



UNIVERSIDAD DE BELGRANO

# Las tesinas de Belgrano

**Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Carrera de Farmacia**

**Parámetros botánicos y cromatográficos  
para la monografía farmacopeica de “cola de  
caballo”, *Equisetum Giganteum L.***

Nº 271

Carolina Stoliar

Tutora: Silvia Debenedetti

**Departamento de Investigaciones**  
Noviembre 2009



## Indice

1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. OBJETIVOS.....	8
3. ANTECEDENTES.....	8
3.1- De regulación de plantas medicinales .....	8
3.2- Situación actual de la Regulación de Plantas Medicinales en Argentina.....	9
3.3- Control de calidad de Drogas Vegetales y Medicamentos Fitoterápicos .....	10
3.4- Farmacopea .....	10
3.4.1- Historia de la Farmacopea Argentina.....	11
3.5- Antecedentes botánicos de <i>Equisetum giganteum</i> .....	14
3.6- Antecedentes Etnofarmacológicos y usos tradicionales de <i>Equisetum giganteum</i> .....	16
3.7- Antecedentes de actividad farmacológica de <i>Equisetum giganteum</i> .....	16
3.8- Antecedentes fitoquímicos de <i>E. giganteum</i> .....	17
3.9- Productos medicinales y alimenticios, actualmente comercializados en Argentina, que contienen <i>Equisetum giganteum</i> .....	17
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
4.1- Material vegetal.....	20
4.2- Técnicas histológicas .....	20
4.3- Análisis fitoquímico .....	20
4.3.1- Cromatografía en capa delgada (TLC) .....	20
4.3.2- Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) .....	21
4.3.3- Detección de Alcaloides.....	21
5. RESULTADOS.....	22
5.1- De Identidad Botánica .....	22
5.2- Reacciones de caracterización de alcaloides .....	22
5.3- Perfiles Cromatográficos de TLC .....	22
5.4- Cromatografía en capa delgada para alcaloides .....	23
5.5- HPLC:.....	24
6. CONCLUSIONES.....	26
7. BIBLIOGRAFÍA .....	28



## Agradecimientos

Mi especial agradecimiento a la Dra. Silvia Debenedetti por su invaluable apoyo, tiempo y dedicación en la elaboración de mi tesina.

A la Dra. E. Spegazzini perteneciente a la cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, por su gran colaboración.

Al Dr. Marcelo Vernengo y a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Belgrano, quienes facilitaron la realización de mi trabajo.

## Resumen

El presente trabajo tiene como objetivo general colaborar con el control de calidad de drogas vegetales autóctonas con amplio uso tradicional y actualmente utilizadas como materia prima de Medicamentos Fitoterápicos.

Estos medicamentos, al igual que cualquier especialidad medicinal, deben cumplir con los requisitos de seguridad, eficacia y calidad para constituir una alternativa terapéutica.

Los productos a base de plantas medicinales o sus extractos tienen cada vez más relevancia en nuestro país, sin embargo recién a partir del año 1998 por la Resolución Ministerial 144/98 se los incluyó en la categoría de medicamentos, denominándolos Medicamentos Fitoterápicos, y se establecieron las normas para su registro. Dentro de las normativas exigidas por el ANMAT se encuentra la realización del control de calidad de las materias primas de estos productos.

Las normas de calidad de las drogas se encuentran en las Farmacopeas. Actualmente las drogas vegetales figuran en todas las Farmacopeas del mundo estableciendo parámetros para su identificación botánica y fitoquímica, su pureza y su contenido en principios activos. En nuestro país se encuentra vigente la séptima edición de la Farmacopea Argentina, que incorporará monografías de drogas vegetales siguiendo los lineamientos de las Farmacopeas reconocidas mundialmente (USP/NF, Farmacopea Europea).

En la Argentina pocas o ninguna de las drogas vegetales nativas cuentan con los suficientes estudios botánicos y químicos para establecer parámetros para su control de calidad y poder ser incorporadas en la Farmacopea Argentina VII Ed. Por este motivo se hace necesario el estudio de botánico, fitoquímico y farmacológico de manera de colaborar con la confección de normas para su control.

En el presente trabajo se eligió una especie vegetal autóctona de mucho uso en medicina, como es la "cola de caballo" (*Equisetum giganteum* L.), muy usada tradicionalmente como diurético, y se desarrollaron métodos de control físico-químicos para determinar la calidad de la droga vegetal, así como también fijar parámetros de calidad botánica y fotoquímica de dicha droga. De esta manera colaborar con la preparación de una monografía para la Farmacopea Argentina VII edición, que cumpla con los requisitos actuales para el control de calidad de las plantas medicinales.

Las partes aéreas de *E. giganteum* fueron recolectadas en la Provincia de San Luis y Provincia de Buenos Aires y se desarrollaron descripciones macro y microscópicas a fin de establecer los elementos histológicos de diagnóstico en cortes transversos de tallos y polvo de *Equisetum giganteum*.

Para la caracterización química se desarrollaron métodos cromatográficos: cromatografía en capa delgada (TLC) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) del extracto metanólico de *Equisetum giganteum*; dicho extracto fue preparado de acuerdo a la metodología de Farmacopea Europea. El análisis por TLC fue realizado en FE: Sílica gel y FM: Acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético: agua (100:11:11:26) y comparado con el descripto para *E. arvense* (especie europea). Se desarrollaron métodos cualitativos por HPLC para la obtención de un perfil característico de flavonoides utilizando como estándares: ácido caféico, ácido clorogénico, hiperosido, isoquercitrina y rutina. También se realizaron métodos para la detección de alcaloides en la planta, se desarrolló cromatografía en capa delgada y reacciones de caracterización de alcaloides con diferentes reactivos, dando como resultado ausencia de los mismos.

Los resultados obtenidos posibilitan el control de calidad y contribuyen con la inclusión de "cola de caballo" en Farmacopea Argentina VII Ed.

## 1. Introducción

Desde tiempos remotos el hombre hizo uso de las plantas con fines alimenticios y medicinales, aprendiendo primero del comportamiento de los animales y luego a través de su propio instinto generado en base al conocimiento empírico. De esta manera supo distinguir entre especies beneficiosas y tóxicas, constituyendo el primer escalón en la extensa historia de la fitoterapia.

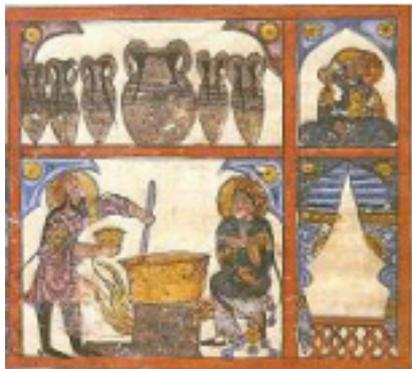
Usadas correctamente, las plantas medicinales proveen alternativas para prevenir y tratar numerosas condiciones de salud de forma efectiva y segura. Más aún, existen plantas medicinales y sustancias derivadas de éstas que pueden ayudar incluso a optimizar y mejorar diversas funciones del organismo.

Hasta 1828, cuando Friedrich Wohler produjo la síntesis de la urea a partir de una sustancia inorgánica, el cianato de amonio, el hombre no concebía como fuente de materia orgánica otra cosa que no fuese vegetal o animal. Esto significa que, sin tomar prácticamente en consideración el siglo XX, toda la historia de la medicina se encuentra íntimamente relacionada con las plantas medicinales.

El primer texto escrito sobre plantas medicinales se cree que data del año 7.000 antes de Cristo. Sus autores, los sumerios, grabaron en una serie de 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 (fito: planta, terapia: tratamiento).

También ya en el año 3000 a.C., China se dedicaba al cultivo de plantas medicinales, en épocas posteriores surgieron varios tratados de hierbas y plantas medicinales llamados Pen ts' ao que se describen 365 drogas derivadas de plantas, animales y minerales, como por ejemplo, el Ginkgo Biloba, árbol utilizado desde hace siglos en China, como ayuda para la circulación de la sangre y los pulmones.

Papiros hallados en Tebas siglos antes de nuestra era mencionan cientos de especies vegetales junto a sus efectos benéficos, como el ajo y el enebro que se vienen utilizando con fines medicinales hace unos 4.000 años.



Versión del herbario de Dioscórides del S.XIII

El médico griego Dioscórides, escribió en el siglo I AC una guía farmacéutica llamada *Materia Medica*, donde figuran aplicaciones curativas de más de 600 plantas y la cual se convirtió en libro de referencia obligada durante miles de años. Muchas de las acciones medicinales que describe Dioscórides nos son hoy familiares: el perejil es diurético, el hinojo estimula el flujo de leche y el marrubio blanco con miel es expectorante.

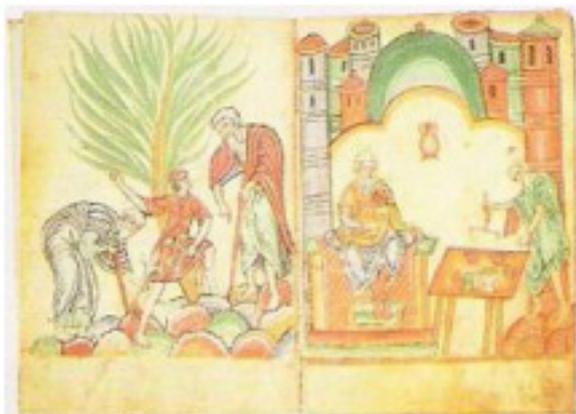
La medicina India se basa en el uso de plantas, igual que la China, donde conviven esta medicina milenaria y los más modernos remedios científicos.

El oscurantismo durante la Edad Media, con la represión impuesta por la Santa Inquisición, estancó e hizo retroceder la ciencia médica y con ello, el progreso en campo de la terapéutica. Sólo algunos monjes, traduciendo los textos clásicos, conservaron la potestad de ejercer el arte de la curación con plantas no sin correr el peligro de acabar en una hoguera por realizar "conjuros demoníacos" y siempre mal vistos por parte de la Iglesia (el papa Inocencio II llegó a prohibir el ejercicio de la medicina a los eclesiásticos al considerar que abandonaban sus prácticas religiosas al dedicar demasiado a los deberes médicos).

El contacto con los pueblos indígenas tras el descubrimiento de América enriqueció la farmacopea a partir del siglo XV.



Tratado de hierbas medicinales Indú



Manuscrito medieval sobre el trabajo de los herbolistas

Las terapias a base de plantas han sido relegadas durante tiempo a un segundo plano, a pesar de que los principales medicamentos surgen del ámbito natural, siendo el siglo XX el que marca el liderazgo de los productos sintéticos. La falta de bases científicas sólidas que avalaran la capacidad curativa de las plantas ha contribuido a ello.

Así fue que la historia de la Fitoterapia supo cosechar épocas de esplendor (medicina griega, árabe) y también épocas de oscurantismo (edad media), volviendo a tomar auge en nuestros días. Existen dos fuertes corrientes: una enraizada en el conocimiento ancestral y popular (medicina tradicional), otra apoyada por la metodología de investigación científica (fitomedicina). No son dos corrientes enfrentadas, sino más bien lineamientos enlazados. En una gran cantidad de casos

la ciencia moderna, a través de la farmacognosia, la fitoquímica y la biología molecular ha certificado y corroborado lo que el saber popular sostuvo y avaló durante siglos.

En la actualidad las principales firmas farmacéuticas del mundo estudian, investigan y desarrollan nuevos medicamentos provenientes del reino vegetal, ya sea a través del empleo de la planta entera o sus extractos, el aislamiento de sus principios activos o a través de la hemisíntesis química tomando como punto de partida una molécula vegetal. De esta manera es que el mercado de drogas derivadas de productos naturales crece día a día. Muchas de las drogas con efectos terapéuticos más importantes provienen de la naturaleza o son sintetizadas por el hombre imitando productos naturales. Una considerable cantidad de estos productos fue hallada siguiendo pistas dejadas hace mucho por pueblos que descubrieron las propiedades benéficas de plantas y animales.

Considerando su importancia en la terapéutica moderna, se debe señalar el hecho de que cerca del 60% de todas las medicinas contienen tales productos: antibióticos, vitaminas, hormonas, digitálicos, polifenoles, alcaloides, etc. Las investigaciones que se han llevado adelante durante varios años en los países industrializados, muestran que uno o varios principios activos presentes en plantas superiores se encuentran en el 25% de las medicinas prescritas. Ya en 1980, el mercado mundial de medicamentos a base de productos naturales había sido estimado en 8 mil millones de dólares (Farnsworth, 1977 y 1979, Príncipe 1989, Wijsekera, 1991).

Existen en el mundo unas 250.000 especies vegetales de las cuales sólo se conoce el 10% de ellas, considerándose como medicinales alrededor de 12 mil especies en total.

De acuerdo con cifras emitidas por la organización mundial de la salud (Akerle, 1993), el 80% de la población mundial utiliza plantas medicinales para el abordaje de sus problemas primarios de salud, ya sea dentro de las estrategias de cobertura sanitaria implementadas por los diferentes gobiernos, así como por propia utilización arraigada en costumbres ancestrales y culturales.

El resurgir de la fitoterapia esta dado en parte por la ventaja que esta posee frente a los medicamentos de síntesis. Los principios activos están equilibrados en las especies vegetales por la presencia de sustancias complementarias que se potencian entre si, limitando los efectos secundarios. Los medicamentos fitoterápicos ejercen un efecto más suave y profundo en el organismo sin agredirlo.

Nuestra época está marcada por la búsqueda de una vida más sana y una mejora de su calidad, para conseguirlo el hombre se ha dado cuenta de la necesidad de volver a los valores esenciales que siguen estando básicamente en la naturaleza.

Por otra parte, se tiene un mayor conocimiento químico, farmacológico y clínico de las drogas vegetales y sus productos derivados. Así fueron desarrollándose nuevas formas de preparación y de administración de las drogas vegetales y sus extractos, así como también métodos analíticos que garantizan un mejor control de calidad de dichos productos.

En la actualidad, cada día se llevan a cabo más descubrimientos científicos que confirman el enorme potencial curativo que poseen las plantas y que están transformando la fitoterapia en una práctica muy distinta de lo que era. Cuando hablamos de descubrimientos científicos en torno a las plantas medicinales hay que aclarar que no se trata meramente de un redescubrir antiguos usos. En años recientes, las investigaciones pusieron en práctica aplicaciones insospechadas para muchas plantas y sustancias derivadas de estas. También han surgido nuevas formas de preparación y de disponibilidad. Hoy encontramos extractos de plantas medicinales en forma de cápsulas, tabletas y otras formas desconocidas para nuestros antecesores.

En la Argentina las plantas medicinales autóctonas aun no han sido investigadas en forma integral de manera de poder ser consideradas materias primas de medicamentos.

## 2. Objetivos

Los objetivos del presente trabajo son, a partir de la elección de una especie vegetal autóctona con uso tradicional y de amplio empleo en terapéutica, como es la "Cola de Caballo" (*Equisetum giganteum*), desarrollar métodos de control físico-químicos para determinar la calidad de la droga vegetal. Así como también, fijar parámetros de calidad botánica y fitoquímica de dicha droga. De esta manera colaborar con la preparación de una monografía para la Farmacopea Argentina VII edición, que cumpla con los requisitos actuales para el control de calidad de las plantas medicinales.

## 3. Antecedentes

### 3.1- De regulación de plantas medicinales

Se ha determinado que la Fitomedicina cumple un papel crucial en la Atención Primaria de la Salud. Desde 1976 en sus reuniones periódicas, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha ido promoviendo el uso de las medicinas tradicionales en los distintos países. Como ya señalamos anteriormente, se ha determinado que alrededor del 80% de la población mundial utiliza la medicina tradicional para atender las necesidades primarias de asistencia médica. Analizando el interés por el estudio y empleo de medicina tradicional en la asistencia médica y el reconocimiento de la importancia de las plantas medicinales para el sistema de salud de países en desarrollo, la OMS acordó promocionar la medicina tradicional y establecer pautas para la identificación de medicamento herbarios que sean inocuos y eficaces.

Los factores determinantes para el desarrollo de estrategias en cuanto al uso de plantas medicinales como recursos sanitarios en la medicina tradicional o no convencional, según la OMS, 1998b son:

- Uso tradicional (por razones étnicas, culturales, etc....) con fines terapéuticos.
- Creciente utilización de productos a base de hierbas medicinales: regreso a lo "natural" (medicamentos fitoterápicos).
- Descubrimiento de efectos adversos en medicamentos de síntesis.
- Aumento de la automedicación.
- Conocidos efectos adversos e intoxicaciones de plantas medicinales.
- La atención primaria de la salud de hasta un 80% de la población de los países en desarrollo se basan en la medicina tradicional, complementaria y alternativa (OMS).
- Presencia en el mercado de suplementos dietarios con ingredientes herbarios (si bien no son considerados fitoterápicos son vinculados, a través de publicidad, con distintas patologías).

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. Así se sugirió que la OMS debería preparar un modelo de guía que contuviese elementos necesarios y fundamentales para legislar y registrar este tipo de productos. De esta manera en el año 1991 la Organización Mundial de la Salud creó una guía, "Guidelines for the Assessment of Herbal Medicines" que 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.), también se hace referencia al uso tradicional de una hierba (a través de literatura histórica, medica y etológica bien fundamentada), la forma farmacéutica mas 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 case de hierbas de dudoso historial, revisión bibliográfica a consultar, etc.

La estrategia de la OMS sobre las medicinas tradicionales comprende cuatro objetivos, analizados desde el uso de plantas medicinales:

1. Desarrollo e implantación de políticas nacionales: en la determinación de estas políticas nacionales es donde se busca conciliar ambos paradigmas de salud, el convencional con el tradicional, a los efectos de inferir las posibilidades y restricciones de la medicina tradicional en el contexto hegemónico del Sistema Oficial de Salud.
2. Fomentar su seguridad, eficacia y calidad: la seguridad está relacionada con la aparición de eventos adversos, la eficacia con potencia y selectividad en el tratamiento de la dolencia y la calidad no debe restringirse al producto medicinal en sí mismo, sino que debe incluir la totalidad del tratamiento con la mejora de la calidad de vida del paciente.
3. Garantizar su accesibilidad: imprescindible tanto desde el punto de vista geográfico como económico.
4. Uso racional: garantiza la optimización en la utilización del recurso.

Actualmente existen requerimientos de seguridad, calidad y eficacia a los cuales deben ajustarse los medicamentos fitoterápicos como cualquier otro medicamento.

### 3.2- Situación actual de la Regulación de Plantas Medicinales en Argentina

Los medicamentos fitoterápicos tienen cada vez más relevancia en nuestro país, sin embargo recién a partir de 1998 se comenzó a regular adecuadamente el uso de las plantas medicinales o productos a base de ellos.

Los medicamentos fitoterápicos, al igual que todos los medicamentos, son regulados por la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) desde 1998, por la resolución 144/98 y sus disposiciones reglamentarias, teniendo en cuenta las recomendaciones de la OMS respecto al control de calidad y buenas prácticas de manufactura. Con lo cual, los medicamentos fitoterápicos, como todo medicamento, están actualmente regulados y controlados por el INAME (Instituto Nacional de Medicamentos).

La Resolución 144/98 se encuentra enmarcada en la Ley N° 16.463, Decreto 150/92 al igual que el resto de los medicamentos y especialidades medicinales.

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, y 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."
- La ANMAT establece la figura de Medicamentos Fitoterápicos (Resolución Ministerial 144/98) por la cual se define como el medicamento formado por drogas vegetales puras o mezclas de estas y sus derivados (extractos, jugos, exudados, etc.) tradicionalmente usados con fines medicinales; y que no contengan sustancias químicas definidas o sus mezclas, aun cuando fuesen constituyentes aislados de plantas, salvo los casos que así se justifiquen.
  - La Disposición reglamentaria ANMAT 2671/99, comprende la habilitación de establecimientos elaboradores, envasadores/fraccionadores e importadores de medicamentos fitoterápicos, definiendo cada uno de estas categorías y estipulando los requisitos de la habilitación de estos establecimientos.
  - Disposición 2672/99, es la Guía de las Buenas prácticas de fabricación y control de productos fitoterápicos.
  - Disposición 2673/99, regula los requisitos necesarios para el registro de un medicamento fitoterápico. Incluye el Anexo de plantas medicinales tradicionales y criterios de aceptabilidad como para ser registrado.
  - Disposición 1788/00, constituye un listado de plantas medicinales que quedan excluidas en la figura de medicamento fitoterápico.
  - La ANMAT tiene normativa sobre Farmacovigilancia. Los eventos adversos correspondientes a plantas medicinales son reportadas y evaluadas como cualquier fármaco.

### 3.3- Control de calidad de Drogas Vegetales y Medicamentos Fitoterápicos

Una Planta medicinal es toda especie vegetal en la que toda o una parte de la misma posee actividad fisiológica; y se denomina Droga vegetal (según Resolución 144/98) a las plantas enteras o sus partes, molidas o pulverizadas (flores, frutos, semillas, tubérculos, cortezas, etc.) frescas o secas, así como los jugos, resinas, gomas, látex, aceites esenciales o fijos y otros componentes similares, que se emplean puras o mezcladas en la elaboración de medicamentos fitoterápicos. Estos medicamentos, al igual que cualquier especialidad medicinal, deben cumplir con los requisitos de seguridad, eficacia y calidad para constituir una alternativa terapéutica.

Las plantas elaboran una gran variedad de compuestos. Están los compuestos elaborados por su metabolismo primario, como los hidratos de carbono, proteínas y grasas; y los elaborados por su metabolismo secundario, que constituyen una gran cantidad de sustancias químicas que tienen la propiedad de ejercer efectos fisiológicos (alcaloides, terpenos, polifenoles), siendo mayoritariamente responsables de las acciones y efectos farmacológicos que poseen las drogas vegetales, por lo que se los denomina Principios Activos.

Los productos fitoterapéuticos al estar constituidos por drogas vegetales o sus extractos poseen composición química variable, a diferencia de las especialidades medicinales los cuyos principios activos son compuestos químicos puros de síntesis o naturales. Estas características de los medicamentos a base de drogas vegetales 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 se definen 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).

Una única hierba puede contener muchos compuestos químicos (productos del metabolismo vegetal), lo que se complica aun más cuando se trata de mezclas de hierbas o mezclas de extractos. En muchos casos a pesar de tener un estudio fitoquímico y farmacológico bastante completo todavía se encuentra en discusión cual o cuales son los compuestos responsables de su actividad terapéutica

Generalmente, varios compuestos o grupos de compuestos contribuyen en la eficacia terapéutica de la droga vegetal ya sea en forma sinérgica (muchas veces con diferentes mecanismos de acción), colaborando en su biodisponibilidad, disminuyendo efectos colaterales, etc. Por lo que el control de calidad de la materia prima en los medicamentos fitoterapéuticos es uno punto complicado. Los productos del metabolismo dependen de factores externos (condiciones climáticas, condiciones de almacenamiento, época de recolección, técnicas de cultivo, luz, etc.) 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 lotes de plantas.

Para mantener constante la actividad de un medicamento elaborado con drogas vegetales, la proporción entre los componentes debe mantenerse constante dentro de cierto límite, lo cual es difícil, especialmente en drogas vegetales que provienen de la recolección silvestre de plantas dado que, al no poder controlar algunos parámetros edáficos, climáticos, etc., como en las plantas de cultivo, estas presentan una gran variabilidad con relación al contenido de sus compuestos activos y secundarios.

También influyen las condiciones de secado y de conservación del material vegetal.

Por todos estos motivos es que los métodos de control de calidad no pueden ni deben ser los mismos que para los medicamentos de síntesis.

### 3.4- Farmacopea

Las farmacopeas son códigos de normas de calidad indispensables para normalizar el mercado farmacéutico y establecer condiciones de calidad para que puedan distribuirse legalmente en el mercado.

Según ANMAT la: Farmacopea o Codex medicamentarius es el libro oficial donde se describen las drogas y los medicamentos necesarios o útiles para el ejercicio de la Medicina y la Farmacia, en sus distintos aspectos, incluyendo el origen, la preparación, la identificación, la pureza, la valoración y las demás condiciones que aseguren la uniformidad y calidad.

Es de uso obligatorio para todas las farmacias, droguerías, empresas elaboradoras e importadoras y establecimientos comercializadores y/o distribuidores de drogas y medicamentos, como también de productos médicos que por sus características deban responder a especificaciones de la Farmacopea Argentina.

Suele hacerse referencia de la farmacopea como "la Biblia de los farmacéuticos", pero para que esta sea útil realmente, debe estar sujeta a cambios periódicos, acorde a los progresos de la ciencia, tratando de mantenerla al día, de ahí las frecuentes revisiones que va sufriendo la misma.

### 3.4.1- Historia de la Farmacopea Argentina

La primera vez que se empleo el termino "Farmacopea" como designación de una norma oficial, fue en el año 1573 (Farmacopea Augustana). Francia fue la primera nación en utilizar la palabra "Codees" para designar la farmacopea, indicando con esa denominación el carácter obligatorio e imperativo de esta clase de obras (Viglione, 1999).

En nuestro país, desde la colonización española han regido sucesivamente distintas Farmacopeas. Los primeros intentos para la reglamentación y control de las drogas y medicamentos se remontan a abril de 1822. En ese año Bernardino Rivadavia reglamento el ejercicio de la medicina y farmacia, estableciendo que "...las medicinas en las boticas será en todo arreglada a la Farmacopea Españolas cuarta edición". Esta reglamentación de la "medicina, farmacia y anexos" crea además el tribunal de medicina y farmacia. En su articulo 28 denominado "de la farmacia y profesiones de ella" dice: "el profesor que se halle en el caso de hacer uso de una formula que no explique la farmacopea Española de la IV edición, deberá expresar el modo de preparar el medicamento en la propia receta que la ordena y sin este requisito no será despachada por boticario alguno". Esta farmacopea rigió hasta poco después de la suspensión del tribunal de medicina. En la práctica el Código Español era muy poco consultado.

En 1852 el Consejo de Higiene, establece un nuevo código: el francés, "para la composición de los remedios oficiales se deberá seguir la ultima Farmacopea de Paris, mientras se organiza una farmacopea bonaerense, no obstante se despachara por otras farmacopeas para la prescripciones de los facultativos"



En 1877 en Buenos Aires fue sancionada la ley que reglamentaba el ejercicio de "la medicina, farmacia y demás ramas del arte de curar". En el capítulo 3, titulado "Ejercicio de la Farmacia" incluye el articulo 16º -"Para la composición de los medicamentos oficiales se deberán seguir las formulas de la Farmacopea Francesa, edición de 1866, mientras no se organice una farmacopea bonaerense, no obstante se podrá despachar por cualquier otra farmacopea siempre que lo indique el medico en su receta".

Así fue que la posesión de una farmacopea propia se convirtió en un motivo de ambición nacional. En la actualidad, alrededor de 35 países del mundo cuentan con Farmacopeas propias, siete son americanas: Argentina, Brasil, Chile, estados Unidos, México, Paraguay y Venezuela. Los restantes han adoptado la Farmacopea Francesa, la estadounidense o la británica.

Desde la fundación de Buenos Aires en 1856, la Asociación Farmacéutica Bonaerense, entidad origen de la actual Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica, trabajó afanosamente para conseguir una Farmacopea Nacional, llegando a proponer a las autoridades dos sucesivos proyectos, el de Miguel Puiggari en 1881 y el de Estanislao Zubieta, publicado en 1890 con el nombre: Formulario Oficial y Magistral o Farmacopea Argentina. Aunque no llegaron a oficializarse, estos antecedentes sirvieron para apurar la decisión del Poder Ejecutivo Nacional de satisfacer esa necesidad.

La primera edición de la Farmacopea Argentina fue declarada obligatoria por la Ley N ° 3041 del año 1893 y puesta en vigencia por decreto en 1899, para todas las farmacias establecidas en el país. La necesidad de mantenerla actualizada, de forma tal que responda a los constantes progresos de la terapéutica, determino que el Poder Ejecutivo Nacional estableciera una revisión periódica quinquenal.

La segunda edición entro en vigencia en el año 1923, la tercera en 1943, obra de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina como las sucesivas; la cuarta de 1950; la quinta, 1966 y la sexta de 1978.

Después de un largo período de inactividad y por la Resolución N ° 297 del 22 de Julio de 1996, el Ministro de Salud y Acción Social encomendó a la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) la integración y reactivación del funcionamiento de la Farmacopea Argentina, para la redacción de la VII Edición, la cual se encuentra vigente en este momento.

La Séptima Edición de la Farmacopea Argentina esta formada por cuatro volúmenes de publicación anual cada uno y cada volumen esta comprendido por seis partes:

- Primera parte: Introducción y advertencias generales.
- Segunda parte: Monografías de drogas y sus preparados.
- Tercera parte: Monografías de excipientes.
- Cuarta parte: Métodos generales de análisis.
- Quinta parte: Textos de información general.
- Sexta parte: Reactivos, soluciones y tablas.

En las ediciones anteriores de la Farmacopea Argentina se incluyeron algunas monografías de drogas Vegetales, los ensayos para certificar su identidad y calidad se basaban exclusivamente en sus características macroscópicas y microscópicas, y solo en el caso de drogas vegetales muy activas se valoraba el contenido de principios activos. En la actualidad dichos ensayos resultan insuficientes en cuanto a las reglamentaciones vigentes de control de calidad de drogas vegetales.

Para la edición de la FA VII, se creó la Subcomisión de Medicamentos Fitoterápicos, a cargo de la redacción de monografías que cumplieran con los parámetros internacionales propuestos para la evaluación de drogas. Tales parámetros figuran actualmente en las monografías de las farmacopeas internacionales reconocidas (*USP/NF, Farmacopea Europea, Farmacopea Francesa, Farmacopea Italiana*) y son los siguientes:

- Características macroscópicas y microscópicas.
- Caracterización química por cromatografía en capa delgada y/o cromatografía gaseosa, HPLC (cromatografía líquida de alta presión).
- Valoración de Principios Activos.
- Ensayos de pureza

Hasta el momento pocas o ninguna de las drogas vegetales nativas cuentan con los suficientes estudios botánicos y químicos para establecer parámetros para su control de calidad y poder ser incorporados en la Farmacopea Argentina VII Ed.

## Monografía de *Equisetum Giganteum* que se encuentra en VI Edición de la Farmacopea Argentina

Disuélvase 0,01 gramo de codeína en 5 mililitros de ácido sulfúrico; el color de la solución no deberá ser más intenso que el del Líquido de Comparación (pág. 1110) (*sustancias fácilmente carbonizables*).

Añádase a 5 mililitros de una solución al 2 por ciento, P/V, de codeína, en solución 0,1 N de ácido clorhídrico, 2 mililitros de una solución al 1 por ciento, P/V, de nitrito de sodio; agítese; déjese en reposo durante quince minutos, y agréguese 3 mililitros de amoníaco diluido (R); la coloración amarilla que se produce, no deberá ser más intensa que la obtenida con 5 mililitros de una solución al 0,002 por ciento, P/V, de morfina anhidra en solución 0,1 N de ácido clorhídrico y tratada de igual forma (*límite de morfina*).

**Valoración.** — Pésese exactamente alrededor de 0,27 gramo de codeína previamente desecada; disuélvase en 30 mililitros de ácido acético y valórese con solución 0,1 N de ácido perclórico, usando 0,4 mililitro de solución de  $\alpha$ -naftolbencina (R) como indicador. Efectúese un ensayo en blanco con todos los reactivos, usados en las mismas proporciones, y corríjase la valoración anterior.

Cada mililitro de solución 0,1 N de ácido perclórico equivale a 0,0299 gramo de  $C_{18}H_{21}O_3N$ .

**Conservación.** — En recipientes de cierre perfecto y al abrigo de la luz.

### Dosis máximas

Por dosis: 0,05 gramo

En 24 horas: 0,2 gramo

## COLA DE CABALLO *Equisetum*

La "cola de caballo" está constituida por las partes aéreas del *Equisetum giganteum* Linné (*Equisetaceae*), que habita en casi todo nuestro país. Existen especies similares, con la misma denominación vernácula. No debe contener más de 2 por ciento de materia orgánica extraña.

**Caracteres generales.** — Planta alta y robusta, con tallos estériles, de diámetro variable entre 2 y 15 milímetros, cilíndricos, glabros, de color verde claro, derechos, ramosos, recorridos por 24 a 30 estrías; fistulosos y notablemente canaliculados, de superficie rugosa y áspera debido a la incrustación de sílice de algunas células epidérmicas que sobresalen. Ramas verticiladas en nudos de ramas primarias. Nudos de ramitas secundarias provistos de vainas dentadas de 24 a 30 lacinias negro-violáceas, algo escariosas y terminadas en forma espinosa; de base bordeada-membranosa, formada por la soldadura parcial de un conjunto de hojitas verticales. Internodios de 1,5 a 12 centímetros.

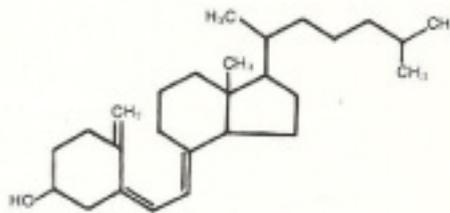
El examen de un corte transversal del tallo de "cola de caballo" permite distinguir: una epidermis formada por células incrustadas fuertemente de sílice, con numerosos estomas localizados en el fondo de los surcos o estrías y dispuestos en bandas de 5 hileras; debajo de la epidermis, al nivel de los bordes salientes, existe una zona de células esclerosadas. El parénquima cortical está formado por células poliédricas grandes y provisto de grandes lagunas que representan los canales valleculares; la endodermis con células achatadas; el cilindro central con haces liberoleñosos periféricos y provisto de laguna o canal carinal por desaparición de los vasos internos. El centro medular muestra una gran laguna o un canal medular.

## COLECALCIFEROL Cholecalciferolum

Sinonimia. — 7-dehidrocolesterol activado. Vitamina D<sub>3</sub>.

C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O

P. Mol.: 384,65



El colecalciferol es 5,7-colestadien-3β-ol activado, sustancia de actividad antirraquítica obtenida por hidrólisis del derivado 3,5-dinitrobenzoilo separado del 7-dihidrocolesterol irradiado con luz ultravioleta, o aislada de algunos productos naturales.

**Caracteres generales.** — Cristales blancos e inodoros. Inestable en el aire y en la luz.

Insoluble en agua destilada; soluble en alcohol, en acetona, en cloroformo y en aceites vegetales.

**Ensayos de identificación y de pureza.** — Disuélvase alrededor de 0,0005 gramo de colecalciferol, en 5 mililitros de cloroformo; agréguese, 0,3

### 3.5- Antecedentes botánicos de *Equisetum giganteum*

Existen 15 especies vivas del género *Equisetum* y todas comprenden el grupo de plantas llamadas comúnmente "cola de caballo" en referencia a las raíces negras del *Equisetum* que recuerda a la cola de un caballo (Hauke, 1993).

Las especies *Equisetum* pertenecen a las Pteridophytes, división que comprende plantas vasculares que se reproducen sólo por esporas, ya que carecen de semillas, flores y frutos. Son las primeras plantas vasculares, y aparecen probablemente en el período Silúrico superior, en la Era Paleozoica (Pryer et al., 2001).

El género *Equisetum* es el único representante vivo de lo que alguna vez fue una abundante y variada subdivisión: Sphenophyta (Scagel et al., 1984).

La Cola de Caballo pertenece a la familia Equisetaceae y son morfológicamente muy distintivas: plantas con tallos monopodiales, fuertemente silicificados; ramas verticiladas con los nudos y los entrenudos notorios. Los tallos son fotosintetizadores y las hojas, escamosas muy reducidas presentes en los nudos del tallo. Los esporangios se reúnen en un "cono" de posición apical, en los tallos fértiles. Todas las especies *Equisetum* son herbáceas perennes, rizomatosas.

El crecimiento rizomal es un factor muy importante en la ecología de la planta. Un solo sistema rizomatoso puede cubrir varios metros cuadrados de superficie (Hauke, 1963). Es probable que el extenso y vigoroso sistema rizomatoso de *Equisetum* haya sido un factor determinante en la supervivencia y distribución del género (Hauke, 1969).

También pueden formarse nuevos clones a partir de fragmentos de ramas (Wagner and Hammitt, 1970; Schaffner, 1931; Praeger, 1934). Además, la reproducción vegetativa le permiten a los clones de *Equisetum* persistir y distribuirse incluso en ausencia de reproducción sexual (Hauke, 1963).

Una habilidad muy característica de las especies *Equisetum* es la de tomar y acumular silicio en sus tejidos. Este elemento parece ser necesario para su crecimiento. El sílice se acumula en la epidermis de la planta, dándole una textura áspera (Parsons and Cuthbertson, 1992). Esta característica es probablemente muy importante en la explicación de la aparente no interacción entre insectos y hongos y especies del género *Equisetum* (Hauke, 1969a)

Hoy en día las especies *Equisetum* están naturalmente distribuidas por casi todo el mundo, creciendo en zonas húmedas, siendo notablemente ausentes en Australia y Nueva Zelanda (Scagel et al., 1984) y en las islas del Pacífico central y las islas del Atlántico Sur (Schaffner, 1930).

Las especies del género *Equisetum* se encuentran divididas en dos subgéneros:

Subgénero *Equisetum*, con 8 especies (*E. arvense*, *E. pratense*, *E. sylvaticum*, *E. fluvialie*, *E. palustre*, *E. bogotense*, *E. diffusum*, y *E. talmateia*) y subgénero *Hippochaete*, con 7 especies (*E. giganteum*, *E. myriochaetum*, *E. ramosissimum*, *E. leavingatum*, *E. Hyemale*, *E. variegatum* y *E. scirpoides*).

Existen algunas diferencias primarias entre los dos subgéneros. Las especies del subgénero *Equisetum* tienen estomas al ras de la superficie epidérmica, mientras que los miembros del subgénero *Hippochaete* tienen estomas hundidos debajo de la superficie epidérmica.

Las ramas del subgénero *Equisetum* son de corta vida, relativamente suaves y tienden a ser regularmente ramificadas, mientras que las ramas del subgénero *Hippochaete*, con pocas excepciones, son de vida larga, duras y fibrosas, no ramificadas o regularmente ramificadas (Hauke, 1963, Hauke, 1969).

El número de cromosomas (n=108) es igual para todas las especies *Equisetum*, pero el subgénero *Hippochaete* tiene cromosomas más largos que el subgénero *Equisetum* (Hauke, 1978).



El subgénero *Equisetum* contiene a la especie *E. arvense*, popular por su gran uso medicinal en Europa y el mundo. Las especies de este grupo tienden a ser muy ramificadas y pueden por lo tanto parecer arbustos. Solo una especie de este subgénero, *E. bogotense* se encuentra en el hemisferio sur. Las otras 7 especies de este son encontradas en el Hemisferio Norte (Hauke, 1963).

El subgénero *Hippochaete* incluye a las especies *Equisetum* generalmente llamadas "yerba del platero" por su áspera epidermis impregnada de sílice. Las ramas de las plantas de este subgénero fueron usadas por los colonos americanos para limpiar y pulir metales (Scagel et al., 1984).

Dentro de este grupo se encuentran las dos especies de *Equisetum* más grandes, *E. giganteum* y *E. myriochaetum*, que pueden llegar a medir entre 2 y 5 metros de altura.

Este subgénero está distribuido sobre grandes áreas en todos los continentes, y al igual que el subgénero *Equisetum* están ausentes en Australia y Nueva Zelanda. El subgénero *Hippochaete*, como un todo, va desde el norte de la isla Ellsmere hasta el sur de Argentina (Hauke, 1963).



Las Colas de Caballo gigantes tienen un gran interés botánico, ya que pueden llegar a ser el género de plantas vasculares vivientes más antiguo del mundo (Hauke, 1963), los botánicos saben relativamente poco acerca de estas plantas además de su taxonomía y anatomía.

Son plantas altas, perennes, de apariencia primitiva, que se extienden desde el centro de México hasta el centro de Argentina y Chile. Estas plantas maravillosas son los miembros más grandes del pequeño y muy particular género *Equisetum*. Son plantas sin flor que se reproducen vía esporas. Existe un híbrido entre las dos especies de Cola de Caballo gigantes, *E. x schaffneri* (Hauke, 1963). La otra especie de *Equisetum* que se puede encontrar en el hemisferio sur es la diminutiva *E. bogotense*. Como todas las Equisetáceas, las Colas de Caballo gigantes se extienden vegetativamente vía un extenso sistema rizomal, generalmente formando largos clones. Los sistemas rizomatosos les permiten a estas plantas colonizar rápidamente áreas vía reproducción vegetativa y sobrevivir aun en condiciones adversas (Hauke, 1966).



### 3.6- Antecedentes Etnofarmacológicos y usos tradicionales de *Equisetum giganteum*

*Equisetum giganteum* es una especie autóctona de amplio uso tradicional.

Nombres vulgares con los que se la conoce en Argentina: cola de caballo, yerba del platero, limpia plata, chicote de fraile (en Mendoza), "huiñal" (en lengua mapuche), pigo (en lengua Toba).

En Brasil se la conoce como: cavalinho gigante, rabo de cavalo, cauda de cavalo.

En México: carricillo, cañuela, carrizo.

En Chile: hierba de la plata, hierba del platero, limpia plata.

Los usos medicinales de esta planta tienen una historia que data desde la preconquista Inca de Perú (Tryon, 1959) y es actualmente muy usada en medicina.

El principal uso tradicional es con fines diuréticos, siendo el uso oral de extractos acuosos de las partes aéreas los más utilizados (Bandoni et al., 1972; Murillo et al., 1983; Quiroga et al., 2001; Ramirez et al., 1988; Davyt et al., 1991; Alonso Paz et al., 1995; Caceres et al., 1987; Gonzalez et al., 1993). También se encuentran registros de muchos otros propósitos medicinales:

Los extractos acuosos han sido siempre muy usados como tópicos en el área dermatológica, por ejemplo: como astringente (Bandoni et al., 1972; Ramirez et al., 1988; Gonzales et al., 1993; Quiroga et al., 2001), como cicatrizante (Ramírez et al., 1988), para el lavado de la piel (Alonso Paz et al., 1995), en el tratamiento de dermatitis e inflamación (Caceres et al., 1987a), en casos de úlceras (Caceres et al., 1987b), abscesos y forúnculos (Caceres et al., 1987 a) y para infecciones de la piel e irritaciones entre otras (Caceres et al., 1987b).

Como antidiarreico (uso oral, infusiones de las partes aéreas de la planta) (Ramirez et al., 1988; Perez, Anesini, 1994).

Para tratar enfermedades de los riñones, como por ejemplo cálculos, en forma de infusiones o decocciones (Murillo, 1983; Caceres et al., 1987; Ramirez et al., 1988), en el tratamiento de enfermedades del hígado (Murillo, 1983; Davyt et al., 1991; Ramirez et al., 1995), y en enfermedades del estómago (dentro de las cuales se mencionan úlceras, cáncer y en problemas de digestión ya que tendría funciones eupépticas) (Murillo, 1983; Caceres et al., 1987; Gonzalez et al., 1993).

En el tratamiento de hemorragias internas, uso oral en forma de infusión (Murillo, 1983).

En casos de infecciones tanto del tracto respiratorio como del urinario, en forma de decocciones (Perez, Anesini, 1994).

Como hipotensor (Caceres et al., 1987a).

En oftalmología, como baños oculares (Gonzales et al., 1993).

Se encontraron registros de usos en poblaciones rurales como abortífero (Moreno, 1975).

Usado para tratar heridas y contusiones (Caceres et al., 1987; Gonzalez et al., 1993).

### 3.7- Antecedentes de actividad farmacológica de *Equisetum giganteum*

Esta especie ha sido estudiada desde el punto de vista farmacológico por varios autores. Muchos de estos trabajos comprueban algunas de los usos etnomédicos que se le atribuyen.

A continuación se recopila la información científica publicada sobre las actividades farmacológicas comprobadas de los extractos de *E. giganteum*:

Ensayos en animales comprobaron la actividad diurética de los extractos metanólicos (Perez Gutierrez et al., 1985) y acuosos (Caceres et al., 1987a) de las partes aéreas de la planta.

Existen numerosos ensayos sobre la actividad antibacteriana y antifúngica. Se encontró sólo una débil actividad en las siguientes bacterias: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosai* (Alonso Paz et al., 1995).

Se encontró una débil actividad antiviral contra el virus HIV de los extractos acuosos de *E. giganteum* en cultivos de células (Abdel-Malek et al., 1996).

Los extractos acetato de etilo mostraron actividad en el factor de crecimiento nervioso y los extractos metanólicos actividad débil, en estudios utilizando cultivos de células (PC12) (Li et al., 1999).

Se vio gran actividad de los extractos butanólicos de la planta como relajantes musculares suaves en pruebas realizadas en conejos, y una moderada actividad cuando se ensayaron los extractos de acetato de etilo y una débil actividad con los extractos acuosos (Matsunaga et al., 1997).

Un estudio controlado realizado con extractos preparados según el uso tradicional de *Equisetum giganteum* mostraron un efecto hipoglucemiante significativo (no como resultado de un incremento de secreción de insulina) en la diabetes tipo II. (Revilla et al., 2002)

### 3.8- Antecedentes fitoquímicos de *E. giganteum*

La búsqueda en distintas bases de datos (NAPRALERT, PubMed, MedLine, SienceDirect, Scirus) reflejan la inexistencia de trabajos sobre la composición química de *Equisetum giganteum*. El único trabajo encontrado menciona la presencia de alcaloides como resultado de reacciones de caracterización (Davyt et al., 1991).

### 3.9- Productos medicinales y alimenticios, actualmente comercializados en Argentina, que contienen *Equisetum giganteum*

La Cola de Caballo es una planta muy utilizada en medicina. La droga vegetal y sus extractos forman parte de numerosas preparaciones y medicamentos fitoterápicos en Argentina y frecuentemente es utilizada en reemplazo de la especie tan popular *E. arvense* (especie europea) con los mismos fines medicinales que ésta, principalmente como diuréticas.

Muchos de los productos existentes en el mercado mencionan en su rotulo la presencia de *E. arvense* y puede sospecharse que esta especie sea reemplazada en la realidad por *E. giganteum*.

La importancia de *E. giganteum* en el mercado farmacéutico se ve reflejada en la variedad y cantidad de productos que la contienen bajo la forma de medicamentos fitoterápicos y suplementos dietarios.

Productos que contienen "Cola de Caballo" clasificados según forma farmacéutica:

#### Tisanas

- NATURE COMPLEX REDUC-TE (Laboratorio Prater)  
Venta Libre.  
Industria Argentina.  
Composición: Contiene: Boldo; Trique; **Equisetum**; Tilo; *Stevia rebaudiana*. No contiene azúcar. Es el primer té edulcorado naturalmente con hierba dulce (*stevia rebaudiana*).  
Acción Terapéutica: Té modelador 100% natural sin edulcorante sintético.  
Presentaciones: Envase conteniendo 20 bolsitas (30 g).
- ADISOL HEREDIA (Lab.Heredia).  
Venta Libre  
Industria Argentina  
Composición: Cada 100 g contiene: Boldo (Boldea-boldus) (Molina Looser) 10 g; Fucus (*Fucus Vesiculosus* L) 10 g; Sen (*Cassia angustifolia*) 10 g; Paico (*Chenopodium ambrosioides* L) 10 g; **Cola de Caballo (*Equisetum giganteum* L) 10 g**; Pezuña de Vaca (*Bauhinia candicans*, Beath) 10 g; Peperina (*Minthostachys verticillata* Epling) 10 g; Ñangapyrí o Pitanga (*Eugenia uniflora* L) 10 g; Poleo (*Lippia turbinata*, Grisebach) 10 g; Lucera (*Pluchea Saggitalis* L) 10 g. Acción Terapéutica: Elimina los factores primordiales que tienden a la elevación excesiva de peso. Presentaciones: Tisana: 100 g. Saquitos: 20 y 50.

- CACHAMAI DIURETICA (Lab. Cachamai)  
Industria Argentina  
Composición: Cada 100 g contiene: **Equisetum giganteum 35%**; *Xanthium spinosum* 35%; *Baccharis articulata* y/o *Baccharis crispa* 20%; *Mentha piperita* 10%.  
Acción Terapéutica: Diurética.  
Presentaciones: 100 g y 20 saquitos.
  
- YERBA MATE ADELGAMATE (Lab. Labonatur).  
Venta Libre, Industria Argentina.  
Composición: Yerba Mate, Té Verde, Fucus, Cedrón (*Lemon grass*), Hisopo, Menta Peperina, **Cola de Caballo**.  
Acción Terapéutica: Adelgazante natural.  
Presentaciones: Sabores: clásica, con limón y dulce: 25 saquitos de 2.5 g c/u y 500 g.  
Comprimidos
  
- ADELGAMATE (Lab labonatur).  
Venta Libre  
Comprimidos  
Industria Argentina  
Composición: **Cola de Caballo**; Fucus (*Fucus vesiculosus*); *Garcinia cambogia*; Yerba Mate; Té Verde; Magnesio Oxido; Guaraná.  
Acción Terapéutica: Adelgazante natural.  
Presentaciones: 60 comprimidos.
  
- CELULITIS ADELGAMATE (Lab Labonatur)  
Venta Libre  
Industria Argentina  
Composición: Contiene: Centella Asiática; **Cola de Caballo**; Fucus; *Garcinia cambogia*; Yerba Mate, L-Carnitina; Té Verde; Tripicolinato de Cromo.  
Acción Terapéutica: Anticelulítico. Adelgazante. Tónico muscular.  
Presentaciones: 60 comprimidos.
  
- ENERGY ADELGAMATE (Lab. Labonatur).  
Venta Libre  
Industria Argentina  
Composición: **Cola de Caballo** - Cromo, tripicolinato - Fucus - *Garcinia Cambogia* - Guaraná - Magnesio, óxido - Té Verde - Yerba Mate.  
Acción Terapéutica: Energizante, antiestrés, adelgazante natural. Presentaciones: 60 comprimidos.
  
- POWER GYM ADELGAMATE (Lab Labonatur).  
Venta Libre  
Industria Argentina  
Composición: Yerba Mate; Guaraná; Té Verde; L-Carnitina; **Cola de Caballo**; Fucus; Magnesio; *Garcinia*; Manganeseo; Tripicolinato de Cromo.  
Acción Terapéutica: Adelgazante. Tónico muscular. Vigorizante.  
Presentaciones: 60 comprimidos.
  
- LUPINES (Lab. Natufarma).  
Venta Libre, Industria Argentina.  
Composición: Extracto Seco de Lupines 112 mg; **Cola de Caballo 40,6 mg**.  
Acción Terapéutica: Usado para controlar el ácido úrico.  
Presentaciones: Envase conteniendo 60 comprimidos.
  
- ADELGALGA (Lab. Labonatur)  
Venta Libre, Industria Argentina  
Composición: Cada comprimido contiene: Fucus (*Fucus vesiculosus*); **Cola de Caballo (*Equisetum arvense*)**; *Garcinia (*Garcinia cambogia*)*; Magnesio Oxido; *Spirulina (*Spirulina máxima*)*.  
Acción Terapéutica: Adelgazante natural a base de algas marinas 100% libre de cafeína.

Presentaciones: Envase conteniendo 60 comprimidos.

-GOOD NIGHT ADELGAMATE (Lab Labonatur)

Venta Libre, Industria Argentina

Composición: Pasionaria (*Passiflora incarnata*); Garcinia (*Garcinia cambogia*); Fucus (*Fucus vesiculosus*); Magnesio Oxido; **Cola de Caballo (*Equisetum arvense*)**; Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*); Zinc Gluconato; Tripicolinato de Cromo.

Acción Terapéutica: Adelgazante. Disminuye los síntomas de la menopausia. Antiestrés, trastornos del sueño.

Presentaciones: 60 comprimidos.

- NATURAL DIET A.M. (Laboratorio Farma Activ)

Venta Libre, Industria Argentina

Composición: Cada comprimido contiene: Extracto Seco de Fucus Vesiculososo 160 mg; Extracto Seco de Centella Asiática 70 mg; Extracto Seco de ***Equisetum arvense* L.** 70 mg. Acción Terapéutica: Suplemento dietario. Presentación: 30 comprimidos.

### Cápsulas

- ADELGAZANTE (Lab. La Serranita).

Venta Libre, Industria Argentina

Composición: Cada cápsula contiene: Extr. Seco de Hisopo 8 mg; Extr. Seco de Fucus 4 mg; Extr. Seco de Hinojo 8 mg; Extr. Seco de Pezuña de Vaca 24 mg; Extr. Seco de Alcachofa 12 mg; Extr. **Seco de Cola de Caballo 16 mg**; Extr. Seco de Menta 4 mg; Extr. Seco de Sen 4 mg.

Acción Terapéutica: Colerético, colagogo, diurético, modificador de la función tiroidea.

Presentaciones: 30 cápsulas. Blister por 20 cápsulas.

- TRITERPEN FUTERMAN (Laboratorio International Products)

Venta Libre, Industria Argentina

Composición: Cada cápsula contiene: Centella Asiática; Extracto de Fucus; ***Equisetum arvense***; Vitamina E; Vitamina C; Aminoácidos.

Acción Terapéutica: Anticelulítico, reductor y modelador corporal.

Posología: 2 cápsulas diarias con las principales comidas.

Presentaciones: Envase conteniendo 50 cápsulas.

### Gotas

- FEGALGINA (Laboratorio de Suplementos dietarios Argenfarma).

Composición: Gotas x 200 y 100 cc: Alcachofa 56,3cc, Boldo 18,80 cc, Carqueja 9,30 cc, **Cola de caballo 9,30 cc**, Ácido de limón 6,00 cc, Vitamina C 0,3 mg.

Dosis sugeridas: 40 gotas en un poco de agua antes o después de las comidas.

- ADELGAZANTE (Lab. La Serranita)

Venta Libre

Industria Argentina

Composición: Tintura de Hisopo 12 ml; Tintura de Fucus 21 ml; Tintura de Marrubio 12 ml; **Tintura de Cola de Caballo 12 ml**; Tintura de Peperina 3 ml.

Acción Terapéutica: Regulador metabólico. Diurético.

Presentaciones: 60 ml.

- ARCELIGASOL REDUCTORA (Lab E.J. Gezzi).

Venta Libre, Industria Argentina

Composición: Cada 100 ml contiene: Tintura Hisopo 10 ml; Tintura Fucus 5 ml; Tintura Hinojo Semilla 10 ml; Tintura Pezuña de Vaca 30 ml; Tintura Alcachofa Hoja 15 ml; **Tintura Cola de Caballo 25 ml**; Tintura Menta 5 ml.

Acción Terapéutica: Coadyuvan a la eliminación de líquidos y lípidos. Es recomendable su empleo diario.

Posología: 30 a 40 gotas 3 veces por día en un poco de agua con limón o edulcorante.

Presentaciones: Envase conteniendo 120 ml.

## Crema/gel

- CENTELLA QUEEN COMPLEX (Laboratorio Temis-Lostalo)  
Venta Libre, Industria Argentina  
Composición: Contiene: Centella; Algas Marinas; ***Equisetum arvense***.  
Acción Terapéutica: Previene y actúa eficazmente en casos de celulitis y estrías cutáneas.  
Presentaciones: Envase conteniendo 280 g.

## 4. Materiales y métodos

### 4.1- Material vegetal

Las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. fueron recolectadas en la Provincia de San Luis (Eg1) y en la Provincia de Buenos Aires (Eg2). Un ejemplar de herbario fue depositado en el Herbario y Museo de Botánica y Farmacognosia "Carlos Spegazzini" (LPE)

Las partes aéreas de *Equisetum bogotense* fueron recolectadas en la Prov. de Neuquén (Eb). Un ejemplar de herbario fue depositado en el Herbario y Museo de Botánica y Farmacognosia "Carlos Spegazzini" (LPE)

Cinco muestras comerciales (M1-M5) fueron adquiridas en Farmacias y Herboristerías de la Argentina y de Brasil (M6) e identificadas por la Dra. Etilé Spegazzini del LABRAM (Laboratorio de Referencia de Análisis Micrográfico de Plantas Medicinales, Alimenticias y Tóxicas) de la Universidad Nacional de la Plata

### 4.2- Técnicas histológicas:

El material vegetal fue fijado e incluido en parafina, se realizaron cortes transversos y se colorearon con Safranina – Fast Green. Se determinaron los elementos característicos de la droga en estado de polvo.

### 4.3- Análisis fitoquímico:

#### 4.3.1- Cromatografía en capa delgada (TLC):

##### Preparación de los extractos

Para la preparación de los extractos a analizar se utilizó el material vegetal seco y molido de cada uno de las muestras (M1-M6 y Eb) y de las muestras de herbario (Eg1 y Eg2), siguiendo la metodología de Farmacopea Europea para *Equisetum arvense*:

Se pesó 1,0 g de cada muestra de droga vegetal pulverizada y se colocaron en elermeyers de 25 ml.

A cada elermeyer se le agregó 10 ml de metanol y se calentó en baño de agua a 60° C durante 10 minutos agitando de vez en cuando.

Se dejó enfriar y luego se filtró.

##### Preparación de las soluciones estándares: (Wagner et.al, 1996)

Se utilizaron tres flavonoides hiperósido (3-O-glucósil-quercetina), isoquercitrina y rutina (3-O-ramnoglucoisil-quercetina) y ácido clorogénico (5-O-cafeilquínico).

*Solución estándar 1 (S1):* Se disolvieron 2,5 mg de rutina y 2,5 mg de isoquercitrina en 10 ml de metanol.

*Solución estándar 2 (S2):* Se disolvieron 2,5 mg de hiperósido en 10 ml de metanol.

##### Sistema Cromatográfico: (Wagner et al, 1996).

*Fase estacionaria:* Cromatofolios de Silicagel Merck HF 254.

*Fase móvil:* Acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético: agua (100:11:11:26).

*Desarrollo:* hasta una distancia de 10 cm.

##### Revelado:

Una vez retirada la placa de la cámara, se marcó el frente de solvente y se dejó secar al aire. Luego se examinó la placa bajo lámpara de luz UV254 nm, UV366 nm y UV366 nm con vapores de amoníaco.

Se utilizó el siguiente reactivo revelador:

*Reactivo de Productos Naturales (RPN):* se roció la placa con una solución de 1g de 2-aminoetiléster de difenilbórico en 100 ml de metanol, se secó con aire caliente y se observó al UV 366 nm.

#### 4.3.2- Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

##### Preparación de los extractos:

5g de partes aéreas secas y pulverizadas del material vegetal se calentaron a reflujo con 50 ml de metanol 60% durante 10 minutos.

Se dejó enfriar y se filtró.

Los extractos se evaporaron a sequedad en rotavapor, se resuspendieron en 2 ml de metanol y se filtraron por membranas de nylon de 0,45 µm.

##### Sistema Cromatográfico:

Se utilizó el siguiente sistema cromatográfico realizando la elución de modo isocrático:

*Columna:* RP – 18 (250 x 4 mm, 5µm).

*Fase Móvil:* Isopropanol: agua + 0.15% de ác. fosfórico (15:85)

*pH=* 2,15

*Flujo:* 1 ml/min

*Temperatura:* 25°C

*Volumen de inyección:* 20 µl

*Detección:* UV 254 nm.

#### 4.3.3- Detección de Alcaloides

##### Preparación de los extractos:

Se pesó 1,0 gr de cada muestra de droga vegetal pulverizada (muestras comerciales M1, M2 y M3) y se le agregó 1 ml de amoníaco al 10 %.

Se agregó a cada muestra 5 ml de metanol y se calentó a 50 ° C.

Se filtró y dejó enfriar.

##### Cromatografía en capa delgada para detección de alcaloides:

##### Sistema Cromatográfico:

*Fase estacionaria:* Cromatofolios de Silicagel Merck HF 254.

*Fase móvil:* Tolueno: acetato de etilo: dietilamina (70:20:10) (Wagner et al, 1996).

*Detección:* UV 366 nm

*Revelado:* una vez retirada seca la placa cromatográfica se roció con el reactivo revelador Dragendorff.

##### Preparación del Reactivo de Dragendorff:

A- a una solución de 0,85 g de nitrato de bismuto en 10 ml de ác. Acético glacial se le agregan 40 ml de agua caliente.

B-se disolvieron 8 g de ioduro de potasio en 30 ml de agua

Se mezclaron las soluciones A y B en proporciones iguales. Para el revelado se le agrega a 1 ml de esta solución 2 ml de ác. acético glacial y 10 ml de agua

##### Otros métodos de identificación de alcaloides realizados:

En varios porta objetos se colocaron y secaron alícuotas de los extractos preparados para la detección de alcaloides con las diferentes muestras.

Se agregaron sobre dichos extractos secos, los siguientes reactivos por separado:

Hager: solución saturada de ácido pícrico.

Marme: solución preparada con 3 g de ioduro de cadmio y 6 g de ioduro de potasio en 18 ml de agua destilada.

Mayer: solución preparada con 1 g de ioduro mercúrico en 100 ml de agua destilada y agregar suficiente cantidad de ioduro de potasio para disolver el precipitado producido.

Dragendorff: preparar según técnica indicada en *Cromatografía de alcaloides*.

## 5. Resultados

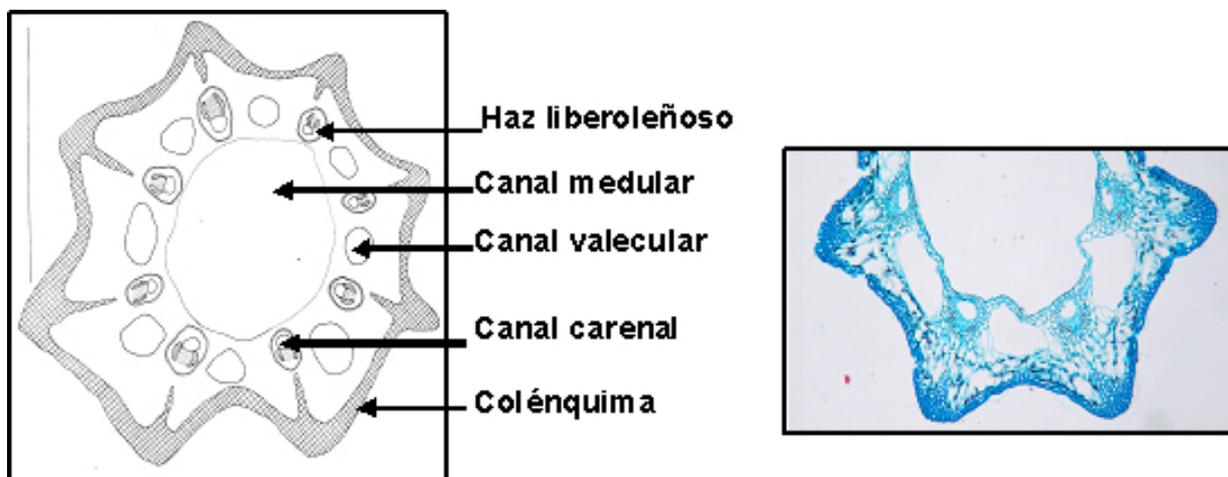
### 5.1- De Identidad Botánica:

#### Descripción macroscópica:

Vástagos aéreos gruesos y altos, de nudos con verticilos muy ramosos. Ramas con vainas de segmentos separados por surcos hasta la base, ápice romo del mismo color que toda la vaina, marginado totalmente por una membrana de borde irregular. Ocreola de las ramas secundarias emergiendo de abajo de la epidermis de la rama principal, coriácea y mas o menos cilíndrica.

Caracteres microscópicos: Células epidérmicas con paredes silificadas y onduladas, cutícula con incrustación silíceo con protuberancias a nivel de las carenas; estomas hundidos, paracíticos.

El corte transversal del tallo a nivel de los entrenudos, permite diferenciar una epidermis, debajo de la cual existen fibras con paredes silificadas predominando en la región valecular y sobretudo en la carenal. Parénquima cortical formado por células poliédricas con cloroplastos y lagunas en las regiones valeculares (canales valeculares); endodermis uniestratificada con puntos y bandas de caspary rodeando a cada haz liberoleñoso de estructura colateral, muy pobres en xilema. Las partes mas viejas de dicho xilema desaparecen pronto y dejan conductos intercelulares o también llamadas lagunas de la región carenal o canal carenal. Xilema formado por vasos con engrosamientos espiralados, escalariformes. El centro medular con una gran laguna o canal medular. En los nudos se encuentra un anillo de haces conductores con xilema interno y floema externo (sifonostela).



### 5.2- Reacciones de caracterización de alcaloides

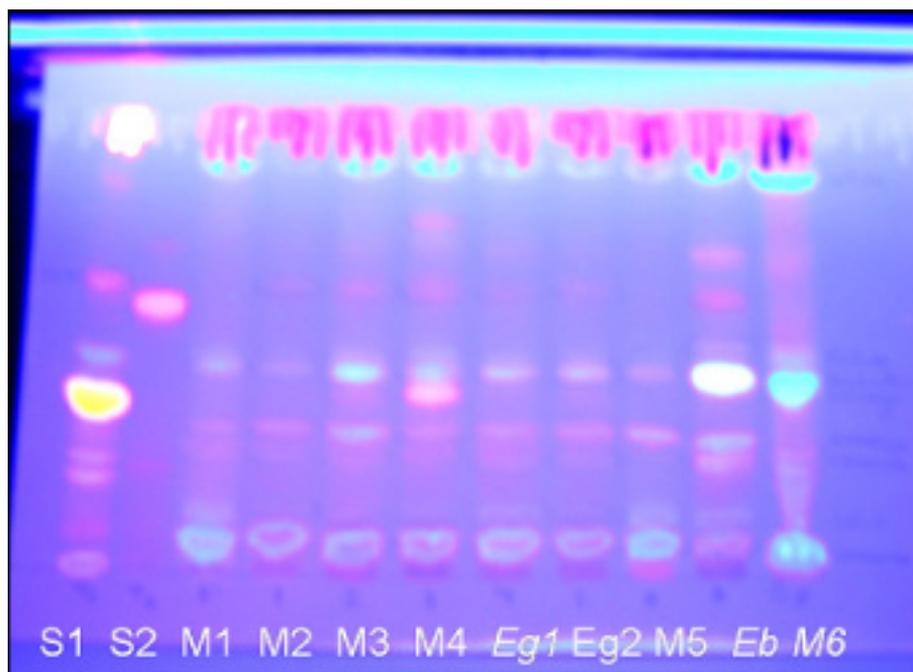
Las muestras vegetales fueron extraídas con el método de extracción de alcaloides en medio básico. Cuando se agregaron los reactivos de identificación Hager, Marme, Mayer y Dragendorff, no se observó la presencia de precipitados indicando ausencia de alcaloides.

### 5.3- Perfiles Cromatográficos de TLC:

Los extractos metanólicos de muestras comerciales (M1-M6) y de ejemplares botánicamente identificados de *E. giganteum* de distinta procedencia (Provincia de Buenos Aires y San Luis) fueron comparados en cromatografía en capa delgada (TLC) y revelados con RPN (Reactivos de Productos Naturales) para detectar los compuestos polifenólicos.

Se observa un perfil característico para todas las muestras analizadas.

Otra especie, *E. bogotense*, fue ensayada y dando como resultado un perfil similar, pero pudiendo ser diferenciada por la presencia de bandas características (Eb).



Cromatograma de las muestras silvestres y botánicamente identificadas revelado con RPN.

**S1:** Rutina + ác. clorogénico + isoquercitrina

**S2:** Hiperósido

**M1-M6:** Muestras comerciales de Cola de Caballo

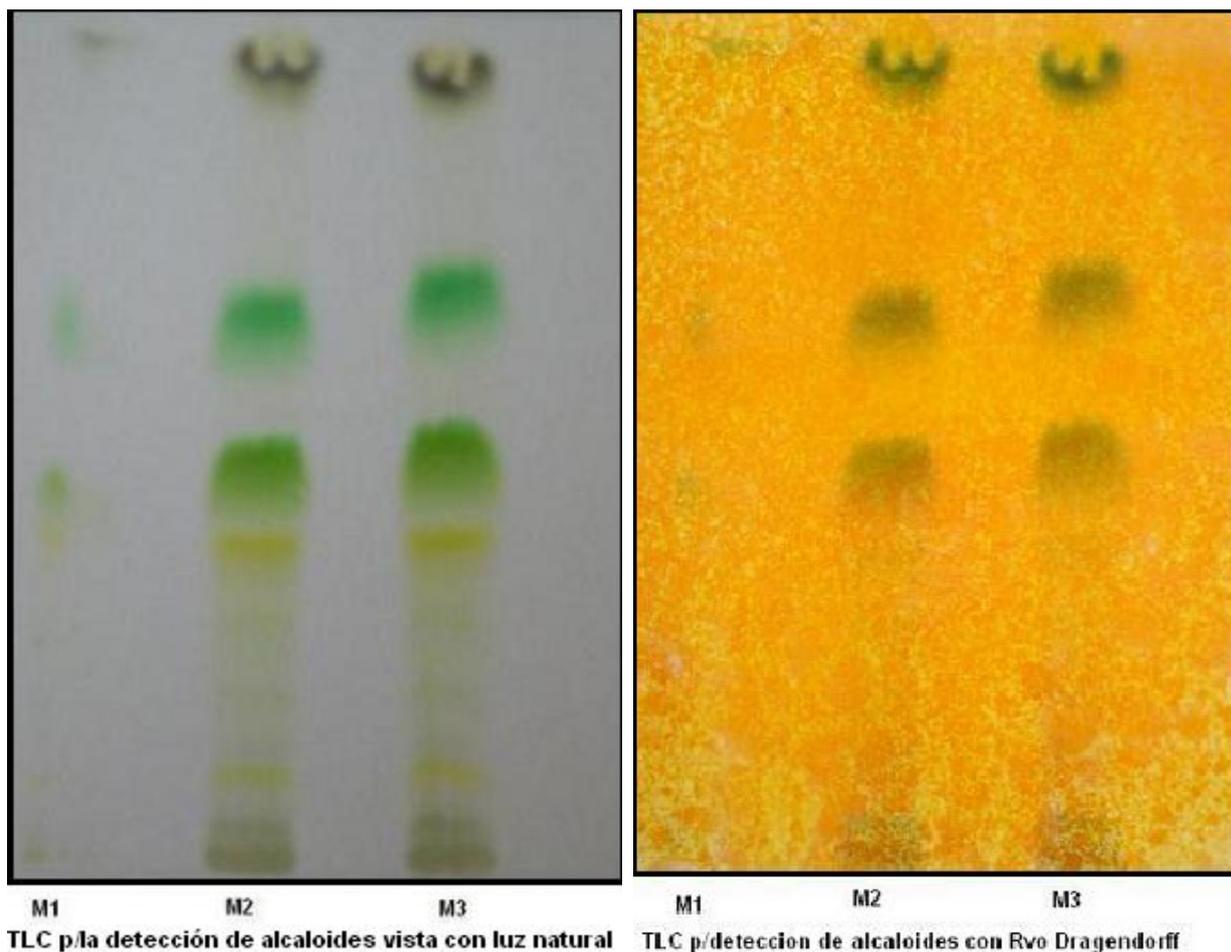
**Eg1:** *Equisetum giganteum* botánicamente identificado (Prov. de Buenos Aires)

**Eg2:** *Equisetum giganteum* botánicamente identificado (Prov. de San Luis)

**Eb:** *Equisetum bogotense*

#### 5.4- Cromatografía en capa delgada para alcaloides

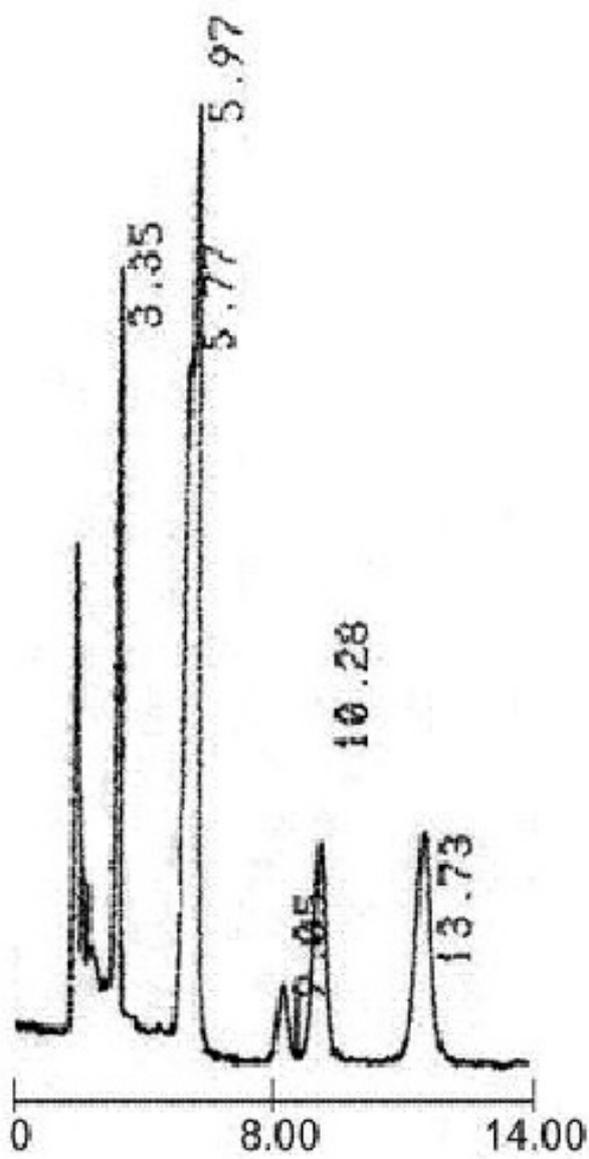
Los extractos de tres de las muestras comerciales fueron cromatografiados en un sistema para alcaloides y revelados con Reactivo de Dragendorff. No se observa la presencia de bandas naranjas características de la presencia de alcaloides.



### 5.5- HPLC:

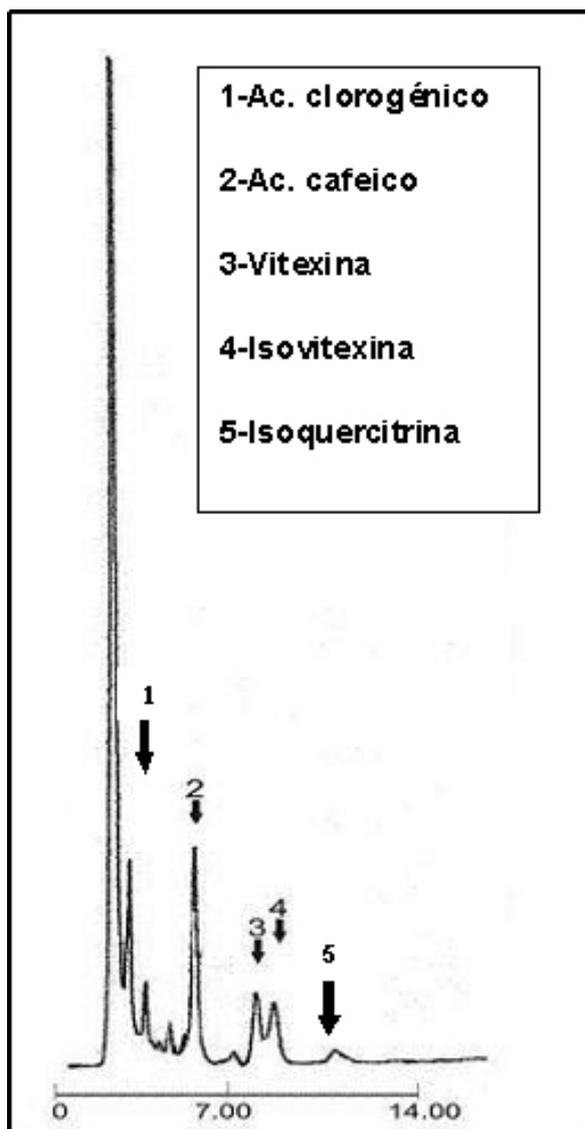
La evaluación cualitativa de los extractos fue realizada por comparación de los tiempos de retención de las soluciones estándar de los picos que aparecen en los perfiles cromatográficos obtenidos y por el método del sobre-agregado.

Los cromatogramas muestran un buen perfil de separación, al cabo de una corrida de aproximadamente 20 minutos (ver cromatogramas), se pudo identificar la presencia de ácido caféico, vitexina e isovitexina en el extracto de *Equisetum giganteum*.



Estándares	Tr
Ác. clorogénico	3.35
Homoorientina	5.77
Ác. cafeico	5.97
Orientina	6.49
Vitexina	9.05
Isovitexina	10.28
Isoquercitrina	13.73
Rutina	14.12

Cromatograma por HPLC de estándares utilizados



## 6. Conclusiones

De los antecedentes etnofarmacológicos y los usos populares para *Equisetum giganteum* L. surge claramente la importancia que ha tenido y continúa teniendo en la terapéutica esta planta medicinal.

La recopilación bibliográfica acerca de los usos medicinales de la "cola de caballo" permite establecer un uso tradicional consistente como diurético, relajante del músculo liso y astringente, así como la ausencia de toxicidad de los productos medicinales elaborados con dicha droga vegetal.

Mediante técnicas micrográficas se determinaron los parámetros histológicos diferenciales en los cortes transversos de tallos de *Equisetum giganteum* y en el polvo de la droga.

Los métodos de análisis cromatográficos, cromatografía en capa delgada (TLC) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) del extracto metanólico de *Equisetum giganteum*, dieron como resultado la identificación de tres flavonoides isoquercitrina, vitexina e isovitexina y dos compuestos derivados del fenilpropano: ácido clorogénico, ácido caféico, que hasta el momento no habían sido descritos para esta especie, estableciendo perfiles cromatográficos característicos.

La ausencia de alcaloides fue comprobada a partir del desarrollo de métodos de detección de los mismos, TLC para alcaloides y reacciones de caracterización con diferentes reactivos.

Los resultados obtenidos posibilitan el control de calidad y contribuyen con parámetros botánicos y fitoquímicos acordes con las exigencias actuales para las monografías farmacopéicas de drogas vegetales.

A continuación y como parte de las conclusiones, se adjunta una monografía pre-farmacopéica según los resultados obtenidos en este trabajo.

## Cola de caballo

**Definición:** La Cola de Caballo consiste en las partes aéreas desecadas de *Equisetum giganteum* L. (*Equisetaceae*). Debe contener no menos de 0,3 por ciento de flavonoides totales calculados como isoquercitrina respecto a la droga desecada.

**Sustancias de referencia:** Isoquercitrina, ácido clorogénico, rutina.

## Conservación

En envases inactínicos, bien cerrados, en sitio fresco, secos y al abrigo de la luz.

## Ensayos

### Identificación

#### A - Características macroscópicas -

Vástagos aéreos gruesos y altos, de nudos con verticilos muy ramosos. Ramas con vainas de segmentos separados por surcos hasta la base, ápice romo del mismo color que toda la vaina, marginado totalmente por una membrana de borde irregular. Ocreola de las ramas secundarias emergiendo de abajo de la epidermis de la rama principal, coriácea y mas o menos cilíndrica.

#### B- Características microscópicas

Células epidérmicas con paredes silificadas y onduladas, cutícula con incrustación silícea con protuberancias a nivel de las carenas; estomas hundidos, paracíticos.

El corte transversal del tallo a nivel de los entrenudos, permite diferenciar una epidermis, debajo de la cual existen fibras con paredes silificadas predominando en la región valecular y sobretodo en la carenal. Parénquima cortical formado por células poliédricas con cloroplastos y lagunas en las regiones valeculares (canales valeculares); endodermis uniestratificada con puntos y bandas de caspary rodeando a cada haz liberoleñoso de estructura colateral, muy pobres en xilema. Las partes mas viejas de dicho xilema desaparecen pronto y dejan conductos intercelulares o también llamadas lagunas de la región carenal o canal carenal. Xilema formado por vasos con engrosamientos espiralados, escalariformes. La medula con una gran laguna o canal medular. En los nudos se encuentra un anillo de haces conductores con xilema interno y floema externo (sifonostela).

**C- Droga en polvo** - El polvo presenta los siguientes caracteres de diagnóstico: fragmentos de la superficie de la epidermis en vista frontal, compuesta de células rectangulares con paredes onduladas y estomas paracíticos hundidos. Fragmentos de parénquima con células poliédricas y grupos de fibras con paredes silificadas; pequeños vasos dispersos, lignificados, con engrosamientos espiralados, escalariformes. Cristales de sílice.

#### D- Aplicar la siguiente técnica cromatográfica:

**Fase estacionaria** - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

**Fase móvil** - Emplear una mezcla recientemente preparada de acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico y agua (100:11:11:26).

**Solución estándar** - Disolver 2,5 mg de rutina y 2,5 mg de isoquercitrina en 10 ml de metanol.

**Solución muestra** - A 1 g de la droga reducida a polvo agregar 25 ml de *alcohol 60 por ciento V/V*. Calentar en baño de agua a 60° C durante 10 minutos agitando de vez en cuando. Filtrar.

**Revelador** - Reactivo de Productos naturales-polietilenglicol (*RPN-PG*).

**Procedimiento** - Aplicar en bandas por separado 5 µl de la *Solución estándar* y 10 µl de la *Solución muestra*. Desarrollar y dejar secar. Rociar con el *Revelador* y dejar secar. Examinar la placa con luz ultravioleta a 365 nm. El cromatograma de la *Solución estándar* deberá presentar dos bandas de fluorescencia naranja: isoquercitrina ( $R_f$  0,65), ácido clorogénico ( $R_f$  0,9) y rutina ( $R_f$  0,38). El cromatograma de la *Solución muestra* deberá presentar una banda que se corresponde en posición y fluorescencia a la observada para isoquercitrina en la *Solución estándar* y otra que se corresponde con la del ácido clorogénico. Además deberá presentar una banda azul ( $R_f$  0,90) y dos bandas celestes ( $R_f$  0,12 y 0,18).

**Materia extraña** <630>- No más de XX %.

**Cenizas totales** <630>- No de XX por %.

**Pérdida por secado** <680 >- No de XX por %.

**Control higiénico** <90> - Cumple con los requisitos.

**Aflatoxinas** <110> - Cumple con los requisitos según el destino.

**Metales pesados** <590>- Método 1. No más del 0,001 %.

**Residuo de pesticidas** <630>- Cumple con los requisitos.

### Valoración

**Solución madre.** En un de 100 ml introducir 0,800 g de droga pulverizada (355), a continuación añadir 1 ml de una solución de 5 g/l de *hexametilentetramina*, 20 ml de *acetona* y 2 ml de *ácido clorhídrico*. Calentar a reflujo durante 30 min. Filtrar el líquido a través de un tapón de algodón hidrófilo y recoger el filtrado en un matraz. Añadir el algodón hidrófilo al residuo contenido en el balón y extraer con 2 porciones, de 20 ml cada una, de *acetona*, calentando cada vez a reflujo durante 10 min. Dejar enfriar y a continuación filtrar a través de un tapón de algodón hidrófilo recogiendo el filtrado en un matraz. Después de enfriar, filtrar a través de un filtro de papel todos los extractos obtenidos con acetona y reunirlos en un matraz aforado, a continuación diluir hasta 100,0 ml con *acetona* enjuagando el matraz y el filtro de papel. Colocar 20,0 ml de esta disolución en una ampolla de decantación, añadir 20 ml de *agua* y agitar sucesivamente la mezcla con 15 ml, y a continuación con 3 cantidades, cada una de 10 ml, de *acetato de etilo*. Reunir los extractos obtenidos con acetato de etilo en una ampolla de decantación, lavar con 2 cantidades, de 50 ml cada una, de *agua*, y a continuación filtrar los extractos sobre 10 g de *sulfato de sodio anhidro* recogiendo el filtrado en un matraz aforado. Diluir hasta 50,0 ml con *acetato de etilo*.

**Solución Muestra.** A 10,0 ml de la *Solución Madre* añadir 1 ml de *reactivo de cloruro de aluminio* y diluir hasta 25,0 ml con una disolución de *ácido acético glacial* al 5 por ciento V/V en *metanol*.

**Solución de compensación.** Diluir 10,0 ml de la *Solución Madre* y completar hasta 25,0 ml con una solución de *ácido acético glacial* al 5 por ciento V/V en *metanol*.

Medir la absorbancia de la Solución Muestra a 425 nm después de 30 min, comparando con la disolución de compensación. Calcular el contenido por ciento en flavonoides, expresado como isoquercitrina, con la ayuda de la siguiente expresión:

$$\frac{A \times 1,25}{m}$$

Tomando 500 como valor de la absorbancia específica del isoquercitrina.

A = absorbancia a 425 nm,

m = masa de la sustancia problema, en gramos.

## 7. Bibliografía

- Abdel-Malek, S, Bastien, JW, Mahler, WF, Jia, Q, Reinecke, MG, Robinson JR, WE, Shu, YH, Zalles-Asin, J. (1996). Drug leads from the kallawaya herbalists of bolivia. 1. background, rationale, protocol and anti-hiv activity. *J Ethnopharmacol* 50( 3), 157-166.
- Akerele O. (1993). Summary of WHO guidelines for the assessment of herbal medicines. *HerbalGram*, 28 (13)-19.
- Alonso Paz, E, Cerdeiras, MP, Fernandez, J, Ferreira, F, Moyna, P, Soubes, M: Vazquez, A: Vero, S: Zunino, L.(1995). Screening of Uruguayan medicinal plants for antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol* 45 1: 67-70.
- ANMAT (pagina web) <http://www.anmat.gov.ar>.
- Bandoni,AL: Mendiondo,ME: Rondina,RVD: Coussio,JD (1972). Survey of argentine medicinal plants. i. folklore and phytochemical screening. *Lloydia* 35 (1) 69-80.
- Caceres,A: Giron,LM: Martinez,AM (1987a). Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in guatemala. *J Ethnopharmacol* 19 (3): 233-245.
- Caceres, A, Giron, LM, Alvarado, SR, Torres, MF, 1987b. Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. *J Ethnopharmacol* 20 (3), 223-237.
- Davyt,D: Dellacassa,E: Ferreira,P: Menendez,P: Moyna,P: Vazquez,A (1991). *Fitoterapia* 62 (6): 519-521.
- Farnsworth, N.R. y Bingel, A.S. (1977). Problems and prospects of discovering new drugs from higher plants by pharmacological screening, *en New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutic Activity*. H Wagner and P. Wolff, Ed., Springer-Verlag. New York, pp. 1-22.

- Gonzalez,A: Ferreira,F: Vazquez,A: Moyna,P: Paz,EA: 1993. Biological screening of Uruguayan medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 39 (3): 217-220.
- Hauke, R. L. (1963). A taxonomic monograph of the genus *Equisetum* subgenus *Hippochaete* . *Nova Hedwigia* 8:1-123.
- Hauke, R. L. (1969). The natural history of *Equisetum* in Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 15:269-281.
- Hauke, Richard L.(1993). *Equisetaceae* . In: Flora of North America Editorial Committee (Editors), Flora of North America North of Mexico, 2. Oxford University Press, New York, NY.
- Li, P: Matsunaga, K: Ohizumi,Y. (1999). Enhancement of the nerve growth factor-mediated neurite outgrowth from pc12d cells by chinese and paraguayan medicinal plants. *Biol Pharm Bull* 22 7: 752-755.
- Matsunaga,K: Sasaki,S: Ohizumi,Y (1997). Excitatory and inhibitory effects of paraguayan medicinal plants *equisetum giganteum*, *acanthospermum australe*, *allopylus edulis* and *cordia salicifolia* on contraction of rabbit aorta and guinea-pig left atrium. *Natural Med* 51(5): 478-481
- Morton,JF.1975. Current folk remedies of northern Venezuela.Q *J Crude Drug Res* 13 : 97-121.
- Murillo,MT (1983). Usos de los Helechos en Suramerica con especial referencia a Colombia. Book: 156 pp.
- Parsons, WT. yCuthbertson EG. (1992). Noxious Weeds of Australia. Inkata Press, Melbourne, Australia.
- Perez, C y Anesini, C (1994). Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by argentinean medicinal plants. *Fitoterapia* 65 (2): 169-172.
- Perez Gutierrez, RM, Yescas, Llaguna, G: Walkowski, A. (1985). Diuretic activity of mexican *Equisetum*. *J Ethnopharmacol* 14 (2/3): 269-272.
- Praeger, RL. (1934). Propagation from aerial shoots in *Equisetum* . *Journal of Botany, British and Foreign*. 72:175-176.
- Principe, P. (Ed.) (1989). The economic significance of plants and their constituents as drugs, en: *Economic and Medicinal Plant Research*. Academic Press, New York, vol. 3.
- Pryer, K. M., Schneider, H., Smith, A. R., Cranfill, R., Wolf, P. G., Hunt, J. S., y Sipes, S. D. (2001). Horsetails and ferns are a monophyletic group and the closest living relatives to seed plants. *Nature* 409:618-622.
- Quiroga, EN, Sampietro, AR, Vattuone, MA (2001). Screening antifungal activites of selected medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 74 (1): 89-96.
- Ramirez, V R, Mostacero, L J, Garcia, A E, Mejia, C F: Pelaez, P F, Medina, C D: Miranda, C H. (1998). Vegetales empleados en medicina tradicional norperuana.
- Scagel, R F, Bondini, J R Maze, G E Rouse, W B Schofield, and J R Stein. (1984).
- *Plants, An Evolutionary Survey*. Wadsworth Publishing Company, Belmont, CA.
- Schaffner, J. H. (1931). Propagation of *Equisetum* from sterile aerial shoots. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 58:531-535.
- Sharapin, N. (2000). Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Ed. R. Pinzon CAB-CYTED. Bogotá, Colombia.
- Tryon, A. F. (1959). Ferns of the Incas. *American Fern Journal* 49:10-24.
- Viglione, A. (1999). Breve historia de la Farmacopea Argentina, Resumen del trabajo 34º Congreso Nacional de historia de la farmacia, Florencia, Italia.
- Wagner, W. H., and Hammitt, W. E. (1970). Natural proliferation of floating stems of scouring-rush, *Equisetum hyemale* . *The Michigan Botanist* 9:166-174.
- Wagner, H., Bladt, S., Zgainski, E.M., (1996). *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography*. Springer-Verlag, Berlín., pp 226.
- Wijsekera, R.O.N. (Ed.) (1991). Plant-derived medicines and their role in global health, en: *The Medicinal Plant Industry*. CRC Press, London, pp.1-18.
- World Health Organization. (1998a).Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva, Switzerland.
- World Health Organization. (1998b). Regulatory situation of herbal medicines: a worldwide review. Geneva, Switzerland.
- World Health Organization, (1998c). Basic tests for drugs: pharmaceutical substances, medicinal plant materials and dosage forms (ISBN 92 4 154513 5), Geneva, Switzerland.





