtsch. Apoth. Ztg. **129**: 1847-8.
  - Gorzalczany S., Rojo A., Rondina R., Debenedetti S., Acevedo C. (1999). *Estudio de la toxicidad aguda por vía oral de plantas medicinales argentinas*. Acta Farmacéutica Bonaerense **18** (3), 221-224.
  - Henriques A. (2003). Comunicación Personal.
  - Herboper S.A. (1997). *Packaging instructions for Carqueja (Baccharis genistelloides)*. Lima, Perú.
  - Herz W., Pilotti A.M., Soderholm A.C., et al. (1977). *New ent-clerodane-type Diterpenoids from Baccharis trimera*. Journal Org. Chem. **42**: 3913.
  - Hieronymus, J. (1882). *Plantae Diaforicae, Florae Argentinae*. Tomo VI. Boletín de la Academia Nacional de Ciencias en Córdoba, Buenos Aires.
  - Hilgert N.I. (2001). *Plants used in Home Medicine in the Zenta River basin, Northwest argentina*. Journal of Ethnopharmacology. **76**: 19.
  - Hirschhorn H.H. (1981). *Botanical Remedies of South and Central America and the Caribbean: an Archival Analysis. Part I*. Journal of Ethnopharmacology **4** (2): 129-158.
  - Hirschmann G.S., Rojas de Arias A. (1990). *Survey of Medicinal Plants of Minas Gerais, Brazil*. Journal of Ethnopharmacology. **29** (2): 159-172.
  - Hnatyszyn O., Arenas P., Moreno A.R., et al. (1974). *Preeliminary Phytochemical Study of Paraguayan Medicinal Plants. I. Plants Regulating Fertility from Medicine Folklore*. Rev. Soc. Científica. **14**: 23.
  - Hoet P. (1980). *The Use of Certain Plants from the Traditional Pharmacopeia of Peru*. Plant Med. Phytotherapy **14** (3): 193-201.

- Jensen W.A, Salisbury F. B. (1988). *Botánica*. Segunda Edición. Mexico. Ed. Mc Graw Hill. Pp. 618-619.
- Lapa A.J., Fischman L.A., Gamberini M.T., (1992). *Inhibitors of gastric secretion from Brazilian folk medicine plants*. Natural drugs and the Digestive Tract. EMSI. Roma. Pp. 63-68.
- Malagarriga Heras R. De P. (1976). *Nomenclator Baccharidinarum Omnium*. Mem. Soc. Ci. Nat. La Salle **37**: 129-224.
- Martius F.P. (1843). *Systema materiae medicae vegetabilis Brasiliensis*. Río de Janeiro, Brasil.
- Martii. (1882). *Flora Brasiliensis*. **6** (3): 38-41.
- Martínez Crovetto R. (1964). *Estudios etnobotánicos I. Nombres de plantas y su utilidad. según los indios Tobas del Estedel chaco*. Bonplandia **1** (4): 279-333. Corrientes, Argentina.
- Martínez Crovetto R. (1981). "Plantas Utilizadas en Medicina en el NO de Corrientes". Fund. Miguel Lillo. Tucumán. Miscelánea 69.
- Moreira N.J. (1862). *Diccionario de Plantas Medicinales Brasileiras*. Río de Janeiro, Brasil.
- Moreno Azorero. (1975). *Two hundred sixty-eight medicinal plants used to regulate fertility in some countries of south america*. Unpublished. Paraguay.
- Muñoz V., Sauvain M., Bourdy G., et al. (2000). *A Search for Natural Bioactive Compounds in Bolivia through a Multidisciplinary Approach Part III. Evaluation of the Antimalarial Activity of Plants used by Altonos Indians*. Journal of Ethnopharmacology **71** : 123-131.
- Nakasugi T., Komai K. (1998). *Antimutagens in the Brazilian Folk Medicinal Planta Carqueja (Baccharis trimera Less.)*. Journal Agr. Food Chemical. **46** (7): 2560-2564.
- Naves Y.R. (1959). *Helv. Chim. Acta* **42**: 1996-8.
- Naves Y.R. (1959<sup>a</sup>). *Bull. Soc. Chim.* 1871-9.
- Nesom G.L. (1990). *Infrageneric Taxonomy of North and Central American Baccharis (Asteraceae: Asteraceae)*. Phytologia **68**: 40-46.
- Paccard E. (1905). *Lista de algunas plantas medicinales de la República Oriental y Argentina*. Eire y Ramos, Montevideo.
- Palacios P.P., Rondina R.V.D., Torres R., Coussio J.D. (1983). *Genus Baccharis. Part II. Antimicrobial Activity of Baccharis crispa and Baccharis notoserigila*. Planta Med. **19** (2): 128.
- Pallazo de Mello. (1989). *Desenvolvimento galenico de macerados de Baccharis trimera (Less.) DC.-Compositae (Carqueja)*. Porto Alegre, Curso de Pós-Graduação em Farmácia da UFRGS. Pp. 136. Master of Science Dissertation.
- Pallazo de Mello, Petrovick P.R. (2000). *Quality Control of Baccharis trimera (Less.) DC. (Asteraceae) Hydroalcoholic Extracts*. Acta Farmacéutica Bonaerense **19** (3): 211-5.
- Parodi, D. (1886). *Notas sobre algunas plantas usuales del Paraguay, de Corrientes y de Misiones*. Coni, Buenos Aires.
- Pavanm A.G. (1952). *Baccharis trimera (carqueja amarga) uma planta da medicina popular brasileira*. Anais Fac. Farm. 1952 10, 2053.
- Pedrazzi A.H.P., Rodriguez E.R., Zanardo-Filho A., et al. (1997). *Hematological evaluation of "carqueja" (Baccharis trimera) Infusion*. Fitoterapia. **68** (1): 26-28.
- Perez C., Anesini C. (1994). *Inhibition of Pseudomonas aeruginosa by Argentinean Medicinal Plants*. Fitoterapia. **65** (2): 169-172.
- Pío Correa M. (1909). *Flora do Brazil. Algumas plantas uteis, suas aplicacoes e distribucao geographica*. Directoria Peral de Estadística, Río de Janeiro, Brasil.
- Pío Correa M. (1931). *Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Imprensa Nacional. Rio de Janeiro. V. 2.
- Ramirez V.R., Mostacero L.J., Garcia A.E., et al. (1988). *Vegetales Empleados en Medicina Tradicional Norperuana*. Banco Agrario del Peru & Nacl. Univ. Trujillo: 54.
- Ratera E.L, Ratera M.O. (1980). *Plantas de la Flora Argentina empleadas en medicina popular*. Ed. Hemisferio Sur. Buenos aires, Argentina, Pp. 61-62.
- Rios C. (2000). *Cosmética Investe em Saúde*. Gaz Merc, Nov 24: C1, C6.
- Rocha E., Silva M. (1943). *Studies of Poisonous Plants in the state of Sao Paulo. Toxicologica Expts. on 27 plants which have been suspected of toxicity*. Arq. Inst. Biol. (Sao Paulo). **14**: 15.
- Saggese D. (1959). *Yerbas Medicinales Argentinas*. 10<sup>th</sup> Ed. Antognazzi & Co., Rosario.
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos*. Ed. R. Pinzón CAB-CYTED. Bogotá, Colombia.
- Simoes C.M.O., Falkenberg G.M., Auler Mentz L., Schenkel E.P., Amoros M., Girre L. (1999). *Antiviral Activity of South Brazilian Medicinal Plants Extracts*. Phytomedicine. **6** (3): 205-214.
- Soicke H., Leng-Peschlow E. (1987). *Characterization of Flavonoids from Baccharis trimera and their Antihepatotoxic Properties*. Planta Médica. **53** (1): 37-39.

- Sorarú S.B., Bandoni A.L. (1978). *Plantas de la Medicina Popular Argentina*. Albatros, Buenos Aires: 34-37.
- Spegazzini E. (2003). Comunicación Personal.
- Sprengel. (1826). *Syst. Veg.* **3**: 466.
- Stapel G., Menssen H.G. (1977). *Flavonoids and diterpenes from Baccharis articulata*. *Planta Med.* **32**: 20.
- Stapel G., Menssen H.G., Snatzke G. (1980). *Isolation and structure Elucidation of two Diterpenes from Baccharis articulata*. *Planta Med.* **39**: 366-374.
- Stehmann J.R., Brandao M.G.L. (1995). *Medicinal Plants of Lavras Novas (Minas Gerais, Brazil)*. *Fitoterapia.* **56** (6): 515-520.
- Suttisri R., Kinghorn A.D., Wright A.D., Sticher O. (1994). *Neo-clerodane diterpenoids and other constituents from Baccharis genistelloides*. *Phytochemistry* **35** (2): 443-446.
- Tonn C.E., Gianello J.C., Giordano O.S. (1979). *Bacrispine: a New Diterpene isolated from Baccharis crispa* Sprengel. *Anales de la Asociación Química Argentina* **67**: 1-8.
- Tonn C.E., Giordano O.S. (1980). *A new Furane Diterpenoid from Baccharis crispa* Sprengel. *Anales de la Asociación Química Argentina* **68**: 237-241.
- Tonn C.E., Gianello J.C., Guidugli F.H. (1987). *Some essential oil component of Baccharis crispa and Baccharis articulata*. *Anales Asoc. Quím. Argentina* **75**: 5-3.
- Toursarkissian, M. (1980). *Plantas Medicinales de la Argentina*. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.
- Vlientinck A.J. (1987). *Biological active substances from traditional drugs*. *Biologically Active Natural Products*. Pp. 33-47.
- Wachsman M.B., Coto E., Martino V. (1988). *Search for Antiviral Activity in Higher Plant Extracts*. *Fitoterapia.* **59** (5): 422-424.
- Wasicky R., Inti O., Barbieri E. (1942). *Quinine and Alkaloids in Brazil*. *An Fac. Farm. Odontol. Univ. Sao Paulo* **3**: 137.
- World Health Organization. (1993). *Good Manufacturing Practice for Pharmaceutical Products. Supplementary Guidelines for the manufacturer of herbal medicinal products*. Geneva, Switzerland.
- World Health Organization. (1996). *Guidelines for the assessment of herbal medicines*, WHO Technical Report Series, No. 863, WHO Geneva, Switzerland.
- World Health Organization. (1998<sup>a</sup>). *Quality control methods for medicinal plant materials*. Geneva, Switzerland.
- World Health Organization. (1998<sup>b</sup>). *Regulatory situation of herbal medicines: a worldwide review*. Geneva, Switzerland
- World Health Organization. (1998<sup>c</sup>). *Basic tests for drugs: pharmaceutical substances, medicinal plant materials and dosage forms*. Geneva, Switzerland.
- World Health Organization. (1999). *WHO monographs on selected medicinal plants*. Vol. I. Geneva, Switzerland.
- World Health Organization. (2000). *General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine*. Geneva, Switzerland.
- World Health Organization. (2002). *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002–2005*.
- Yelasco-Negueruela A., Perez-Alonso M.J., Esenarro Abarca G. (1995). *Medicinal Plants from Pampallakta: an Andean Community in Cuzco*. *Fitoterapia* **66** (5): 447-462.
- Zani C.L., Chaves P.P.G., Queiroz R., et al. (1995). *Brine shrimp lethality assay as a prescreening system for anti-trypanosoma cruzi activity*. *Phytomedicine.* **2** (1): 47-50.
- Zanon S.M., Ceriatti F.S., Rovera M., et al. (1999). *Search for Antiviral Activity of certain Medicinal Plants from Cordoba, Argentina*. *Rev. Lanitoamer. Microbiol.* **41** (2): 59-62.
- Zuloaga F.O. Monrone (Ed.). (1999). *Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina II*. <http://www.darwin.edu.ar/catalogo/indicevasculares.htm>.
- Zunino M.P., Newton M.N., Maestri D.M., Zygadlo J.A. (1998). *Essential oils of three Baccharis species*. *Planta Médica.* **64** (1): 86-87.
- Zunino M.P., Novillo-Newton M., Maestri D.M., Zygadlo J.A. (1997). *Composition of the Essential Oil of Baccharis crispa* Spreng. and *Baccharis salicifolia* Pers. *Grown in Cordoba (Argentina)*. *Flavour and Fragrance Journal.* **12**: 405-407.



