

Dominguezia

Museo de Farmacobotánica
"Juan A. Domínguez"

Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires



Olea europaea L. –Oleaceae–

Dominguezia

Vol. 28(2) - 2012

Director Responsable:

Dr. Alberto Ángel Gurni

Comisión Redactora:

Farm. Carlos Agosto
Dr. Arnaldo L. Bandoni
Dr. Gustavo C. Giberti
Dr. Alberto A. Gurni
Dr. Marcelo L. Wagner

Comisión Científica Asesora:

Dr. Aníbal Amat (Universidad Nacional de Misiones, Argentina)
Dr. Pastor Arenas (Instituto de Botánica Darwinion, Argentina)
Dr. Néstor Caffini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dra. María T. Camargo (Universidad de San Pablo, Brasil)
Dr. Rodolfo Campos (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. Salvador Cañigueral Folcará (Universidad de Barcelona, España)
Dr. Eduardo Dellacassa Beltrame (Universidad de la República, Uruguay)
Dra. Martha Gattuso (Universidad Nacional de Rosario, Argentina)
Dr. Héctor Alejandro Keller (Universidad Nacional del Nordeste, Argentina)
Dr. José Luis López (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. José María Prieto-García (University of London, Gran Bretaña)
Dr. Rafael A. Ricco (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. Lionel G. Robineau (Universidad de las Antillas y de la Guyana)
Dra. Etilé Spegazzini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dr. Carlos Taira (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. María L. Tomaro (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. E. C. Villaamil (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Comisión Científica Honoraria:

Dr. Ramón A. de Torres (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. Marta Nájera (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dr. Rubén V. Rondina (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. Otmaro Rosés (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Editores Científicos:

Dr. José María Prieto-García
Dra. Catalina M. van Baren
Dr. Marcelo Luis Wagner

Editora Asociada:

María Cristina Ratto de Sala

Secretaría, Edición electrónica y websmaster:

Fernando Gabriel Ranea

Edición financiada por la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires

Dominguezia se distribuye por canje con otras publicaciones dedicadas a temas afines.

This publication is sent to individuals or institutions by exchange with similar ones,
devoted to Pharmacobotany or related subjects.

Lámina de Tapa:
***Olea europea* L. –Oleaceae–**

Lámina tomada de la
Flora von Deutschland,
Österreich und der Schweiz 1885, Gera, Germany.

Incluida en el Directorio de LATINDEX
por el Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT - CONICET)
con el número de Folio 2787 Dominguezia,
y en Electronic Sites of Leading Botany, Plant Biology and Science Journals.
Providing links to the world's electronic journals.

Registro de la Propiedad Intelectual N° 4984926.

Se terminó de editar en diciembre de 2012.

Índice de contenido

Hojas de olivo (<i>Olea europaea</i> –Oleaceae–) como adulterante en oréganos (<i>Origanum</i> spp –Lamiaceae–) comercializados en la Ciudad de Buenos Aires, Argentina	5
Beatriz G. Varela y Rafael A. Ricco	
Variación en la composición de polifenoles en <i>Schinus longifolius</i> (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) en respuesta a la infestación por <i>Cecidoses eremita</i> Curtis (Lepidoptera - Cecidosidae)	11
Ignacio J. Agudelo y Rafael A. Ricco	
Búsqueda de compuestos antiprotozoarios en especies de la flora medicinal argentina	19
Valeria P. Sülsen	
Problemática sanitaria y social de la enfermedad de Chagas. Aporte de la medicina tradicional argentina	29
Virginia S. Martino	
III Jornadas Nacionales de Plantas Aromáticas Nativas y sus Aceites Esenciales	39
Resúmenes	

Index

- Olive leaves (*Olea europaea* –Oleaceae–) as an adulterant of commercial “oreganos” (*Origanum* spp –Lamiaceae–) in Buenos Aires City, Argentina 5**
Beatriz G. Varela and Rafael A. Ricco
- Variation in the polyphenols composition in *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) in response to infestation by *Cecidoses eremita* Curtis (Lepidoptera - Cecidosidae) 11**
Ignacio J. Agudelo and Rafael A. Ricco
- Search for antiprotozoal compounds in species of the Argentine medicinal flora 19**
Valeria P. Sülsen
- Sanitary and social problematic of Chagas disease. Contribution of Argentine Traditional Medicine 29**
Virginia S. Martino
- III Jornadas Nacionales de Plantas Aromáticas Nativas y sus Aceites Esenciales 39**
Summaries

Hojas de olivo (*Olea europaea* –Oleaceae–) como adulterante en oréganos (*Origanum* spp –Lamiaceae–) comercializados en la Ciudad de Buenos Aires, Argentina

Beatriz G. Varela* y Rafael A. Ricco

Cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956 (1113) C.A.B.A, Argentina.

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

Resumen

En la República Argentina el “orégano” comprende varias especies, subespecies e híbridos de *Origanum* L. (Lamiaceae), cuyas partes usadas son las hojas y las sumidades floridas. En el Código Alimentario Argentino (CAA) se admite hasta un 5 % de material extraño para el orégano (3 % de tallos propios y 2 % de materias heterogéneas). En varios controles de calidad realizados en oréganos comerciales se encontraron porcentajes de materia extraña superiores, y fue notoria la presencia de hojas trozadas, coriáceas, diferentes a las del orégano. En este trabajo se analizaron, por duplicado, seis marcas comerciales de orégano de distintas procedencias. Se tomaron porciones representativas equivalentes al 10 % del contenido neto. Los componentes fueron separados con ayuda de una lupa, se pesaron y se calcularon sus porcentajes. Posteriormente se realizaron disociados leves de las hojas genuinas y de las hojas extrañas, y se observaron bajo microscopio óptico. Se realizó además, una caracterización del perfil de polifenoles de los extractos metanólicos de las muestras, por cromatografía en placa delgada. Los resultados demostraron que tres marcas presentaban hojas ajenas en porcentajes superiores a los establecidos por el CAA. La proporción de tallos propios también fue superior en todas las muestras. Al observarlas bajo el microscopio se comprobó que las hojas ajenas correspondían a “olivo” (*Olea europaea* L.), por la presencia de pelos escamosos y de esclereidas filiformes características de esa especie. La cromatografía mostró un perfil de polifenoles diferente para las muestras puras y para las que contenían olivo. En las muestras puras se observó una alta concentración de ácido cafeico, mientras que en las que incorporaban olivo se observó además, la presencia de rutina y de ácido clorogénico. Estos datos indican que la introducción del adulterante (olivo), provoca una marcada disminución en la proporción de las partes usadas del orégano, diferencias en la composición química de polifenoles, y afecta negativamente la calidad del producto comercial.

Olive leaves (*Olea europaea* –Oleaceae–) as an adulterant of commercial “oreganos” (*Origanum* spp –Lamiaceae–) in Buenos Aires City, Argentina

Summary

In Argentina, the “oregano” includes several species, subspecies and hybrids of *Origanum* L. (Lamiaceae), whose used parts consist of the leaves and flowering tops. In the Argentine Food Code (CAA), 5 % of

Palabras clave: adulterante - olivo - *Olea europaea* - orégano - *Origanum* spp - polifenoles.

Key words: adulterant - olive - *Olea europaea* - “oregano” - *Origanum* spp - polyphenols.

foreign matter is allowed (3 % of own stems and 2 % of heterogeneous materials). Through quality controls made in commercial “oregano”, higher percentages of foreign matter were found and the presence of minced, coriaceous leaves, different from those of “oregano” was notorious. In this paper, six trademarks of “oregano” from various sources were analyzed, in duplicate. Representative portions equal to 10 % of net contents were taken. The components were separated under the stereomicroscope, weighed and calculated their percentages. Subsequently, mild dissociation of genuine leaves and foreign leaves was performed, and observed under light microscope. A further polyphenols characterization on methanolic extracts of the samples, by thin layer chromatography, was conducted. The results showed that three trademarks presented foreign leaves and the percentages were higher than those established by the CAA. The proportion of own stems was also higher in all samples. Microscopically, the foreign leaves corresponded to “olive” (*Olea europaea* L.), by the presence of peltate scutiform trichomes and filiform sclereids characteristic of that species. Thin layer chromatography showed a different polyphenol profile for pure samples and those containing olive leaves. Pure samples revealed the presence of a high concentration of caffeic acid, while those incorporating olive also showed the presence of chlorogenic acid and rutin. These data indicate that the introduction of the adulterant (olive), causes a marked decrease in the proportion of the parts used of “oregano”, a different chemical composition of polyphenols, and affects negatively the quality of the commercial product.

Introducción

Dentro del grupo de las plantas aromáticas condimenticias se destaca el género *Origanum* L. (Lamiaceae) cuyas especies se conocen vulgarmente como “orégano”. Si bien son originarias de la cuenca del Mediterráneo y del este de Asia, en la Argentina constituye uno de los cultivos aromáticos más importantes en las provincias de Mendoza, Córdoba y San Juan, que son las regiones más apropiadas para su desarrollo y las principales productoras (Lenardis y col., 2006).

Según diversos trabajos de revisión, (Xifreda, 1990; 2005) se cultivan varias especies, subespecies e híbridos de *Origanum* y los más comercializados en el país son *O. vulgare* ssp *viridulum* (Martrin-Donos) Nyman y *O. x majoricum* Cambessedes (híbrido entre *O. vulgare* ssp *vulgare* y *O. majorana*).

Se trata de plantas subarborescentes, perennes, de 30 a 100 cm de altura y tallos de sección cuadrangular. Tienen hojas simples, enteras, ovaladas, pecioladas y pubescentes en ambas superficies. Las flores son perfectas, zigomorfas y se disponen en inflorescencias espiciformes o verticilastros; están protegidas por brácteas pilosas, de color verde o verde-purpúreas. Los cálices son pilosos, bilabiados con dientes desiguales, o bien tubiformes con dientes subiguales. Las corolas son bilabiadas y de color blanco, rosado o púrpura. El fruto es un tetraqueno liso, seco y globoso (Xifreda, 1983).

Figura 1.- Partes usadas del orégano



Hojas y sumidades floridas.

El principal uso es como condimento y aromatizante debido a sus aceites esenciales, contenidos dentro de tricomas glandulares. Estas hierbas también son usadas en medicina popular por sus cualidades tónicas, digestivas, vulnerarias, antioxidantes y antisépticas (Rouquaud y col., 2000; Roig, 2001). Las partes usadas están compuestas por las hojas y las sumidades floridas (brácteas y flores), que contienen la mayor parte de las esencias (Figura 1). La composición química del aceite esencial es compleja y está constituida por diversos fenoles, terpenos, sesquiterpenos y compuestos derivados. Además, el orégano tiene ácidos fenólicos (cafeico, rosmarínico, clorogénico), taninos, flavonoides y triterpenos (Muñoz Centeno, 2002).

En el Código Alimentario Argentino (CAA), artículo 1226, está registrada como orégano la especie *O. vulgare* L. y todas sus variedades e híbridos. Entre las exigencias requeridas debe responder a un mínimo de 1 % de esencia y a un máximo de 5 % de materia extraña, de la cual el 3 % puede corresponder a tallos de la propia planta y 2 % a material inoco proveniente de otras plantas (CAA, 1969).

En varios controles realizados en muestras comerciales de orégano, se observó la presencia de tallos y de elementos extraños en porcentajes muy superiores a los establecidos por el CAA. En este trabajo se realizó un análisis farmacobotánico y un perfil del contenido de los compuestos polifenólicos en seis marcas comerciales de orégano de la Ciudad de Buenos Aires.

El objetivo fue realizar el control botánico de las muestras, comprobar la pureza en cuanto a las partes usadas, detectar e identificar la presencia de elementos extraños y cómo afectan estos la calidad del producto comercializado, como así también la obtención del perfil de polifenoles para el producto puro y sus mezclas.

Materiales y métodos

Se analizaron, por muestreo aleatorio simple y por duplicado, seis marcas comerciales de orégano de distintas procedencias. Se tomaron porciones representativas equivalentes al 10 % del contenido neto de las muestras, por el método de cuarteo repetido (Norma IRAM 37506, 1994). Se separaron los componentes bajo microscopio estereoscópico Carl Zeiss, se pesaron y se calcularon los porcentajes de

los elementos (WHO, 1998). Los elementos separados se fotografiaron con una cámara digital Canon Powershot A560.

Se realizaron disociados leves con hidróxido de sodio al 5 % de las hojas separadas y se observaron en el microscopio óptico (D' Ambrogio de Argüeso, 1986; Norma IRAM 37500, 1993). Los preparados obtenidos de los disociados se fotografiaron con un fotomicroscopio Zeiss Axiolab MC 80 DX.

Para el estudio de los polifenoles se partió de 1g de material seco y molido. La extracción se llevó a cabo con 10 mL de metanol, a temperatura ambiente, durante 24 h. Posteriormente se filtró y se descartó el marco. El extracto así obtenido fue utilizado en la determinación del perfil de polifenoles, que fue realizado por medio de una cromatografía en capa delgada de celulosa (TLC y HPTLC), empleando como fase móvil ácido acético 15 % (Mabry y col., 1970; Markham, 1982). El cromatograma se observó a la luz ultravioleta antes y después de ser expuesto a vapores de amoníaco y, posteriormente se reveló con el reactivo de productos naturales (NPR 1 % en metanol) (Wagner y Bladt, 1996). Se emplearon como sustancias de referencia ácido cafeico, ácido clorogénico y rutina (Sigma-Aldrich).

Resultados

Todas las muestras analizadas presentaron partes genuinas del orégano: hojas, brácteas y flores (constituidas por cálices y corolas), en proporciones variadas (Figura 2).

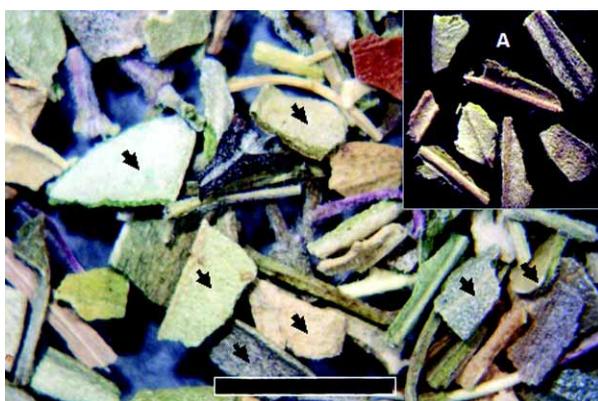
Figura 2.- Partes genuinas de orégano



a) hojas, b) brácteas, c) flores, d) tallos (fragmentos). Escala: 5 mm.

Se observaron además, fragmentos de tallos propios del orégano de distintos tamaños y otros materiales heterogéneos: tallos varios, trozos de hojas, frutos y semillas ajenos al orégano. Como material no vegetal se hallaron pequeñas piedras y partículas de tierra. No se encontraron insectos vivos ni muertos, ni partes de ellos. En tres marcas fue notoria la presencia de hojas trozadas, gruesas, coriáceas, discolores (verde oscuro de un lado y grisáceas del otro), fácilmente distinguibles de las del orégano (Figura 3).

Figura 3. Muestra de orégano con materia extraña

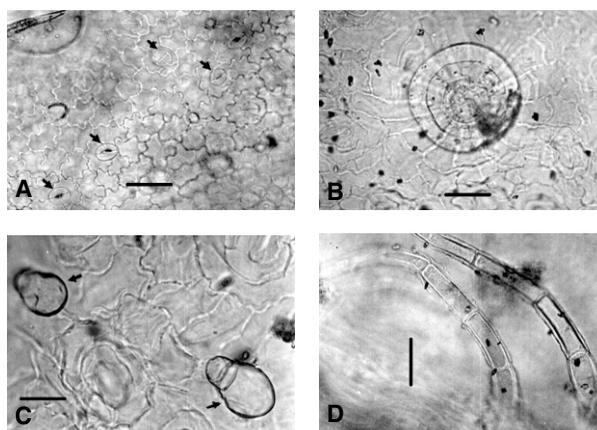


Hojas coriáceas, discolores (flechas). A: Detalle. Escala: 5 mm.

Se procedió a calcular los porcentajes de todos los componentes separados en relación con el peso de la muestra representativa, datos que se presentan en la tabla 1.

Los disociados leves de las hojas genuinas del orégano revelaron: a) células epidérmicas de contorno sinuoso, b) estomas diacíticos, c) tricomas eglandulares uni y pluricelulares (hasta 6 células), d) tricomas glandulares peltados, casi sésiles, con cabeza pluricelular (8 a 12 células), y e) tricomas glandulares capitados con pie corto y cabeza unicelular. Todos los elementos mencionados se observan en la figura 4 (A, B, C y D).

Figura 4. Disociado leve de hojas de orégano



A. Células epidérmicas y estomas diacíticos (flechas). Escala: 50 µm.

B. Tricoma glandular pluricelular peltado. Escala: 50 µm.

C. Tricomas glandulares capitados (flechas). Escala: 20 µm.

D. Tricomas eglandulares pluricelulares. Escala: 50 µm.

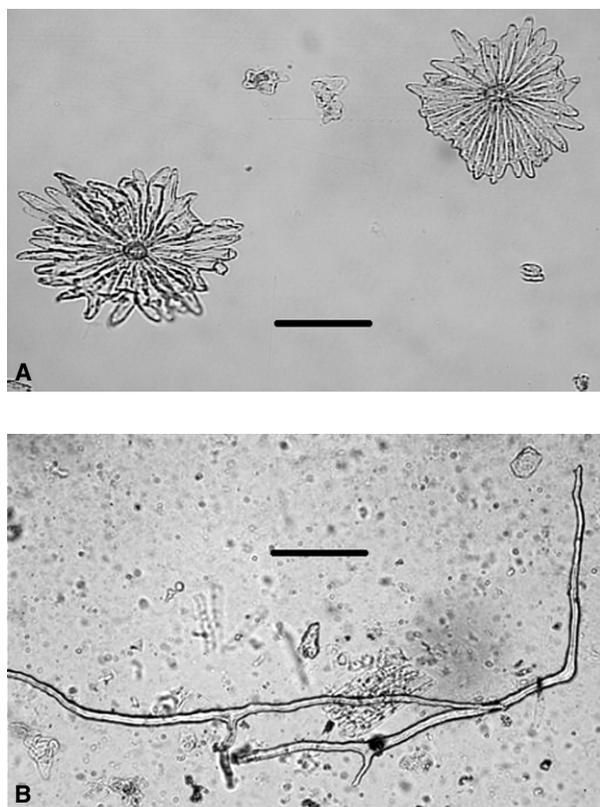
Tabla 1. Cuadro comparativo de las muestras de orégano analizadas

Marcas de orégano	Contenido neto (g)	Cantidad analizada (g)	Hojas %	Brácteas y flores %	Materia extraña		
					Hojas gruesas %	Otros %	Total %
A	25	2,5	24	70	0	6	6
	25	2,5	24	68	0	8	8
B	25	2,5	36	54	0	10	10
	25	2,5	40	52	0	8	8
C	25	2,5	30	46	12	12	24
	25	2,5	40	36	16	8	24
D	20	2	65	30	0	10	10
	20	2	40	55	0	5	5
E	50	5	20	54	18	8	26
	50	5	26	58	10	6	16
F	25	2,5	30	40	15	15	30
	25	2,5	45	33	10	12	22

Otros: tallos, otras hojas, frutitos, semillas, tierra; g: gramos; %: porcentaje.

Los disociados leves de las hojas ajenas, gruesas, revelaron la presencia de: a) escamas o tricomas escamosos glandulares, pluricelulares, sésiles, y b) esclereidas de pared gruesa, filiformes, a veces ramificadas en los extremos. Las células epidérmicas presentaron paredes rectas y los estomas no se pudieron distinguir por estar cubiertos por las escamas (Figura 5: A y B).

Figura 5. Disociado leve de hojas de olivo

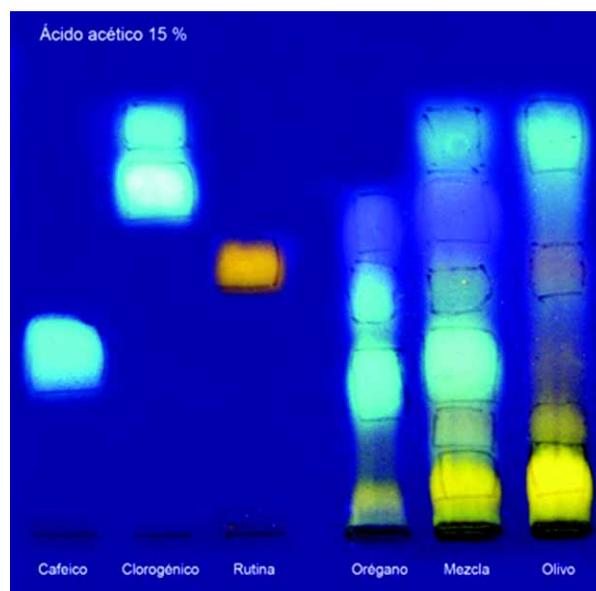


A. Escamas pluricelulares o tricomas escamosos glandulares. Escala: 50 μm .
B. Esclereidas filiformes. Escala: 200 μm .

El perfil cromatográfico muestra una clara diferencia entre las especies: en el orégano se observa una alta concentración de ácido cafeico (compuesto celeste, Rf_{x100} : 35), mientras que en el olivo se observó una alta concentración de ácidos clorogénicos (compuestos celestes, Rf_{x100} : 68-81), luteolina, apigenina y flavonoides derivados (compuestos amarillos, Rf_{x100} : 11-21) y una baja concentración de rutina (compuesto anaranjado, Rf_{x100} : 53). Las

muestras que incorporan ambas especies presentaron cromatogramas donde se expresan todos los compuestos mencionados (Figura 6).

Figura 6.- Cromatografía en capa delgada de los extractos metanólicos y comparación con testigos



Discusión y conclusión

Por las características mencionadas, la comparación con la bibliografía y con materiales de referencia, las hojas coriáceas se identificaron como hojas de olivo (*Olea europaea* L. -Oleaceae-). La presencia de escamas y de esclereidas filiformes, elementos característicos del olivo, confirma la identidad de esa especie. Tres marcas comerciales presentaron porcentajes elevados de hojas de olivo. Estos porcentajes producen una marcada disminución en la proporción de las partes usadas de la planta (hojas, brácteas y flores). Se concluye, entonces, que las hojas de olivo constituyen una adulteración notoria de las muestras de orégano.

Los elementos genuinos del orégano coincidieron con los observados en estudios anteriores realizados (Varela y col., 2007). Se encontró también, que en la mayoría de las muestras el porcentaje de tallos propios es muy superior al establecido por el CAA.

Como se expresó el porcentaje total de materia extraña permitida es del 5 %, mientras que en las muestras analizadas se detectó un porcentaje promedio del 16 %, con valores mínimos y máximos del 5 % al 30 %, respectivamente. Si se analiza el porcentaje de las hojas de orégano presentes, puede determinarse una gran variación entre las marcas analizadas, que varían entre el 20 % al 65 %. Para las sumidades floridas, el rango de variación se presenta entre el 30 % y el 70 % del material total.

Por lo expuesto, se concluye que el agregado de materia extraña disminuye marcadamente la cantidad de las partes usadas del orégano y, de esta manera, afecta la calidad del producto.

Si se considera, además, la variación observada en la composición química de los polifenoles, se deduce que este tipo de irregularidades afectan en forma negativa las cualidades químicas de las muestras analizadas.

La metodología empleada en este estudio resulta relativamente sencilla para realizarla en los laboratorios de baja complejidad, con el objeto de detectar adulteraciones y optimizar el control de calidad del producto comercializado.

Agradecimientos

Este trabajo fue subvencionado por el proyecto UBACYT-20020100100459 (2011-2014).

Referencias bibliográficas

- Código Alimentario Argentino (1969). Capítulo XVI, artículo 1226.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. (1986). *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 51-53.
- Lenardis, A.; Gil, A.; Morvillo, C. (2006). "Orégano" en Elba De La Fuente y col. (ed) *Cultivos Industriales* Cap. 4.3. EFA. Buenos Aires: 509-544.
- Mabry, T.J.; Markham, K.R.; Thomas, M.B. (1970). *The Systematic Identification of the Flavonoids*. Springer-Verlag, Berlin, New York: 1-175.
- Markham, K.R. (1982). *Techniques of Flavonoid Identification*. Academic Press, London: 1-113.
- Muñoz Centeno, L.M. (2002). "Plantas medicinales españolas: *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) (orégano)". *Acta Botanica Malacitana* 27: 273-280.
- Norma IRAM 37500 (1993). "Drogas vegetales. Método para su control por la técnica de disociación débil". *Instituto Argentino de Normalización y Certificación*.
- Norma IRAM 37506 (1994). "Drogas vegetales. Muestreo. Obtención de la muestra para ensayo". *Instituto Argentino de Normalización y Certificación*.
- Roig, F.A. (2001). *Flora medicinal mendocina*. EDIUNC, Mendoza: 214-215.
- Rouquaud, E. y Videla, M. (2000). "Oréganos de Mendoza (Argentina)". *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 32(1): 23-32.
- Varela, B.G.; Ganopol, M.J.; Gurni, A.A. (2007). "Estudio anatómico preliminar en hojas de oréganos comercializados en la ciudad de Buenos Aires (Argentina)". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 6(6): 388-389.
- Wagner, H. y Bladt, S. (1996). *Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas*. Second edition. Springer-Verlag, Berlin: 195-244.
- World Health Organization. (1998). *Quality control methods for medicinal plant material*. WHO Library Cataloguing in Publication Data, Genève: 13-28.
- Xifreda, C.C. (1983). "Sobre oréganos cultivados en Argentina". *Kurtziana* 16: 133-148.
- Xifreda, C.C. (1990). "Los nombres científicos correctos de dos oréganos híbridos (Lamiaceae)". *Taxon* 39(3): 523-525.
- Xifreda, C.C. (2005). "Identificación micromorfológica y taxonómica de muestras comerciales de orégano (*Origanum* L., Lamiaceae)". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 40 (supl.): 88.

Variación en la composición de polifenoles en *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) en respuesta a la infestación por *Cecidoses eremita* Curtis (Lepidoptera-Cecidosidae)

Ignacio J. Agudelo y Rafael A. Ricco*

Cátedra de Farmacobotánica. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junín 956 (1113) Ciudad Autónoma de Buenos Aires. República Argentina.

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

Resumen

Schinus longifolius (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) es una especie empleada como expectorante y purgante en la medicina popular argentina. Es infectada por diversos insectos, como *Calophya mammifex* (Hemiptera:Psyllidae) y *Cecidoses eremita* Curtis (Lepidoptera - Cecidosidae), al promover la formación de agallas foliares y caulinares dentro de las cuales el insecto desarrolla su ciclo vital. El objetivo del trabajo abarca el estudio de las posibles variaciones del perfil de polifenoles asociados a la infestación por *Cecidoses eremita* de los tallos de *Schinus longifolius*. Se analizaron los fenoles totales, los taninos totales, las proantocianidinas, los flavonoides totales y los ácidos hidroxicinámicos totales de los tallos sanos y de las agallas caulinares de *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) infectado por *Cecidoses eremita* Curtis (Lepidoptera-Cecidosidae). La agalla presenta una variación cuali-cuantitativa del perfil de polifenoles respecto del tallo sano, y se determina aumento de los fenoles, taninos, flavonoides y ácidos hidroxicinámicos, y disminución en el contenido de las proantocianidinas respecto del tallo sano. Estos resultados toman relevancia cuando son analizados desde el punto de vista del control de calidad de una droga vegetal. La presencia de agallas produciría cambios en el perfil de los polifenoles, que se podrían ver acompañados de una modificación en la actividad farmacológica esperada.

Variation in the polyphenols composition in *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) in response to infestation by *Cecidoses eremita* Curtis (Lepidoptera-Cecidosidae)

Summary

Schinus longifolius (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) is a species used as expectorant and purgative in the Argentinian folk medicine. It is infected by various insects, as *Calophya mammifex* (Hemiptera: Psyllidae) and *Cecidoses heremita* Curtis (Lepidoptera - Cecidosidae), leading to the formation of leaf and stem galls within these the insect carries out its life cycle. The aim of this work includes the study of possible variations in the polyphenol profile associated with infestation of *Schinus longifolius* stems by *Cecidoses eremita*. Total phenols, total tannins, proanthocyanidins, total flavonoids and total hydroxycinnamic acids of healthy stems and galls of *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) infected by *Cecidoses eremita* Curtis

Palabras clave: agallas - *Cecidoses eremita* - polifenoles - *Schinus longifolius*.

Key words: aalls - *Cecidoses eremita* - polyphenols - *Schinus longifolius*.

(Lepidoptera–Cecidosidae) were analyzed. The galls present qualitative and quantitative changes in the profile of the polyphenolic compounds analysed regarding the healthy stem, with a higher content of total phenols, tannins, flavonoids and hydroxycinnamic acids and a lower content of proanthocyanidins. These results become significant when they are analyzed from the point of view of the quality control of a plant drug. The presence of galls produce changes in the profile of polyphenols, which may be accompanied by a change in the expected pharmacological activity.

Introducción

Schinus longifolius (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) es un árbol originario de Sudamérica, muy común en la zona de las barrancas del delta del Paraná, y ha sido mencionado como expectorante y purgante en la medicina popular argentina (Cabrera y Zardini, 1978; Lahitte y col., 1998). El árbol es infectado por diversos insectos galígenos, como *Calophya mammifex* (Hemiptera: Psyllidae) (Agudelo y col., 2013) y *Cecidoses eremita* Curtis (Lepidoptera - Cecidosidae).

Las agallas o cecidias son estructuras generadas por un organismo inductor sobre un vegetal (Meyer, 1987), que induce un crecimiento anómalo de la planta. Esta formación le permite al insecto nutrirse y cumplir su ciclo vital. Se producen así fenómenos de hipertrofia e hiperplasia celular, que generan no solo la estructura anómala antes mencionada, sino también cambios en la producción de metabolitos secundarios (Bronner, 1977; Shorthouse, 1986; Hartley y Lawton, 1992; Hartley, 1998; Stone y Schönrogge, 2003).

Las agallas se han utilizado desde tiempos ancestrales como droga vegetal con propiedades astringentes, cicatrizantes, antidiarreicas, en el tratamiento de la disentería, en procesos inflamatorios y heridas, en enfermedades de la cavidad oral, garganta y en el tratamiento de la hemorroide, entre otros (Khare, 2007). Los compuestos polifenólicos son importantes mediadores en las interacciones bióticas y abióticas de las plantas (Waterman y Mole, 1994), y tienen una especial importancia en la relación con los insectos fitófagos, donde cumplen una función defensiva (Waterman y Mole, 1994; Matsuki, 1996; Harborne y Williams, 2000; Simmonds, 2001, 2003). Dentro de los compuestos polifenólicos podemos contar los taninos hidrolizables y condensados, los flavonoides y los ácidos hidroxicinámicos, derivados del ácido cafeico (Quideau y col., 2011).

Se ha informado la presencia de fenoles tóxicos en la familia Anacardiaceae, los cuales serían una defensa de la planta frente al ataque de insectos herbívoros y hongos (Joel, 1980; Cojocar y col., 1986; Mitchell, 1990).

Respecto de los estudios fitoquímicos previos al realizado en este trabajo la información sobre los compuestos polifenólicos de *S. longifolius* es muy escasa (Frontera y Tomas, 1994).

El objetivo del trabajo abarca el estudio de las posibles variaciones del perfil de polifenoles asociados a la infestación por *Cecidoses eremita* de los tallos de *Schinus longifolius*.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se analizaron los tallos sanos y las agallas caulinares de seis ejemplares de *Schinus longifolius* infestados por *Cecidoses eremita* (Lepidoptera-Cecidosidae), recolectados en el barrio La Florida, Zárate, Provincia de Buenos Aires (febrero 2011). Todos los ejemplares se encontraban en el mismo estado fenológico. Tanto los insectos como las plantas fueron identificados por claves taxonómicas (Cabrera y Zardini, 1978; Burckhard y Basset, 2000).

Los ejemplares de referencia (Serie 2012 / N° 9; Serie 2012 / N° 10) se encuentran depositados en el herbario del Museo de Farmacobotánica “Juan Aníbal Domínguez” FFyB-UBA.

Obtención del extracto original metanólico (EOM)

Se partió de 200 mg de material seco y molido. La extracción se llevó a cabo con 10 mL de metanol acuoso al 80 %, a temperatura ambiente, durante 24 horas. Posteriormente se filtró y se descartó el

marco. El extracto así obtenido (EOM) fue utilizado en todos los ensayos.

Análisis cualitativo de los polifenoles (fingerprint de polifenoles)

Fue realizado por medio de cromatografías bidimensionales en capa delgada de celulosa (TLC y HPTLC), según la metodología estándar (Mabry y col., 1970, Markham, 1982).

Para el análisis bidimensional de los flavonoides y los ácidos hidroxicinámicos se empleó el sistema de solventes TBA (terbutanol-ácido acético-agua, 3:1:1) para la primera dimensión y ácido acético al 15 % para la segunda dimensión. Los cromatogramas se observaron a la luz ultravioleta ($\lambda = 366$ nm) antes y después de ser expuestos a vapores de amoníaco. Posteriormente fueron revelados con el reactivo de productos naturales (NPR) (Wagner y Bladt, 1996) y luego observados nuevamente a la luz ultravioleta de 366 nm.

Se obtuvo así el patrón de distribución de los compuestos para el material en estudio que orientará acerca de su composición cualitativa.

Cuantificación de los fenoles totales

Fueron determinados mediante el método de Folin-Ciocalteu de acuerdo con Makkar y col. (1993).

Alicuotas (50 μ L) de los extractos fueron transferidas a tubos de ensayos y el volumen llevado a 500 μ L con agua desionizada. Se adicionaron a continuación 250 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu y 1,25 mL de solución acuosa de carbonato de sodio al 20 %. Luego de 40 minutos la absorbancia fue medida a 725 nm. Se realizó una curva de calibración con ácido tánico. Se empleó una solución madre de concentración 0,1 mg/mL, abarcando un rango de 2-10 μ g de ácido tánico en el volumen final de reacción. El contenido de los fenoles totales fue expresado como equivalentes de ácido tánico (mg ácido tánico/g material seco). Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

Cuantificación de los taninos totales

El contenido de los taninos totales fue determinado por el procedimiento de Folin-Ciocalteu, luego de remover los taninos mediante su precipitación con solución de seroalbúmina bovina (BSA) (bu-

ffer acetato 0,2 M pH 5,0; cloruro de sodio 0,17 M y 1,0 mg/mL de fracción V de BSA. (Ricco y col., 2011): 1 mL de solución de BSA fue adicionado a 1 mL de extracto. Luego de 15 minutos a temperatura ambiente, los tubos fueron centrifugados a 5.000 rpm. Alicuotas del sobrenadante (50 μ L) fueron analizadas según el procedimiento detallado para los fenoles totales. Los valores obtenidos fueron restados de los correspondientes a los fenoles totales y se obtuvo el total de fenoles que se comportan como taninos (taninos totales). El contenido de los taninos totales fue expresado como equivalentes de ácido tánico (mg ácido tánico/g material seco). Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

Cuantificación de los taninos condensados (proantocianidinas, PA)

Los taninos condensados fueron determinados mediante la reacción de la proantocianidina, según el método descrito por Ricco y col., 2011. Alicuotas de 0,50 mL de los extractos fueron transferidas a tubos de ensayos y se agregaron 3,0 mL del reactivo butanol-HCl (butanol:HCl, 95:5 V/V) y 0,1 mL de reactivo férrico al 2 % (2 % sulfato férrico-amónico en HCl 2 M). Los tubos fueron agitados y puestos en ebullición a baño María durante 60 minutos. Luego de enfriarlos, se midieron las absorbancias a 550 nm contra un blanco. Las proantocianidinas se expresaron como absorbancia a 550 nm. Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

Cuantificación de los flavonoides totales

Alicuotas de 0,1 mL de cada extracto fueron adicionadas a 1,4 mL de agua desionizada y 0,50 mL del reactivo de flavonoides (133 mg tricloruro de aluminio, 400 mg acetato de sodio en 100 mL de solvente constituido por 140 mL de metanol, 50 mL agua, 10 mL de ácido acético). Luego de 30 minutos a temperatura ambiente, la absorbancia fue medida a 430 nm (Maksimovic y col., 2005). Se realizó una curva de calibración con rutina, que cubrió un rango de concentración entre 10 y 50 μ g/mL. El contenido de los flavonoides fue expresado como equivalentes de rutina (mg rutina/g material seco). Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

Cuantificación de los ácidos hidroxicinámicos totales

Se determinó mediante una modificación de la metodología descrita por Dao y Friedman (1992). Alícuotas de 50 μ L de cada extracto fueron llevadas a volumen (2 mL) con etanol absoluto. Se determinó la absorbancia a 328 nm. Se realizó una curva de calibración con ácido clorogénico (solución madre 1 mg/mL), que abarcó un rango de 5 - 40 μ g de ácido clorogénico en el volumen final de reacción. Los valores se expresaron como equivalentes de ácido clorogénico (mg de ácido clorogénico/g material seco). Los ensayos se realizaron por triplicado.

Análisis microscópico

Con el objeto de realizar una determinación preliminar de la estructura de las agallas se realizaron disociados del material vegetal.

Partiendo de material fresco se realizaron disociaciones leves (NaOH 5 %) y fuertes (KOH 10 % y ácido crómico 25 %). El método de disociado leve consistió en someter el material vegetal a la acción de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 5 %, durante 5 min, a ebullición. Luego se enfrió y se lavó el material disociado con agua destilada y se observó con el microscopio. El disociado fuerte consistió en someter el material vegetal a la acción de una solución acuosa de hidróxido de potasio,

durante 10 min, a ebullición. Se enfrió y se lavó con agua hasta la eliminación del hidróxido. Luego se agregó la solución de ácido crómico y se dejó actuar por una hora. Se lavó posteriormente con abundante agua y se observó con el microscopio.

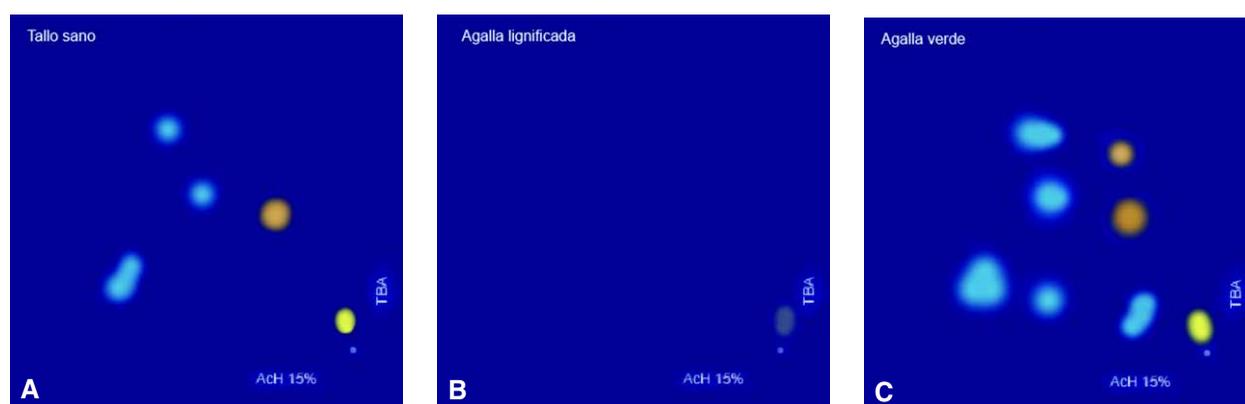
El disociado fue analizado mediante el empleo de microscopía de campo claro. Se empleó un microscopio Leitz-Wetzlar provisto de una cámara digital Canon EOS Rebel.

Resultados

En el análisis del perfil cromatográfico bidimensional de los polifenoles se observa una variación cuali-cuantitativa, determinada por un aumento de estos metabolitos en los extractos provenientes de las agallas jóvenes, cuando se los compara con los provenientes de los tallos sanos. Puede observarse la presencia de dos grupos de compuestos principales: los flavonoides (compuestos amarillos y anaranjados) y los ácidos hidroxicinámicos (compuestos celestes) (revelador: NPR y UV 366 nm) (Figuras 1A, 1B y 1C).

Estos resultados son concordantes con los provenientes del análisis cuantitativo, donde las concentraciones de los fenoles totales, los taninos totales, los flavonoides totales y los ácidos hidroxicinámicos totales se ven aumentadas en los extractos derivados de las agallas jóvenes respecto de los tallos sanos.

Figura 1.- Perfiles cromatográficos bidimensionales de polifenoles

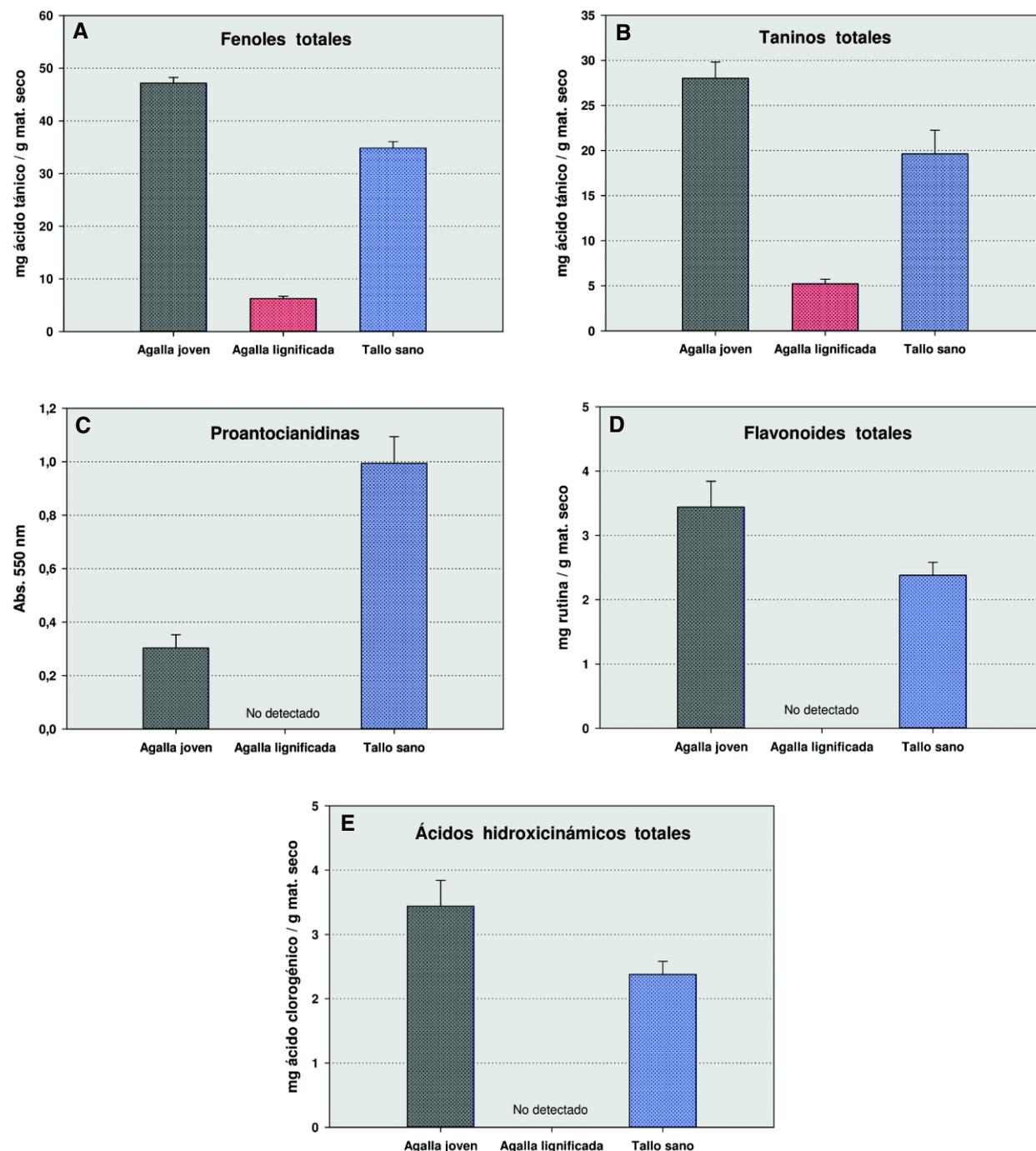


A: Perfil cromatográfico bidimensional de polifenoles para el tallo sano. Revelador: NPR - UV 366 nm (Foto digital, procesada); **B:** Perfil cromatográfico bidimensional de polifenoles para la agalla lignificada. Revelador: NPR - UV 366 nm (Foto digital, procesada); **C:** Perfil cromatográfico bidimensional de polifenoles para la agalla verde. Revelador: NPR - UV 366 nm (Foto digital, procesada).

Una situación opuesta se presenta en el análisis de los taninos condensados (proantocianidinas), donde las agallas jóvenes presentan concentraciones menores respecto de los tallos sa-

nos. En el análisis de las agallas lignificadas se determinaron los niveles más bajos de todos los compuestos polifenólicos analizados (Figuras 2A, 2B, 2C, 2D y 2E).

Figura 2.- Cuantificación de compuestos polifenólicos



A: Cuantificación de fenoles totales; **B:** Cuantificación de taninos totales; **C:** Cuantificación de proantocianidinas; **D:** Cuantificación de flavonoides totales; **E:** Cuantificación de ácidos hidroxicinámicos totales. Los resultados se expresan como media \pm desvío estándar.

En lo que respecta a la estructura de la agalla, presenta una estructura formada principalmente por esclereidas isodiamétricas (Figuras 3A y 3B), tejido parenquimático y tejido conductor, y no se observó la presencia de tricomas en su epidermis, elementos que sí se encuentran presentes en el tallo sano (Figura 4).

Discusión

Si se realiza un análisis cuali-cuantitativo entre la agalla y el tallo sano, puede observarse que la agalla joven presenta mayor diversidad de compuestos (Figuras 1A y 1C) y mayores concentraciones de fenoles, taninos totales, flavonoides y ácidos hidroxicinámicos respecto del tallo sano (Figuras 2A, 2B, 2D y 2E).

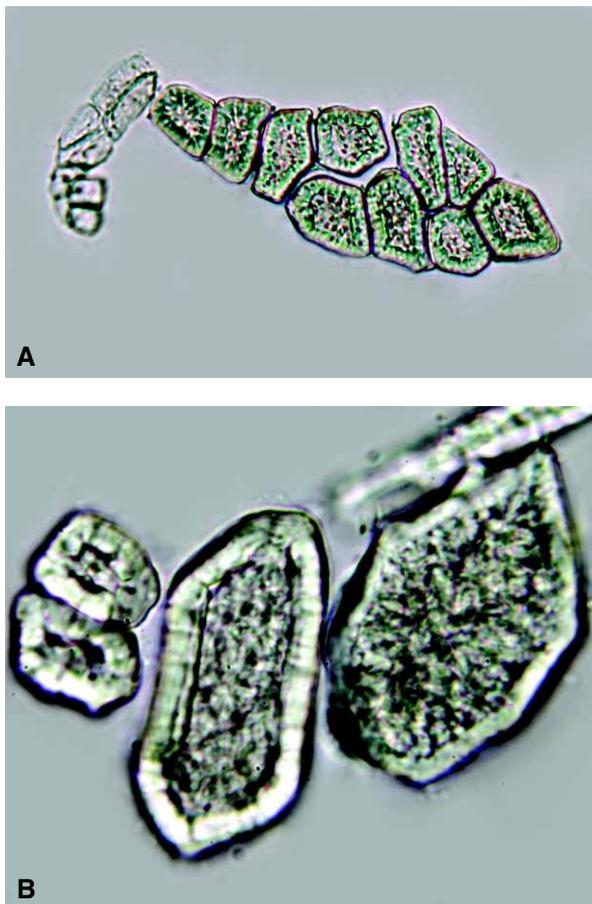
Una situación antagónica se presenta al analizar las proantocianidinas (taninos condensados), donde la agalla presenta niveles inferiores respecto del tallo sano (Figura 2C).

Cuando se analizó la agalla caulinar lignificada, presentó los valores más bajos de fenoles totales y no se detectaron proantocianidinas, flavonoides ni ácidos hidroxicinámicos, y correspondió a una estructura fuertemente lignificada que ya ha cumplido su ciclo en el desarrollo del insecto (Figuras 1B, 2A, 2B, 2C, 2D y 2E).

En el examen micrográfico la agalla presenta en su estructura un predominio de esclereidas (Figuras 3A y 3B), células de paredes gruesas y lignificadas, que actuarían protegiendo al insecto de condiciones abióticas desfavorables (*hipótesis microambiental*) (Cornell, 1983; Price y col., 1987; Blanche, 2000), como así también constituiría una estructura de protección contra los ataques de los enemigos naturales (*hipótesis del enemigo*) (Rossi y col., 1992; Zwölfer y Arnold-Rinehart, 1994; Abrahamson y Weis, 1997; Weis, 1982; Stone y col., 2002). Se sumaría además el aumento de metabolitos polifenólicos en la agalla, compuestos frecuentemente involucrados en los mecanismos de defensa química.

Si se comparan estos resultados con los obtenidos para *Calophya mammifex* (Hemiptera-Psyloidea), puede determinarse un comportamiento opuesto, donde la agalla producida por *C. mammifex* presenta menores concentraciones de fenoles, taninos, flavonoides y ácidos hidroxicinámicos y mayor concentración de

Figura 3.- Agalla



A: Disociado leve. Esclereidas. (100x); **B:** Agalla. Disociado fuerte. Esclereidas. (400x).

Figura 4.- Tallo sano



Disociado leve. Tricomas tectores unicelulares y glandulares de pie uni-bicelular y cabeza pluricelular. (100x).

proantocianidinas respecto de las hojas sanas (Agudelo y col., 2013). Si bien la agalla muestra menores concentraciones de taninos totales respecto de las hojas sanas, una gran parte de esos taninos corresponden a taninos condensados (proantocianidinas). La presencia de polifenoles de alto peso molecular en los tejidos de la agalla constituiría una importante barrera de protección para el insecto.

En el caso aquí analizado, la agalla inducida por *C. eremita* carece de esta característica defensiva en particular, donde esa función estaría mediada por la alta concentración de los demás metabolitos analizados.

Como se puede observar, los resultados obtenidos difieren claramente según el insecto involucrado, evidencia experimental que muestra que esa interacción no es de tipo inespecífica, ya que la expresión de los polifenoles es diferente en cada caso.

Por otro lado, es importante mencionar que distintos insectos inducen a menudo agallas morfológicamente diferentes en la misma planta y al mismo tiempo (Nyman y col., 2000; Stone y col., 2002).

Conclusión

La infestación de los tallos de *Schinus longifolius* por *Cecidoses eremita* produce importantes cambios en el perfil de los polifenoles.

La dinámica de polifenoles de las agallas de *Schinus longifolius* no sería una respuesta general e inespecífica de la planta a la infección por insectos galígenos, dado que diferentes insectos originan diferentes respuestas.

Estos resultados toman relevancia cuando son analizados desde el punto de vista del control de calidad de una droga vegetal. Dado el empleo de esta especie como expectorante y purgante, las variaciones fitoquímicas observadas podrían traducirse en una modificación de la actividad farmacológica esperada.

Agradecimientos

Este trabajo fue subvencionado por el proyecto UBACYT-20020100100459 (2011-2014).

Referencias bibliográficas

- Abrahamson, W.G.; Weis, A.E. (1997). "Evolutionary ecology across three trophic levels: goldenrod, gall makers and natural enemies" en *Monographs in population biology*. Princeton University Press: 3-13.
- Agudelo, I.; Wagner, M.L.; Gurni, A.A.; Ricco, R.A. (2013). "Dinámica de polifenoles y estudio anatómo-histoquímico en *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) en respuesta a la infección por *Calophya mammifex* (Hemiptera - Calophyidae)". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 12(2): 162-175.
- Blanche, K.R. (2000). "Diversity of insect-induced galls along a temperature-rainfall gradient in the tropical savannah region of the Northern territory, Australia". *Australian Ecology* 25: 311-318.
- Bronner, R. (1977). "Contribution à l'étude histochemique des tissus nourriciers des zooecidies". *Marcellia* 40: 1-134.
- Burckhard, D.; Basset, Y. (2000). "The jumping plant-lice (Hemiptera, Psylloidea) associated with *Schinus* (Anacardiaceae): systematics, biogeography and host plant relationships". *Journal of Natural History* 34: 57-15.
- Cabrera, A.L.; Zardini, E.M. (1978). *Manual de las plantas de los alrededores de Buenos Aires*. Editorial Acme. Buenos Aires: 1-755.
- Cornell, H.V. (1983). "The secondary chemistry and complex morphology of galls formed by the Cynipinae. Why and how?". *American Midland Naturalist* 110(1): 225-234.
- Cojocar, M.; Droby, S.; Glotter, E.; Goldman, A.; Gottlieb, H.E.; Jacoby, B.; Prusky, D. (1986). "5-(12-Heptadecenyl)-resorcinol, the major component of the antifungal activity in the peel of mango fruit". *Phytochemistry* 25: 1093-1095.
- Dao, L.; Friedman, M. (1992). "Chlorogenic acid content of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 2152-2150.
- Frontera M.A.; Tomás M.A. (1994). "Estudio Químico de la planta *Schinus longifolius* L.". *Anales de la Asociación Química Argentina*. 82(5): 365-370.
- Harbone, J.B.; Williams, C. (2000). "Advances in

- flavonoid research since 1992". *Phytochemistry* 55: 481-504.
- Hartley, S.E.; Lawton, J.H. (1992). "Host-plant manipulation by gall-insects: a test of the nutrition hypothesis". *Journal of Animal Ecology* 61(1): 113-119.
- Hartley, S.E. (1998). "The chemical composition of plant galls: are levels of nutrients and secondary compounds controlled by the gall-former?". *Oecologia* 113: 492-501.
- Joel, D.M. (1980). "Resin ducts in the mango fruit: a defense system". *Journal of Experimental Botany* 31: 1707-1718.
- Khare, C.P. (2007). *Indian Medicinal Plants*. Ed. Springer-Verlag. Berlin/Heidelberg: 1-836.
- Lahitte, H.B.; Hurrell, J.A.; Belgrano, M.L.; Jankowski, L.S.; Haloua, M.P.; Mehlreter, K. (1998). *Plantas medicinales Rioplatenses*. LOLA. Buenos Aires: 1-240.
- Mabry, T.J.; Markham, K.R.; Thomas, M.B. (1970). *The Systematic Identification of the Flavonoids*. Springer-Verlag. Berlin and New York: 1-175.
- Makkar, H.P.S.; Bluemmel, M.; Borowy, N.K.; Becker, K. (1993). "Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods". *Journal of the Science of Food and Agriculture* 61: 161-165.
- Maksimovic, Z.; Malencic, D.; Kovacevic, N. (2005). "Polyphenol contents and antioxidant activity of Mayadis stigma extracts". *Bioreserch Technology* 96: 873-877.
- Markham, K.R. (1982). *Techniques of Flavonoid Identification*. Academic Press. London: 1-113.
- Matsuki, M. (1996). "Regulation of plant phenolic synthesis: from biochemistry to ecology and evolution". *Australian Journal of Botany* 44: 613-634.
- Meyer, J. (1987). *Plant Galls and Gall Inducers*. Gebrüder Borntraeger (ed.). Berlin, Stuttgart: 291.
- Mitchell, J.D. (1990). "The poisonous Anacardiaceae genera of the world". *Advances in Economic Botany* 8: 103-129.
- Nyman T.; Widmer, A.; Roininen, H. (2000). "Evolution of gall morphology and host-plant relationships in willow-feeding sawflies (Hymenoptera: Tenthredinidae)". *Evolution* 54(2): 526-533.
- Price, P.W.; Fernandes, G.W.; Waring, G.L. (1987). "Adaptive nature of insect galls". *Environmental Entomology* 16(1): 15-24.
- Quideau, S.; Deffieux, D.; Douat-Casassus, C.; Pouységu, L. (2011). "Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities and synthesis". *Angewante Chemie International Edition* 50(3): 586-621.
- Ricco, R.A.; Agudelo, I., Garcés, M., Evelson, P., Wagner, M.L.; Gurni, A.A. (2011). "Polifenoles y actividad antioxidante en *Equisetum giganteum* L. (Equisetaceae)". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 10(4): 325-332.
- Rossi, A.M.; Stiling, P.D.; Strong, D.R.; Johnson, D.M. (1992). "Does gall diameter affect parasitism of *Asphondylia borrichiae* (Diptera: Cecidomyiidae)?" *Ecological Entomology* 17: 149-154.
- Shorthouse, J.D. (1986). "Significance of nutritive cells in insect galls". *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 88: 368-375.
- Simmonds, M. (2001). "Importance of flavonoids in insect-plant interactions: feeding and oviposition". *Phytochemistry* 56: 451-252.
- Simmonds, M. (2003). "Flavonoid-insect interactions: recent advances in our knowledge". *Phytochemistry* 64: 21-30.
- Stone, G.N.; Schönrogge, K.; Atkinson, R.J.; Bellido, D.; Pujade-Villar, J. (2002). "The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera -Cynipidae)". *Annual Review of Entomology* 47: 633-668.
- Stone, G.; Schönrogge, K. (2003). "The adaptative significance of insect gall morphology". *Trends in Ecology and Evolution* 18: 512-522.
- Wagner, H; Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis*. 2nd Ed., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 362
- Waterman, P.G.; Mole, S. (1994). *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Blackwell Scientific Publications (ed.). Cambridge, MA, USA: 45-65.
- Weis, A.E. (1982). "Use of a symbiotic fungus by the gall maker *Asteromyia carbonifera* to inhibit attack by the parasitoid *Torymus capite*". *Ecology* 63: 1602-1605.
- Zwölfer, H.; Arnold-Rinehart, J. (1994). "Parasitoids as a driving force in the evolution of the gall size of *Urophora* on *Cardueae* hosts" en *Plant Galls: Organisms, Interactions, Populations*. Williams, M.A.J. (ed) Clarendon Press: 245-257.

Búsqueda de compuestos antiprotozoarios en especies de la flora medicinal argentina

Valeria P. Sülsen*

Cátedra de Farmacognosia, IQUIMEFA (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, 2° piso (1113) Buenos Aires, Argentina.

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

Compendio de tesis

Lugar y fecha de aprobación de la tesis:

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. 16 de marzo de 2009.

Resumen

Los extractos orgánicos y acuosos de once especies medicinales argentinas fueron evaluados *in vitro* sobre epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*. Las especies *Ambrosia tenuifolia*, *A. scabra*, *Baccharis spicata*, *Acanthostyles buniifolium* (Asteraceae), *Lippia integrifolia* (Verbenaceae) y *Clinopodium gilliesii* (Lamiaceae) fueron activas con inhibiciones mayores al 70 % en la concentración de 100 µg/ml. Los extractos orgánicos de *A. tenuifolia* y de *A. scabra* presentaron además, actividades leishmanicida y antiplasmódica con porcentajes de inhibición superiores al 50 y 40 %, respectivamente, a 10 µg/ml. Del fraccionamiento bioquímico del extracto orgánico de *A. tenuifolia* se aislaron dos lactonas sesquiterpénicas y un flavonoide activos sobre epimastigotes de *T. cruzi*: psilostachina (IC₅₀ = 1,2 µg/ml) y peruvina (IC₅₀ = 1,6 µg/ml) e hispidulina (IC₅₀ = 14,0 µg/ml), respectivamente. A partir del extracto orgánico de *A. scabra* se aisló la lactona sesquiterpénica psilostachina C, que fue activa con un valor de IC₅₀ de 0,6 µg/ml. La psilostachina y la psilostachina C también fueron activas *in vitro* sobre tripomastigotes de *T. cruzi*, promastigotes de *Leishmania mexicana* y sobre cepas sensibles y resistentes a cloroquina de *Plasmodium falciparum*. Ambos compuestos presentaron actividad *in vivo* sobre ratones infectados con *T. cruzi*, disminuyeron el número de parásitos circulantes y aumentaron el tiempo de sobrevida de los animales. Psilostachina y psilostachina C indujeron alteraciones ultraestructurales en *T. cruzi* a concentraciones menores que 1 µg/ml.

Search for antiprotozoal compounds in species of the Argentine medicinal flora

Summary

The organic and aqueous extracts of eleven Argentinian medicinal plants have been tested for their *in vitro* trypanocidal activity on *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. The species *Ambrosia tenuifolia*, *A. scabra*,

Palabras clave: *Ambrosia* spp. - lactonas sesquiterpénicas - flavonoides - psilostachina - psilostachina C - *Trypanosoma cruzi* - *Leishmania* sp. - *Plasmodium falciparum*.

Key words: *Ambrosia* spp. - sesquiterpenelactones - flavonoids - psilostachyin - psilostachyin C - *Trypanosoma cruzi* - *Leishmania* sp. - *Plasmodium falciparum*.

Baccharis spicata, *Acanthostyles buniifolium* (Asteraceae), *Lippia integrifolia* (Verbenaceae) y *Clinopodium gilliesii* (Lamiaceae) showed trypanocidal activity with percentages of growth inhibition higher than 70 % at a concentration of 100 µg/ml. The organic extracts of *A. tenuifolia* and *A. scabra* showed leishmanicidal and antiplasmodial activities with percentages inhibitions higher than 50 and 40 %, respectively, at 10 µg/ml. Bioassay guided fractionation of the organic extract of *A. tenuifolia* led to the isolation of two sesquiterpenelactones and one flavonoid that were active against *T. cruzi* epimastigotes: psilostachyin (IC₅₀ = 1,2 µg/ml) and peruvín (IC₅₀ = 1,6 µg/ml) and hispidulin (IC₅₀ = 14,0 µg/ml). From the organic extract of *A. scabra* the sesquiterpenelactone psilostachyin C was isolated, showing an IC₅₀ value of 0,6 µg/ml on *T. cruzi* epimastigotes. Psilostachyin and psilostachyin C were also active *in vitro* on *T. cruzi* trypomastigotes, *Leishmania mexicana* promastigotes and on chloroquine-sensitive and chloroquine-resistant strains of *Plasmodium falciparum*. Both compounds showed *in vivo* activity on *T. cruzi* infected mice, lowering parasitemia levels and increasing the survival rate of the animals. Psilostachyin and psilostachyin C induced ultrastructural alterations on *T. cruzi* at concentrations below 1 µg/ml.

Las enfermedades protozoarias

Las enfermedades causadas por protozoos, como la enfermedad de Chagas, la leishmaniasis y la malaria, continúan siendo un importante problema de salud pública que afecta a millones de personas, en particular, en los países en desarrollo. Estas enfermedades son consideradas entre las más prevalentes y de mayor impacto en el nivel mundial no solo por el número de personas afectadas y en riesgo de adquirir la infección, sino también por la discapacidad y la deformidad (graves y permanentes) que producen y por ende, el efecto en el desarrollo económico de los países donde estas enfermedades son endémicas.

En Latinoamérica, la enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, ocupa el cuarto lugar en importancia como causa de discapacidad y, en consecuencia, se constituye en un problema grave de salud en el continente. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), existen alrededor de 10 millones de personas infectadas en el mundo, principalmente en Latinoamérica, y se considera que más de 25 millones de personas están en riesgo de contraer la enfermedad. Se estima que durante el año 2008 más de 10 mil personas murieron a causa de esta enfermedad (OMS, 2010). La enfermedad de Chagas es producida por el *T. cruzi*, parásito responsable de daños progresivos a diferentes órganos, principalmente el corazón, el esófago y el intestino grueso. En su ciclo biológico participan, como vectores, insectos triatomíneos

(*Triatoma infestans*) conocidos en la Argentina como “vinchucas”, y como “barbeiros” en Brasil. El mal de Chagas es la principal enfermedad endémica de importancia sanitaria en la República Argentina con aproximadamente 2 a 3 millones de personas infectadas de las cuales entre un 25 a un 30 % desarrollan cardiopatías graves (ALCHA, 2012; DNDi, 2010; Fernández Carral y col., 2010). La enfermedad de Chagas afecta principalmente a las áreas rurales del interior de la Argentina, donde habita el vector *T. infestans*. Sin embargo, las migraciones internas y externas ocurridas en los últimos años desde zonas endémicas hacia las grandes ciudades, ha dado como resultado la “urbanización” de la enfermedad de Chagas. Debido a esta situación, se encuentran personas infectadas viviendo en zonas marginales del conurbano bonaerense y en países desarrollados como Estados Unidos, Canadá y países europeos (Fernández Carral y col., 2010; Graebín y col., 2009; De Rosa y col., 2010; Auger y col., 2005).

La leishmaniasis es una parasitosis producida por protozoos del género *Leishmania*, caracterizada por lesiones cutáneas, mucosas o viscerales y es transmitida por las picaduras de insectos dípteros de la sub-familia Phlebotominae. Esta enfermedad afecta aproximadamente a 12 millones de personas en el mundo y se estima que se producen 2 millones de casos nuevos por año (OMS, 2012a). En la Argentina, la leishmaniasis es endémica en las provincias del norte, donde es frecuente encontrar pacientes coinfectados con *T. cruzi* y *Leishmania* sp. (Frank y col., 2003).

La malaria o paludismo es una enfermedad infecciosa producida por especies de *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*) y tiene como vector a insectos del género *Anopheles*. De acuerdo con la OMS, durante el año 2010 esta enfermedad afectó a 216 millones de personas y se estima que se produjeron 655 mil muertes (OMS, 2012b). En la Argentina, esta enfermedad afecta principalmente a la región norte, donde los casos están ligados, por lo general, a movimientos migratorios en la zona de fronteras (OPS, 2008). La malaria causada por el *P. falciparum* es considerada la más seria, ya que a menudo resulta en casos fatales debido a complicaciones en el nivel cerebral. Actualmente esta especie es resistente a la cloroquina y a otras drogas antimaláricas.

Estas enfermedades protozoarias, junto con otras como el dengue, la fiebre amarilla y otras parasitosis como la filariasis y la esquistosomiasis, se conocen como “enfermedades olvidadas”, “enfermedades abandonadas” o “enfermedades desatendidas” ya que afectan principalmente a poblaciones pobres de los países en vías de desarrollo y permanecen al margen del mercado farmacéutico.

Las drogas utilizadas para el tratamiento de estas parasitosis se comercializan desde hace años y sus usos están limitados principalmente a causa de sus efectos adversos, su toxicidad, el costo y la resistencia emergente. Para el tratamiento de la enfermedad de Chagas se dispone únicamente de dos fármacos: nifurtimox y benznidazol, que fueron desarrollados en la década de 1970. Estas drogas son efectivas solamente durante la etapa aguda de la enfermedad y son poco toleradas por sus graves efectos adversos. Los fármacos utilizados para el tratamiento de la leishmaniasis son los antimoniales pentavalentes, la anfotericina B y la pentamidina. Estas drogas presentan toxicidad principalmente en los niveles renal y cardíaco, y se administran únicamente por vía parenteral. En el caso de la pentamidina se requiere un uso intrahospitalario, que muchas veces conduce a discontinuar el tratamiento. Para el tratamiento de la malaria se utilizan principalmente la quinina y sus derivados (mefloquina y cloroquina) y la sesquiterpenlactona artemisinina y sus análogos, artemeter, arteeter y artesunato. Las principales limitaciones de estas drogas están relacionadas con el desarrollo de resistencia del parásito, la seguridad y el elevado costo.

Las plantas como fuente de drogas anti-parasitarias

El uso de preparaciones a base de plantas con fines medicinales se remonta a los tiempos más antiguos; los primeros registros datan del año 2600 a.C. Los productos naturales derivados de las plantas han sido utilizados por las poblaciones para el tratamiento de numerosas enfermedades, principalmente las infecciosas y actualmente, la mayor parte de la población de los países en desarrollo todavía utiliza prácticas de la medicina tradicional y plantas medicinales para el cuidado primario de la salud (Cragg y col., 1999; Strohl, 2000; Phillipson, 1999).

Muchos fármacos que se utilizan actualmente en la terapéutica, han tenido su origen en la naturaleza. La utilización de *Digitalis purpurea* L. (Plantaginaceae) para el tratamiento de enfermedades cardíacas, condujo al aislamiento del agente cardiotónico digoxina. Además, hay numerosos ejemplos, como la morfina, analgésico aislado en 1816 de *Papaver somniferum* L. (Papaveraceae); la reserpina, agente antihipertensivo de *Rauwolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz (Apocynaceae); la efedrina aislada por primera vez de *Ephedra sinica* Stapf (Ephedraceae) en 1887 y la tubocurarina, relajante muscular aislado de especies de *Chondrodendron* Ruiz et Pavon (Menispermaceae). Los alcaloides atropina y pilocarpina, aislados de *Atropa belladonna* L. (Solanaceae) y especies de *Pilocarpus* Vahl (Rutaceae) respectivamente, y la vinblastina y la vincristina, de *Catharanthus roseus* (L.) G. Dohn (Apocynaceae) constituyen otros ejemplos de drogas obtenidas de plantas y que son utilizadas en la actualidad. Entre las drogas antiparasitarias se encuentran la quinina, aislada de la corteza de diferentes especies de *Cinchona* L. (Rubiaceae) y la artemisinina, obtenida a partir de *Artemisia annua* L. (Asteraceae), especie utilizada en la medicina china para el tratamiento de la fiebre.

Existen diferentes argumentos que justifican la exploración de los productos naturales en la búsqueda de nuevas drogas. Los productos naturales son más propensos a parecerse a intermediarios biosintéticos o metabolitos endógenos que los compuestos sintéticos y, por lo tanto, a aprovechar los mecanismos de transporte activos. Por otro lado, en la biosíntesis de los compuestos naturales se produce generalmente un solo estereoisómero, a diferencia de lo que ocurre con los compuestos sintéticos.

A partir de varios compuestos de origen natural se han desarrollado derivados más eficaces y selectivos y se lograron óptimas propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas. Un ejemplo lo constituye la morfina, droga utilizada en la actualidad y a partir de la cual se han desarrollado derivados semisintéticos y sintéticos basados en el mismo farmacóforo (Ganesan, 2008). También se pueden incluir las drogas antiasmáticas salbutamol y salmetrol, análogos de la aspirina, y el docetaxel, análogo semisintético del paclitaxel, droga anticancerígena aislada de especies de *Taxus* L. (Taxaceae), entre otros. Con relación a las drogas antiparasitarias, se pueden mencionar los derivados de la quinina, como cloroquina y mefloquina, y los derivados de la artemisinina (artemeter y arteeter), utilizados en la actualidad como agentes antimaláricos (Butler, 2004; Cragg y col., 1999).

Búsqueda de compuestos antiprotozoarios en especies de la flora argentina

Acorde con lo expuesto previamente, y en relación con la falta de drogas efectivas para tratar la enfermedad de Chagas, la leishmaniasis y la malaria, y las ventajas que presentan los productos naturales en los procesos de descubrimiento de nuevas drogas, la finalidad de este trabajo fue buscar moléculas de origen vegetal que puedan ser útiles para el desarrollo de fármacos más efectivos para el tratamiento de estas enfermedades protozoarias.

En este contexto, se realizó un *screening* preliminar de actividad tripanocida *in vitro* sobre epimastigotes de *T. cruzi* de 32 extractos acuosos y orgánicos de 12 especies vegetales de la medicina tradicional argentina. La selección de las especies que se ensayaron se realizó, sobre la base de sus usos etnomédicos para el tratamiento y el alivio de síntomas relacionados con enfermedades parasitarias; incluso se tuvo en cuenta criterios quimiotaxonómicos. Se seleccionaron las siguientes especies medicinales argentinas: *Ambrosia tenuifolia* Spreng., *A. scabra* Hook. et Arn. (Asteraceae), *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J. F. Macbr., *C. glutinosa* Cham. et Schltdl., *C. ingrata* Cham. et Schltdl. (Lythraceae), *Gentianella multicaulis* (Gillies ex Griseb.) Fabris (*Syn. G. achalensis* (Hieron. ex Gilg) T.N. Ho et S.W. Liu) (Gentianaceae), *Lippia integrifolia* (Griseb.) Hieron. (Verbenaceae), *Clinopodium gilliesii* (Benth.) Kuntze

(*Syn. Satureja parvifolia* (Phil.) Epling) (Lamiaceae), *Acanthostyles buniifolium* (Hook. et Arn.) R.M. King et H. Rob. (*Syn. Eupatorium buniifolium* Hook. et Arn.), *Eupatorium candolleianum* Hook. et Arn. y *Baccharis spicata* (Lam.) Baill. (Asteraceae).

Los extractos orgánicos de *Ambrosia tenuifolia* y *A. scabra* (Asteraceae) presentaron una actividad significativa sobre las formas epimastigotes de *T. cruzi* con porcentajes de inhibición superiores al 70 %, a la concentración de 100 µg/ml (Sülsen y col., 2006). Estos resultados indicaron que estos extractos podían ser una fuente potencial de compuestos líderes con actividad tripanocida y fueron seleccionados para continuar su estudio por medio de fraccionamientos guiado por bioensayos.

Ambrosia tenuifolia (Asteraceae)

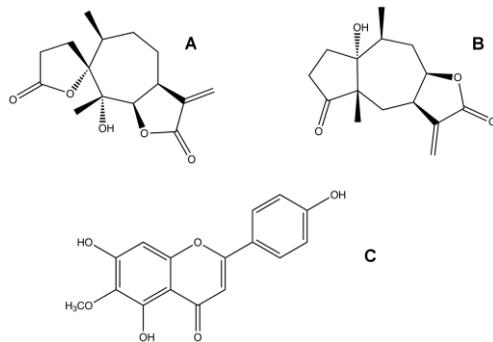
A. tenuifolia es conocida con el nombre vulgar de “altamisa”, “ajenjo”, “ajenjo del campo” o “artemisia” (Foto 1). Está ampliamente distribuida en el norte y centro de la Argentina, sur de Brasil, Paraguay y Uruguay. Las decocciones de esta planta se utilizan como estimulantes y antineurálgicas, para tratar fiebres intermitentes y para eliminar parásitos intestinales, por sus acciones como vermífuga y antihelmíntica (Hieronymus, 1882; Saggese, 1959).

Foto 1.- *Ambrosia tenuifolia* (Asteraceae)



De la especie *A. tenuifolia* se aislaron -por fraccionamiento guiado por bioensayos y utilizando técnicas cromatográficas- las lactonas sesquiterpénicas (STLs) peruvina y psilostachina y el flavonoide hispidulina con significativa actividad tripanocida (Figura 1).

Figura 1.- Estructuras químicas de los compuestos aislados



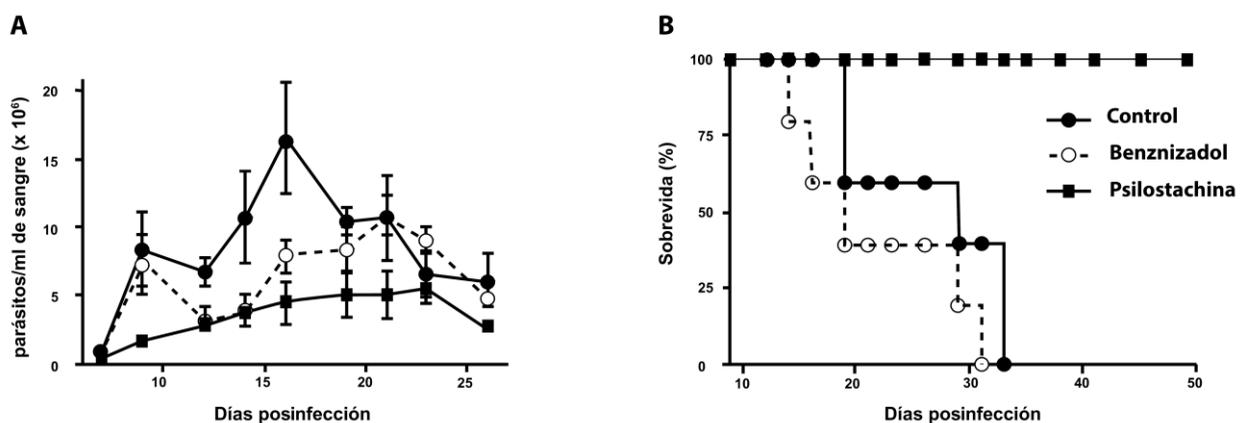
A: psilostachina; **B:** peruvina; **C:** hispidulina.

Psilostachina y peruvina fueron activas sobre las formas epimastigotes de *T. cruzi* (RA) con valores de concentración inhibitoria 50 % (IC_{50}) de 1,2 $\mu\text{g/ml}$ y de 1,6 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente, mientras que la hispidulina presentó una IC_{50} de 14,0 $\mu\text{g/ml}$. Estos compuestos también fueron evaluados sobre las formas infectivas (tripomastigotes) de *T. cruzi*, la psilostachina fue el compuesto más activo con una IC_{50} de 0,8 $\mu\text{g/ml}$ (Sülsen y col., 2007; Sülsen y col., 2008). Los tres compuestos fueron activos sobre promastigotes

de *L. mexicana*, con valores de IC_{50} inferiores que 1,8 $\mu\text{g/ml}$. Con relación a la actividad antiplasmódica, psilostachina y peruvina fueron activas sobre las cepas F32 (sensible a cloroquina) y W2 (resistente a cloroquina) de *Plasmodium falciparum*, pero presentaron una mayor actividad sobre la cepa sensible a cloroquina (Sülsen y col., 2011a). La psilostachina fue el compuesto más activo sobre la cepa W2 (IC_{50} = 1,8 $\mu\text{g/ml}$), mientras que la hispidulina resultó inactiva frente a ambas cepas del parásito (IC_{50} > 100 $\mu\text{g/ml}$).

Se llevaron a cabo estudios de citotoxicidad en células de mamíferos (linfocitos T murinos). Los valores de concentración citotóxica 50 % (CC_{50}) fueron de 25,7; 35,0 y > 50 $\mu\text{g/ml}$ para la psilostachina, peruvina e hispidulina, respectivamente. Con el objetivo de evaluar la selectividad de acción de los compuestos bioactivos, se realizó el cálculo del índice de selectividad (IS) para cada compuesto por medio de la relación de los valores de CC_{50} y IC_{50} . En este sentido, la psilostachina fue el compuesto más activo y selectivo sobre las formas tripomastigotes con un IS de 33,8; por este motivo se decidió realizar su evaluación *in vivo* en ratones infectados con *T. cruzi*. Los animales se trataron con dosis de 1 mg/kg/día por vía intraperitoneal durante 5 días consecutivos. En el día 16 (pico de parasitemia), en los animales tratados con psilostachina se redujo significativamente el nivel de parásitos circulantes comparado con los animales controles y con los que recibieron la droga de referencia benznidazol. También se evaluó el tiempo de sobrevida de los animales, y se obtuvo un 100 % de sobrevida en los ratones tratados con psilostachina (Figura 2) (Sülsen y col., 2008).

Figura 2.- Niveles de parasitemia en ratones infectados con *T. cruzi* tratados con psilostachina



A: Animales tratados; **B:** curva de sobrevida.

El efecto de la psilostachina fue evaluado también sobre el crecimiento y la viabilidad de epimastigotes de *T. cruzi* de la cepa Tulahuen. Este compuesto presentó un efecto irreversible sobre los parásitos en concentraciones mayores que 1,0 µg/ml. Con el objetivo de ahondar en el posible mecanismo de acción se evaluó la actividad tripanocida en presencia de glutatión. La adición de este compuesto bloqueó parcialmente la actividad de la psilostachina. También se estudió el efecto de esta sesquiterpenlactona en el nivel de la ultraestructura de *T. cruzi* mediante microscopía electrónica. La psilostachina indujo alteraciones ultraestructurales a concentraciones de 0,5 µg/ml, con hinchamiento mitocondrial y deformidad del kinetoplasto (Sülsen y col., 2010).

Ambrosia scabra (Asteraceae)

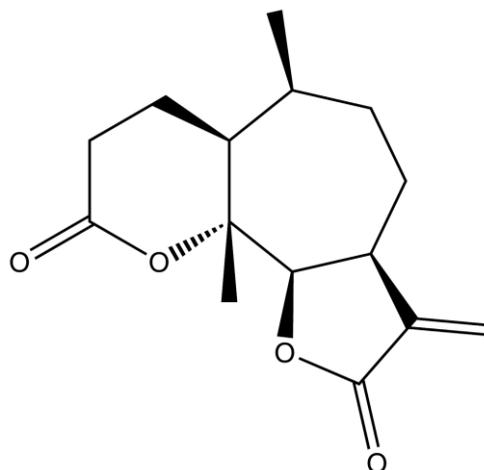
A. scabra es una especie relacionada que se conoce con los mismos nombres vulgares que *A. tenuifolia* y se utiliza principalmente como febrífuga y vermífuga (Hieronymus, 1882) (Foto 2).

Foto 2.- *Ambrosia scabra* (Asteraceae)



De la especie *A. scabra* se aisló por fraccionamiento bioguiado y empleando técnicas cromatográficas la STL psilostachina C (Figura 3), que fue activa *in vitro* sobre epimastigotes y tripomastigotes de *T. cruzi* con valores de IC₅₀ de 0,6 y 3,5 µg/ml, respectivamente (Sülsen y col., 2011b).

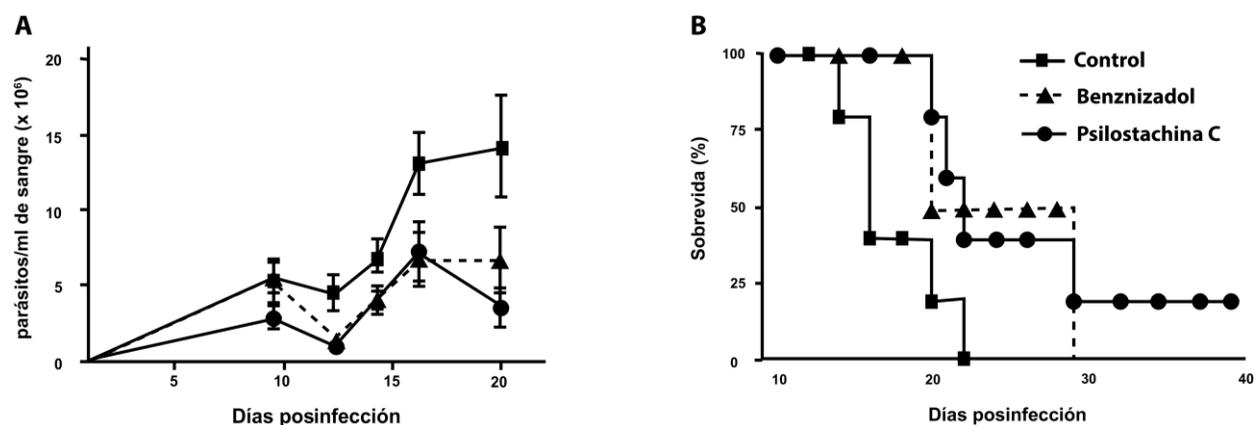
Figura 3.- Estructura química de psilostachina C



Este compuesto también presentó actividad sobre promastigotes de *L. mexicana* (IC₅₀ = 1,2 µg/ml) y sobre *P. falciparum* (Sülsen y col., 2011b). La citotoxicidad sobre células de mamífero fue de 87,5 µg/ml (CC₅₀), hecho que indica selectividad de acción sobre tripomastigotes (IS = 25). En el ensayo *in vivo* sobre un modelo murino, los animales tratados con psilostachina C presentaron niveles de parasitemia menores que los del grupo control y comparables con los que recibieron benznidazol. A los 29 días posteriores a la infección, los ratones tratados con esta STL presentaron una sobrevida del 20 %, mientras que todos los animales tratados con la droga de referencia murieron. En el día del pico de parasitemia, en los animales tratados con psilostachina C se redujo significativamente el nivel de parásitos circulantes comparado con el de los animales del grupo control (Figura 4) (Sülsen y col., 2011b).

En el nivel ultraestructural esta STL indujo alteraciones en el parásito como vacuolizaciones y la aparición de cuerpos multivesiculares a concentraciones menores a 0,2 µg/ml (Sülsen y col., 2011b).

Figura 4.- Niveles de parasitemia en ratones infectados con *T. cruzi* tratados con psilostachina C



Consideraciones finales

De los cuatro compuestos con actividad anti-protozoaria aislados de *Ambrosia tenuifolia* y *A. scabra*, tres pertenecen al grupo de las lactonas sesquiterpénicas: psilostachina, peruvina y psilostachina C.

Las sesquiterpenlactonas son compuestos terpenoides naturales de gran diversidad estructural característicos de la familia Asteraceae. Estos compuestos actuarían protegiendo a las plantas contra organismos patógenos, herbívoros, insectos y mamíferos, como reguladores del crecimiento y como agentes alelopáticos en competencia con otras plantas (Picman, 1986). Tienen actividades antitumoral, citotóxica, antibacteriana, antifúngica, insecticida, cardiotónica, antiulcerogénica y antiprotozoaria (Picman, 1986; Robles y col., 1995; Chaturvedi, 2011). La presencia de la función α -metileno- γ -lactona sería la responsable de las propiedades biológicas informadas para este grupo de compuestos. El grupo exometileno sería esencial por su capacidad de alquilar nucleófilos biológicos (Jiménez-Ortiz y col., 2005; Picman, 1986; Schmidt y col., 2002).

En la bibliografía se encuentran numerosas referencias de actividad antiparasitaria de lactonas sesquiterpénicas sobre diversos protozoos (Fournet y Muñoz, 2002; Salem y Werbovetz, 2006; Schmidt y col., 2012). El interés por la actividad antiprotozoaria potencial de estos compuestos se ha

incrementado a partir del desarrollo de la droga antimalárica artemisinina, actualmente en uso clínico. De acuerdo con diferentes autores, estos compuestos pueden ser considerados como drogas potenciales con un alto impacto en el futuro desarrollo de agentes terapéuticos (Salem y Werbovetz, 2006; Kayser y col., 2003; Wang y col., 2005).

Las lactonas sesquiterpénicas constituyen un grupo promisorio de compuestos en la búsqueda de nuevos agentes antiprotozoarios. De acuerdo con los antecedentes de actividad antiparasitaria de este grupo de compuestos y los resultados obtenidos para las lactonas sesquiterpénicas psilostachina, peruvina y psilostachina C, continuamos con la investigación de otras especies pertenecientes a la familia Asteraceae con el fin de aislar nuevas moléculas activas. Asimismo, se están llevando a cabo estudios sobre un grupo de lactonas sesquiterpénicas, en el cual están incluidas las aisladas por nuestro grupo de investigación, con el fin de determinar cuáles son los requerimientos estructurales mínimos para la actividad observada y para poder, de esta manera, orientar la síntesis de nuevos compuestos con un mejor perfil farmacológico.

Referencias bibliográficas

ALCHA - Asociación de Lucha contra el Mal de Chagas. <<http://www.alcha.org.ar/enfermedad/index.htm>>. [Consulta: diciembre de 2012].

- Auger, S.; Casadó, S.; Ferreño, D.; Newman, M.; Rollet, R. (2005). "La enfermedad de Chagas". *Boletín Científico*. Asociación de Médicos Municipales de la CBA. Año 10 (N° 46): 1-6.
- Butler, M. (2004). "The role of natural product chemistry in drug discovery". *Journal of Natural Products* 67(12): 2141-2153.
- Cragg, G.; Boyd, M.; Khanna, R.; Kneller, R.; Mays, T.; Mazan, K.; Newman, D.; Sausville, E. (1999). "International collaboration in drug discovery and development: the NCI experience". *Pure and Applied Chemistry* 71(9): 1619-1633.
- Chaturvedi, D. (2011). "Sesquiterpene lactones: Structural diversity and their biological activities", en: Tiwari, V.; Mishra, B. (ed.) *Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry*, Cap.10. Transworld Research Network, Kerala, India: 313-334.
- De Rosa, M.; Auger, S.; Storino, R. (2010). "Cardiopatía chagásica: métodos de diagnóstico y tratamiento", en: Storino, R.A. (ed.) *Chagas en el siglo XXI. De la enfermedad a la problemática social*. Akadia, Buenos Aires: 137-151.
- DNDi (Drugs for Neglected Diseases Initiative) (2010). "Argentina: more action needed". *Newsletter* 19: 5.
- Fernández Carral, S.; Aragües, A.; Jait, A.; Ochoa, A.; Pérez, N.; Rios, E.; Sanmartino, M.; Spano, R.; Storino, R.A. (2010). "Viejos problemas, nuevas alternativas: un abordaje desde una gestión pública", en: Storino, R.A. (ed.) *Chagas en el siglo XXI. De la enfermedad a la problemática social*. Akadia, Buenos Aires: 247-259.
- Fournet, A.; Muñoz, V. (2002). "Natural Products as trypanocidal, antileishmanial and antimalarial drugs". *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2(11): 1213-1235.
- Frank, F.; Fernández, M.; Taranto, N.; Cajal, S.; Margni, R.; Castro, E.; Thomaz-Soccol, V.; Malchiodi, E. (2003). "Characterization of human infection by *Leishmania* spp. in the North-west of Argentina: immune response, double infection with *Trypanosoma cruzi* and species of *Leishmania* involved". *Parasitology* 126 (Pt 1): 31-39.
- Ganesan, A. (2008). "The impact of natural products upon modern drug discovery". *Current opinion in Chemical Biology* 12(3): 306-317.
- Graebin, C.; Uchoa, F.; Bernardes, L.; Campo, V.; Carvalho, I.; Eifler-Lima, V. (2009). "Antiprotazoal Agents: an overview". *Anti-infective Agents in Medicinal Chemistry* 8(4): 345-366.
- Hieronymus, J. (1882). *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias de Córdoba*. Tomo IV. Buenos Aires: 345-346.
- Jiménez-Ortiz, V.; Brengio, S.; Giordano, O.; Tonn, C.; Sánchez, M.; Burgos, M.; Sosa, M. (2005). "The trypanocidal effect of sesquiterpene lactones helenalin and mexicanin on cultured epimastigotes". *Journal of Parasitology* 91(1): 170-174.
- Kayser, O.; Kiderlen, A.; Croft, S. (2003). "Natural Products as antiparasitic drugs". *Parasitology Research* 90(S2): 55-62.
- Organización Mundial de la Salud (2010). "Chagas disease (American trypanosomiasis)". *Fact sheet* N°340. Junio de 2010. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/index.html>>. [Consulta: diciembre de 2012].
- Organización Mundial de la Salud (2012a). "Leishmaniasis. Magnitude of the problem". <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/magnitude/burden_magnitude/en/index.html>. [Consulta: diciembre de 2012].
- Organización Mundial de la Salud (2012b). "Malaria". *Fact sheet* N°94. Abril de 2012. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/index.html>>. [Consulta: diciembre de 2012].
- Organización Panamericana de la Salud (2008). "Informe de la situación del Paludismo en las Américas". <<http://new.paho.org/>>. [Consulta: diciembre de 2012].
- Phillipson, J. (1999). "New Drugs from Nature - It Could be Yew". *Phytotherapy Research* 13(1): 2-8.
- Picman, A. (1986). "Biological activities of sesquiterpene lactones". *Biochemical Systematics and Ecology* 14(3): 255-281.
- Robles, M.; Aregullin, M.; West, J.; Rodríguez, E. (1995). "Recent studies on the zoopharmacognosy, pharmacology and neurotoxicology of sesquiterpene lactones". *Planta Medica* 61(3): 199-203.
- Saggese, D. (1959). *Yerbas Medicinales Argentinas*. 10ª ed, Rosario: 26.
- Salem, M.; Werbovetz, K. (2006). "Natural products from plants as drug candidates and lead compounds against leishmaniasis and trypanosomiasis". *Current Medicinal Chemistry* 13(21): 2571-2598.
- Schmidt, T.; Brun, R.; Willuhn, G.; Khalid, S. (2002).

- “Anti-trypanosomal activity of helenalin and some structurally related sesquiterpene lactones”. *Planta Medica* 68(8): 750-751.
- Schmidt, T.; Khalid, S.; Romanha, A.; Alves, T.; Biavatti, M.; Brun, R.; Da Costa, F.; de Castro, S.; Ferreira, V.; de Lacerda, M.; Lago, J.; Leon, L.; Lopes, N.; das Neves Amorin, R.; Niehues, M.; Ogungbe, I.; Pohlit, A.; Scotti, M.; Setzer, W.; de N. C. Soeiro, M.; Steindel, M.; Tempone, A. (2012). “The potential of secondary metabolites from plants as drugs or leads against protozoan neglected diseases - part I”. *Current Medicinal Chemistry* 19(14): 2128-2175.
- Strohl, W. (2000). “The role of natural products in a modern drug discovery program”. *Drug Discovery Today* 5(2): 39-41.
- Sülsen, V.; Güida, C.; Coussio, J.; Paveto, C.; Muschiatti, L.; Martino, V. (2006). “*In vitro* evaluation of trypanocidal activity in plants used in Argentine traditional medicine”. *Parasitology Research* 98(4): 370-374.
- Sülsen, V.; Cazorla, S.; Frank, F.; Redko, F.; Anesini, C.; Coussio, J.; Malchiodi, E.; Martino, V.; Muschiatti, L. (2007). “Trypanocidal and leishmanicidal activities of flavonoids from Argentine medicinal species”. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 77(4): 654-659.
- Sülsen, V.; Frank, F.; Cazorla, S.; Anesini, C.; Malchiodi, E.; Freixa, B.; Vila, R.; Muschiatti, L.; Martino, V. (2008). “Trypanocidal and leishmanicidal activities of sesquiterpene lactones from *Ambrosia tenuifolia* Sprengel (Asteraceae)”. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 52(7): 2415-2419.
- Sülsen, V.; Barrera, P.; Muschiatti, L.; Martino, V.; Sosa, M. (2010). “Antiproliferative effect and ultrastructural alterations induced by psilostachyin on *Trypanosoma cruzi*”. *Molecules* 15(1): 545-553.
- Sülsen, V.; Gutiérrez Yappu, D.; Laurella, L.; Anesini, C.; Giménez Turba, A.; Martino, V.; Muschiatti, L. (2011a). “*In vitro* antiplasmodial activity of psilostachyin and peruvín from *Ambrosia tenuifolia*”. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2011: 352938.
- Sülsen, V.; Frank, F.; Cazorla, S.; Barrera, P.; Freixa, B.; Vila, R.; Sosa, M.; Malchiodi, E.; Muschiatti, L.; Martino, V. (2011b). “Psilostachyin C: a natural compound with trypanocidal activity”. *International Journal of Antimicrobial Agents* 37(6): 536-543.
- Wang, G.; Tang, W.; Bidigare, R. (2005). “Terpenoids as Therapeutic Drugs and Pharmaceutical Agents”, en: Zhang, L.; Demain, A. (ed.) *Natural Products Drug Discovery and Therapeutic Medicine*. Cap 9. Humana Press, Totowa, New Jersey: 197-227.

Problemática sanitaria y social de la enfermedad de Chagas. Aporte de la medicina tradicional argentina

Virginia S. Martino*

Cátedra de Farmacognosia, IQIMEFA (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956 (1113), Buenos Aires, República Argentina.

*Correo electrónico: vmartino@ffyb.uba.ar

Compendio de tesis

para optar al título de Especialista en Política y Gestión de la Ciencia y la Tecnología.

Lugar y fecha de aprobación de la tesis:

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. 21 de noviembre de 2011.

Resumen

A más de cien años de su descubrimiento la enfermedad de Chagas sigue siendo una realidad cuyo panorama inicial no solo no se ha modificado sino que se ha visto complicado por el agregado de cambios ecológicos y de transformación social. La enfermedad de Chagas no solo involucra los conocidos trastornos biológicos y sanitarios sino que está íntimamente relacionada con las condiciones de desarrollo económico y social de vastas zonas endémicas de toda Latinoamérica. Por ende, su erradicación constituye un problema en el que entran en juego factores sanitarios, sociales, económicos y políticos. En este trabajo se discuten algunos de estos aspectos y se concluye que es solo por medio de una acción multidisciplinaria e integrada sobre diferentes focos: vector, pacientes, comunidades, profesionales de la salud y comunidades educativa y científica, que es posible encontrar una solución, siempre en el marco de una política clara y continua por parte de un Estado responsable. La ciencia y la tecnología pueden hacer una gran contribución para la erradicación de esta enfermedad abandonada. No solo desde disciplinas como la Química, Farmacia, Biología Molecular y las áreas bioquímicas, sino desde otras disciplinas, como la Etnomedicina. La enfermedad de Chagas afecta también a muchas de las comunidades aborígenes que habitan las regiones endémicas y son consideradas comunidades de alto riesgo. Esas comunidades tienen una cultura propia y un sistema de salud shamánica, fuertemente ligado a creencias religiosas, con lengua, cultura y cosmovisión diferentes. Poseen un conocimiento ancestral sobre el uso medicinal de las plantas que crecen en su entorno. Este conocimiento, así como la gran biodiversidad de las regiones tropicales y subtropicales donde esta enfermedad ocurre, constituyen un recurso muy valioso como fuente de moléculas activas contra el *Trypanosoma cruzi*, el protozoo productor de la enfermedad.

Sanitary and social problematic of Chagas disease. Contribution of Argentine Traditional Medicine

Summary

Though Chagas disease was discovered more than a hundred years ago, its initial panorama has remained unchanged and it has become still more complicated due to ecological and social transformations. Besides

Palabras clave: enfermedad de Chagas - problemática sanitaria y social - medicina tradicional - *Trypanosoma cruzi*.

Key words: Chagas disease - sanitary and social problematic - traditional medicine - *Trypanosoma cruzi*.

sanitary and ecological compromise, Chagas disease is closely related to economic and social development in large regions in Latin America. Thus sanitary, social, economic and political factors are important to consider for its eradication. In this paper, some of these aspects are discussed and it may be concluded that only a multidisciplinary initiative focused on vector, patients, health practitioners and educational and scientific community is able to produce a solution, always included in a clear and continuous state policy. Science and technology can make an important contribution to the eradication of Chagas disease. Not only from Chemistry, Pharmacy, Molecular Biology and biochemical areas, but also from other disciplines as ethnomedicine. Chagas disease affects many native communities which live in the endemic areas where this disease occurs and are considered as highly risk populations. These communities have a particular culture and a shamanic health system strongly attached to their religious beliefs, with their own language and a different cosmivision. They have an ancestral knowledge about the use of medicinal plants growing in their surroundings. This knowledge and the great biodiversity of the tropical and subtropical regions in which this illness is prevalent, make these plants a very rich source of bioactive molecules against *Trypanosoma cruzi*, the agent causing this disease.

Introducción

Las enfermedades “olvidadas” o “abandonadas” son un grupo de enfermedades infecciosas que afectan principalmente a poblaciones que viven en áreas rurales y urbanas pobres de las regiones tropicales y subtropicales, especialmente en los países menos desarrollados del mundo. Se denominan así porque ni los gobiernos ni la industria farmacéutica les prestan mucha atención. Entre ellas podemos mencionar la enfermedad de Chagas, la fiebre amarilla, la leishmaniasis y el dengue.

Estas patologías ocurren en zonas pobres y son, a su vez, generadoras de pobreza porque muchas veces resultan en una carga insostenible para quienes la padecen, no solo porque no pueden acceder a los medicamentos por su costo, sino porque estas enfermedades afectan sus condiciones individuales y les impiden insertarse en la sociedad y en el mercado laboral.

En su mayoría son enfermedades mortales o altamente discapacitantes, aunque muchas de ellas podrían ser evitadas o erradicadas mediante el empleo de intervenciones costo-eficientes como, por ejemplo, el control vectorial. Generalmente se trata de enfermedades “silenciosas”, que no generan emergencias epidemiológicas y cuyas consecuencias para el paciente aparecen después de muchos años (Fundación Mundo Sano, 2012).

La enfermedad de Chagas encuadra dentro de estas enfermedades abandonadas porque no desarrolla síntomas muy evidentes (solo un bajo porcentaje de los infectados desarrolla cardiomiopatía), las personas infectadas usualmente viven con las

lesiones causadas por el parásito durante un largo período, hay falta de información y de conciencia de la población donde la enfermedad es endémica y hay discriminación laboral hacia los pacientes infectados. A todos estos factores se suma la falta de interés de la industria farmacéutica en el desarrollo de nuevos medicamentos debido a su baja rentabilidad, ya que están destinados a pacientes con escasos recursos económicos (Kreimer y Zabala, 2008).

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas es producida por un protozoo, el *Trypanosoma cruzi*, que es transmitido, entre otros, por la picadura de un insecto denominado “vinchuca” o “barbeiro” (*Triatoma infestans*). Las áreas rurales son las más propicias para la proliferación de vinchucas, principalmente en asentamientos precarios. La conducta alimenticia y los hábitos nocturnos de las vinchucas hacen que permanezcan ocultas durante el día en huecos, grietas y que aparezcan durante la noche, que es cuando pican y chupan la sangre de las personas o animales, a la vez que defecan. Luego, por efecto del rascado a causa de la picazón que produce la picadura, los parásitos penetran en el torrente sanguíneo. Las viviendas con paredes de adobe y techo de paja son un terreno propicio para la proliferación y el refugio de estos insectos (Médicos sin Fronteras, 2005).

La enfermedad presenta dos fases. La primera fase aguda dura más o menos hasta dos meses después de la infección, y es cuando los parásitos circulan por la sangre y es posible detectarlos. Los síntomas de esta etapa pueden ser fiebre, dolor de cabeza, inflamación de los ganglios, palidez, dolores musculares, dificultad para respirar y dolores de pecho o abdominales. Solo en un 50 % de los casos

hay signos visibles, como lesiones en la piel o inflamación de color violáceo alrededor de los ojos. En la segunda etapa, o etapa crónica, los parásitos se alojan en el corazón y el músculo del tracto digestivo. Solo un 30 % desarrolla muchos años después desórdenes cardíacos, y un 10 %, trastornos nerviosos y digestivos como el megacolon (Storino y col., 2010).

La transmisión ocurre principalmente por la vía vectorial pero también puede ocurrir por otras vías, como por comida contaminada, transfusión de sangre de donantes infectados, pasaje de madres infectadas a recién nacidos, trasplante de órganos de donantes infectados o accidentes de laboratorio.

Una de las formas de transmisión de la enfermedad es la de las madres infectadas a sus hijos por la vía placentaria. Esta afección se denomina enfermedad de Chagas congénita y es el que aparece en bebés de 0 a 9 meses.

Las drogas de uso corriente para el tratamiento de la enfermedad de Chagas tienen algunos efectos secundarios no deseados y generan resistencia. El nifurtimox y el benznidazol son las drogas más usadas y fueron desarrolladas en la década de 1960 a 1970. Desde ese entonces no se ha incorporado ninguna nueva droga para la terapéutica de esta enfermedad.

Herranz Montes (2006), de Médicos sin Fronteras, llama a la enfermedad de Chagas “enfermedad silenciosa y silenciada”, considerando dos características. La primera se refiere a que esta enfermedad pasa muchas veces desapercibida para quien la padece en la etapa aguda, y el paciente recién se da cuenta que está enfermo cuando aparecen los síntomas cardíacos y digestivos en la etapa crónica de la enfermedad, muchos años después. En el otro sentido, se refiere al grave problema de desinterés por parte de la industria farmacéutica, tanto por el desarrollo de nuevos medicamentos, como de medios de diagnóstico, la falta de estadísticas reales sobre la magnitud del problema, la falta de acción de los gobiernos en cuanto a la provisión de los medicamentos para su tratamiento y su inclusión en las listas esenciales de medicamentos. Las personas afectadas por la enfermedad de Chagas son víctimas de un círculo vicioso y de falta de voluntad política para acabar con el problema: no hay datos-no hay diagnóstico-no hay tratamiento-no hay demanda-no hay investigación. Romper este círculo es tarea de todos los gobiernos, laboratorios farmacéuticos y organismos internacionales, entre otros.

Historia del descubrimiento y evolución de la enfermedad

La enfermedad de Chagas debe su nombre a un médico brasileño, el Dr. Carlos Chagas, quien en 1909, trabajando en una campaña antimalárica en el estado de Minas Gerais por encargo del ahora denominado Instituto Oswaldo Cruz, descubrió un insecto hematófago (la vinchuca) que se ocultaba en las paredes agrietadas y en los techos de las casas. El análisis de estos insectos reveló que sus intestinos estaban llenos de un parásito al que Carlos Chagas clasificó como *Trypanosoma cruzi*, en honor a su maestro Oswaldo Cruz.

Este fue el primer hallazgo que dio lugar a una serie de descubrimientos posteriores: la enfermedad en humanos denominada enfermedad de Chagas, el vector o agente causal *Triatoma infestans* y el parásito productor de la enfermedad, el *T. cruzi*.

A pesar de este relativamente reciente descubrimiento, la enfermedad parece haber existido desde mucho antes. El primer indicio de infección humana por *T. cruzi* se registra en momias de tribus indígenas del sudoeste de América del Sur, al detectarse en ellas su antígeno y formas tisulares. Este y otros estudios en momias en Perú y Chile han revelado evidencias de la infección en humanos desde el 2000 a.C.

En tiempos de la colonia, Fray Fernandino de Lizárraga menciona a la vinchuca y describe sus hábitos en los valles bolivianos de Cochabamba. Unos siglos después, Charles Darwin hace referencia a estos insectos en su diario de viaje (Médicos sin Fronteras, 2005).

Con referencia a la historia natural de la enfermedad se detecta que comenzó como una endozootia de animales silvestres. Cuando el hombre se adentró en los espacios naturales pasó a ser una antropozootia. Con el correr de la deforestación para las actividades agropecuarias en los últimos 200 o 300 años en Latinoamérica, los triatomíneos pasaron a colonizar los peridomicilios y domicilios humanos alimentándose de la sangre de animales domésticos y del hombre (Fundación Mundo Sano, 2012).

Incidencia de la enfermedad

La enfermedad de Chagas es endémica en 21 países de América: Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay, Uruguay, Colombia, Ecuador, Perú,

Venezuela, Belice, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Panamá, Guayana Francesa, Guyana, Surinam y Méjico. Se estima que en la región cerca de 100 millones de personas están en riesgo de infectarse, hay unos 8 millones infectadas, con 56.000 nuevos casos anuales (por todas las formas de transmisión), que causan 12.000 muertes anuales (OPS, 2012).

Del 25 al 30 % de los infectados con el parásito sufrirán daños cardíacos, esofágicos y patologías de colon de forma irreversible, que causan considerable morbilidad y mortalidad (WHO, 2012). Cada año ocurren 43.000 muertes en Latinoamérica, y la mortalidad es del 2 al 15 % en México, América Central y América del Sur.

La enfermedad se está expandiendo por las migraciones a las regiones metropolitanas del conurbano y en países desarrollados por transfusión sanguínea, trasplante de órganos y transmisión congénita (Rodríguez Coura y Albajar Viñas, 2010).

Bolivia es el país más afectado. La enfermedad de Chagas es la cuarta causa de muerte en Bolivia y responsable del 13 % de los fallecimientos de personas entre 15 y 75 años. La mitad de la población está en riesgo de contraer la enfermedad y aproximadamente dos millones la padecen. Cifras de la OMS y de la Oficina Panamericana de la Salud (OPS) indican que 300.000 menores de 15 años en el país ya estarían infectados (Médicos sin Fronteras, 2005).

En Chile hay 150.000 portadores en el norte y centro del país. En la Argentina existen cerca de 1.600.000 infectados (OPS, 2005).

El *Trypanosoma cruzi* puede trasladarse con los movimientos de personas (por turismo, trabajo o migraciones) a distintos lugares del mundo. Se estima que hay 300.000 infectados en EE. UU.; 5.500, en Canadá; 80.000, en Europa, 3.000 en Japón y 1.500 en Australia (Schumis, 2007; Rodríguez Coura y Albajar Viñas, 2010). Estos movimientos de personas pueden cambiar el panorama epidemiológico y constituyen un nuevo desafío para afrontar.

Los principales esfuerzos para la prevención de la enfermedad en América están centrados en el control del insecto vector, y la principal estrategia para erradicarlo consiste en la fumigación de los ambientes domésticos. En la última década muchos países de América han formado parte de iniciativas internacionales, acompañadas de algunos programas nacionales, siempre con fondos insuficientes que han

resultado en acciones parciales y no continuas en el tiempo. Sus actividades se han centrado en la prevención del contagio, erradicación del vector, pero no han profundizado en apoyar el desarrollo de nuevos métodos y drogas en el área del diagnóstico y el tratamiento.

La problemática de la enfermedad de Chagas es encarada en la Argentina por medio de acciones del Estado nacional, los gobiernos provinciales y municipales y de las fundaciones nacionales e internacionales, que implementan distintas acciones, a menudo en forma conjunta o complementaria.

Así, en la Argentina, existe un Programa Nacional de Chagas que desarrolla una estrategia integral basada en la prevención, la promoción, la comunicación y el autocuidado para la enfermedad de Chagas, que permita una rápida resolución del problema que la patología representa para el país.

Su acción está centrada mayormente en el control vectorial. La Fundación Argentina de Lucha contra el Mal de Chagas (FALCHA) y la Asociación Argentina de Lucha contra el Mal de Chagas (ALCHA) son instituciones no gubernamentales de bien público, sin fines de lucro, dedicadas a la difusión, la prevención y la atención de enfermos chagásicos provenientes de las provincias, de la Ciudad de Buenos Aires y de países limítrofes.

La Fundación Mundo Sano es una entidad sin fines de lucro cuya misión es promover el acceso equitativo a la salud de las poblaciones expuestas a enfermedades evitables, fomenta la investigación y la vinculación tecnológica. Realiza varios tipos de intervención en las principales enfermedades de transmisión vectorial, como la enfermedad de Chagas.

Los programas emprendidos por la Fundación Mundo Sano comprenden distintas acciones, como el control de las vinchucas, el mejoramiento de las viviendas y del peridomicilio (letrinas, corrales de cabras, gallineros, etcétera).

Generación de conocimientos y su aplicación al control de la enfermedad de Chagas

La investigación científica y la generación de conocimiento sobre la enfermedad de Chagas se caracterizan por una marcada prioridad en la investigación básica. En los últimos 50 años ha habido un gran número de publicaciones de investigación básica sobre el agente causal y sobre el vector y, en mucho

menor grado, sobre el tratamiento y el control de la enfermedad (Tabla 1).

Tabla 1.- Publicaciones científicas indexadas en la base de datos de la Biblioteca Nacional de Medicina de Washington

Tema	Artículos	Período
<i>Trypanosoma cruzi</i>	7408	1949-2005
<i>Triatoma infestans</i> y otros parásitos	1282	1950-2004
Tratamiento de la enfermedad	286	1966-2005

Fuente: Moncayo Medina, 2007.

Con el objetivo de conocer cuál es el panorama en la Argentina a este respecto se realizó una búsqueda en Medline, en el período comprendido entre 1991 y 2011, de publicaciones científicas utilizando como descriptores *T. cruzi*, *Triatoma infestans* y enfermedad de Chagas en los campos correspondientes a título, palabras clave y resumen y limitando la búsqueda a los trabajos en los cuales el primer autor tenía a la República Argentina como lugar de trabajo. Se desglosó la búsqueda según el lugar de publicación en la Argentina o en el exterior (Tabla 2).

Tabla 2.- Publicaciones científicas indexadas de Argentina relacionadas con *Trypanosoma cruzi*, *Triatoma infestans* y enfermedad de Chagas (1991-2011)

Período	Artículos científicos	
	Publicados localmente	Publicados en el exterior
1991-2001	65	519
2001-2011	21	710

Fuente: Base de datos Medline.

En la Argentina se contabilizaron un total de 1.315 publicaciones en el período y esta producción científica se ha incrementado en los últimos 10 años. Esto significa que en la Argentina hay un gran potencial de investigación en el tema. Sin embargo,

observando la orientación de estas investigaciones y los proyectos aprobados en las últimas programaciones por las principales agencias financiadoras de la investigación científica (ANPCYT, CONICET, UBA) relacionados con la enfermedad de Chagas, podemos ver que la mayoría tiene relación con la bioquímica del parásito y son escasos los trabajos sobre desarrollo de nuevas drogas tripanocidas naturales o sintéticas.

Estos hechos reflejan claramente que la Argentina tiene una capacidad científica que no está totalmente aprovechada. Una mejor planificación, así como la integración de recursos y capacidades podría redundar en una solución al problema sanitario y social de esta enfermedad.

La enfermedad de Chagas y las culturas aborígenes

Si bien existen programas nacionales y provinciales para la erradicación del Chagas se ha constatado que las acciones no han dado los resultados esperados en muchos casos, especialmente en el ámbito de las comunidades aborígenes que habitan las regiones endémicas. Estas comunidades son consideradas de alto riesgo, debido a que poseen una cultura propia que dificulta la transmisión de los conocimientos acerca de la enfermedad, de acuerdo con las particularidades sociales de estos grupos aborígenes. Así, con referencia a los aspectos culturales de estas comunidades, por ejemplo, los Wichis, que habitan la región del Gran Chaco, son recolectores y habitan en casas hechas de adobe. En estas comunidades cuesta mucho que los pobladores abandonen sus casas de adobe por viviendas construidas de ladrillos y fijas. Los resultados de la ejecución de los programas han demostrado que una opción beneficiosa es convencerlos que mejoren sus viviendas enseñándoles a revocar las paredes y pintarlas a la cal, impermeabilizar sus techos con silo bolsas, en lugar de reemplazarlas por otras. En estos programas se suelen acompañar estas acciones con reuniones de información y capacitación en la comunidad como así también en las escuelas. Estas comunidades tienen además, un sistema de salud shamánica, fuertemente ligado a creencias religiosas, con lengua, cultura y cosmovisión diferentes y con conceptos también diferentes de lo que es la enfermedad. No rechazan la medicina académica y la ven como alternativa, y muchas veces combinan

ambas medicinas. Así, por ejemplo, en el caso de la enfermedad de Chagas un grupo de antropólogas determinó que los Wichis reconocen a la vinchuca como un insecto molesto pero no lo vinculan con la enfermedad y asocian sus síntomas al medio ambiente y al universo shamánico. También existe un marcado desconocimiento, por parte de los efectores de salud de los centros asistenciales, de esta cultura de los aborígenes (Dell' Arciprete y Dasso, 2008).

Hay ciertos aspectos que deben ser considerados cuando se implementan los programas de salud en las comunidades indígenas. Se debe dar a conocer la enfermedad en forma exhaustiva y paciente. La introducción de hábitos sanitarios implica acciones sostenidas en el tiempo: explicar la enfermedad y transmitir el mensaje sanitario de la manera más clara posible, comunicar y proponer pautas de conducta personal y comunitaria de prevención, involucrar a la población que se pretende beneficiar, favorecer el reconocimiento de la medicina académica sin menospreciar la medicina aborígena y dar tiempo a los pobladores para la asimilación de los conceptos y los cambios. También se debe promover la formación de líderes comunitarios entre los aborígenes, generalmente personas jóvenes más receptivas a los cambios y que suelen hablar ambos idiomas (wichi y español) como una forma de acercamiento a su cultura. Es destacable la potencialidad de estas comunidades, pero hay que hacer que participen y confíen en sus propias capacidades para asumir el problema y colaborar con la solución (Dell' Arciprete y Dasso, 2008).

Medicina tradicional y la enfermedad de Chagas

Los pueblos originarios tienen generalmente un conocimiento ancestral sobre el uso medicinal de las plantas que crecen en su región. El valor de la medicina tradicional y la importancia de este conocimiento en el proceso de descubrimiento de nuevas drogas con actividad tripanocida y leishmanicida ha sido señalado por Muschietti y colaboradores (2008). Es interesante señalar aquí en el caso de la enfermedad de Chagas las prácticas terapéuticas incluyen plantas medicinales que son usadas para tratar algunos de los síntomas de la enfermedad de Chagas, como fatiga, depresión, constipación o dolores abdominales y afecciones cardíacas, más que para el tratamiento de la enfermedad en sí misma.

Martinez Crovetto (1981) señala entre las hierbas medicinales utilizadas en el noroeste de Corrientes para tratar enfermedades del corazón a *Allophylus edulis*, *Citrus aurantium* y *C. limon*, *Cuphea glutinosa* (Figura 1), *C. longiflora* y *C. racemosa*, *Erythrina crista galli*, *Phoradendron spp.* *Pterocaulon polystachium* y *Ruta chalepensis*. Burgstaller (1999) se refiere al uso popular de ambay (*Cecropia pachystachia*), toronjil (*Melissa officinalis* (Figura 1), muérdago (*Psitacanthus cuneifolius*) en tisanas para el corazón y cedrón (*Aloysia citrodora*) (Figura 1), paico (*Chenopodium ambrosoides*) y manzanilla (*Chamomilla recutita*) en tisanas para los nervios.

En el noroeste de la Argentina los "criollos" usan la especie *Funastrum gracile* (Figura 1) conocida como "tramontana" para tratar la enfermedad de Chagas. Una decocción preparada con un puñado de las partes aéreas cortadas en 2 litros de agua es bebida sola o agregada al mate hasta que los síntomas de la enfermedad disminuyen. Entre los habitantes de Molinos, en los Valles Calchaquíes, en la provincia de Salta, una de las enfermedades de importancia es la llamada "corazón". Esta afección generalmente se refiere a desórdenes cardíacos, probablemente vinculados con la enfermedad de Chagas, que es endémica en el área. En esta localidad, los médicos campesinos son los que están alertas ante la gravedad de esta enfermedad y son reconocidos por la población como expertos en el conocimiento y el tratamiento de las enfermedades. Poseen un conocimiento tradicional que es una confluencia entre la de los grupos étnicos originarios y la de los españoles, a la que se integraron durante la conquista y colonización. Así, se utilizan decocciones o infusiones de las especies *Aloysia citrodora* (Figura 2), *Citrus sinensis*, *Melissa officinalis* (Figura 2), *Ocimum basilicum*, *Dianthus carioophyllus*, *Lactuca sativa*, *Plantago lanceolata* y *Valeriana sp.* para tratar desórdenes cardíacos y nerviosos relacionados con esta enfermedad (Martínez y col., 2004; Scarpa, 2004).

Pink y colaboradores (2005) proponen diferentes alternativas para acelerar el descubrimiento de nuevas drogas antiparasitarias. Este autor considera que los productos naturales son atractivos por su gran diversidad estructural y destaca la importancia del aprovechamiento de la biodiversidad propia de las regiones tropicales y subtropicales, donde las "enfermedades abandonadas" son endémicas. En particular, refiere al uso

Figura 1.- Plantas medicinales usadas por los “criollos” para tratar síntomas relacionados con la enfermedad de Chagas



A: *Melisa officinalis* L. (Lamiaceae). http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Melissa_officialis_001.JPG age=search&query=aloesia&any=1; **B:** *Funastrum gracile* (Dacne.) Schltdl. (Asclepiadaceae). http://www.sib.com.ar/ficha/Plantae/Funastrum_gracile; **C:** *Aloysia citrodora* Palau (Verbenaceae). <http://www.botanypictures.com/index.php>; **D:** *Cuphea glutinosa* Charm. & Schltdl. (Lythraceae). http://www.plantdelights.com/images/Cuphea_glutinosa_in_flower_5.jpg.

tradicional de las plantas por parte de las comunidades que habitan estas regiones endémicas y las considera como una fuente potencial de nuevos fármacos con actividad antiparasitaria. Es decir, que la conjunción entre la explotación de los recursos naturales en un marco de respeto por el medio ambiente y el conocimiento tradicional de las plantas, es reconocida como una excelente alternativa para el descubrimiento de nuevas drogas antiparasitarias.

Zackiewics (2007) sostiene que la investigación de nuevos medicamentos para el tratamiento de la enfermedad de Chagas debe estar basada en la búsqueda

racional de compuestos que tengan acción sobre blancos validados del parásito. En este sentido, las ciencias biológicas y bioquímicas pueden contribuir a encontrar mecanismos moleculares, bioquímicos o fisiológicos vitales para el parásito, cuya interrupción impide su supervivencia. El desafío de las ciencias farmacéuticas es pues encontrar fármacos que bloqueen los ciclos vitales del parásito sin afectar las células del huésped, es decir fármacos que sean selectivos. Estos fármacos ofrecerían la posibilidad de nuevos tratamientos que darían tasas mayores de curación entre pacientes de diferentes franjas etarias y en diferentes etapas de la enfermedad.

En este sentido la búsqueda de nuevas moléculas bioactivas a partir de plantas medicinales constituye una opción válida en cuanto que no solo aprovecha el ya reconocido aporte de los productos naturales a la medicina sino también el conocimiento etnobotánico de los pueblos originarios.

A más de cien años del descubrimiento de la enfermedad de Chagas y sus consecuencias, y a pesar de la aplicación de programas regionales, nacionales y provinciales, sigue siendo un tema sin solución y objeto de permanente discusión. Hay muchos aspectos que contemplar en la solución del problema y solo a través de una acción multidisciplinaria e integrada sobre diferentes focos (vector, pacientes, comunidades, profesionales de la salud, comunidad científica) será posible encontrar una solución, siempre en el marco de una política clara y continua por parte de un Estado responsable.

La problemática de la enfermedad de Chagas necesita de una visión integrada, ya que son muchos los factores que se deben considerar y las acciones que se pueden desarrollar para erradicar la enfermedad. Es necesario combinar el control vectorial con el tratamiento del enfermo, dar amplia participación social a las comunidades afectadas para aumentar la eficacia de los programas nacionales y provinciales, establecer un vínculo genuino entre el control y la investigación y desarrollar una política de Estado al respecto.

La ciencia y la tecnología pueden hacer una gran contribución para la erradicación de esta "enfermedad abandonada". No solo desde disciplinas como la Biología Molecular, la Bioquímica y la Química sino también desde la Etnomedicina. Los datos aportados por la medicina tradicional deben ser considerados como un importante punto de partida para el hallazgo de moléculas bioactivas que puedan devenir en nuevos fármacos para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

El desafío para encontrar una solución es enorme: lograr la conjunción de esfuerzos de las ciencias, el área sanitaria, la educación y de sus distintos actores, autoridades, científicos, educadores, trabajadores sociales, profesionales de la salud y la comunidad. La solución será posible con la conjunción del esfuerzo de todos. Si esto ocurre, dentro de los próximos cien años la enfermedad de Chagas será solo un recuerdo.

Referencias bibliográficas

- Dell' Arciprete, A.; Dasso, M. C. "Una visión antropológica sobre la la enfermedad de Chagas en el Chaco Argentino". Seminario: La endemia chagásica en la región del Gran Chaco. Academia Nacional de Medicina, 19/11/2008.
- Burgstaller, C.H. (1999). *La Vuelta a Los Vegetales*. Edicial, 16ª edición, Buenos Aires: 322.
- Fundación Mundo Sano (2008). Seminario "La Endemia Chagásica en la Región del Gran Chaco". Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires 18-20 de noviembre de 2008.
- Fundación Mundo Sano (2012). "Enfermedad de Chagas". <<http://www.mundosano.org>>. (Consulta 10/10/2012).
- Herranz Montes, E. (2006). "Chagas: Enfermedad Silenciosa y Silenciada". Comentario Diario *Página 12*, 29/04/2005.
- Kreimer, P.; Zabala, J.P. (2008). "Chagas Disease in Argentina: Reciprocal Construction of Social and Scientific Problems". *Science Technology Society* 12: 49- 72.
- Martinez Crovetto, R. (1981). "Plantas Utilizadas en Medicina en el NO de Corrientes" *Miscelánea* 69. Fundación Miguel Lillo, Tucumán: 118-119.
- Martínez, M.R.; Pochettino, M.L.; Cortella, A.R. (2004). *J. Ethnopharmacol.* 95: 317-27.
- Médicos sin Fronteras (2005). *Chagas. Una tragedia silenciosa*. Editorial Losada, Buenos Aires: 20.
- Moncayo Medina, A. (2007). "Generación de conocimientos y su aplicación al control de la Enfermedad de Chagas" en: Organización Panamericana de la Salud/Fundación Mundo Sano. *La Enfermedad de Chagas. Publicación Monográfica* 7. Artes Gráficas Buschi S.A., Buenos Aires: 199-201.
- Muschietti, L.; Sülsen, V.; Martino, V. (2008). "Trypanocidal and Leishmanicidal Activities of South American Medicinal Plants" en: *South American Medicinal Plants as a Potential Source of Bioactive Compounds*, Martino, V.; Muschietti, L. (Eds.). Research Signpost, Kerala, India: 157.
- OPS (2005). "Estimación cuantitativa de la Enfermedad de Chagas en las Américas". <<http://new.paho.org>>. OPS/HDM/CD 425-06. (Consulta: 15/9/2012).

- OPS (2012). "Enfermedad de Chagas (Trypanosomiasis americana)" <<http://new.paho.org>>. (Consulta: 10/10/2012).
- Pink, R.; Hudson, A.; Mouries, M.; Bendig, M. (2005). "Opportunities and Challenges in Antiparasitic Drug Discovery". *Nat. Rev.* 4: 727-40.
- Rodríguez Coura, J.; Albajar Viñas, P. (2010). "Chagas Disease: A New Worldwide Challenge". *Nature* 465: S6-S7.
- Scarpa, G.F. (2004). "Medicinal plants used by the Criollos of Northwestern Argentine, Chaco". *J.Etnopharmacol.* 91(1): 115.
- Schumis, G. (2007). "Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 102:75-85.
- Storino, R. (2010). "Nosología General de la Enfermedad de Chagas" en: *Chagas en el siglo XXI. De la enfermedad a la problemática social*. Librería Editorial Akadia, Buenos Aires: 11.
- WHO (2012). "Chagas disease (American trypanosomiasis)" <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/index.html>>. Fact sheet N°340, August 2012 (Consulta 10/10/2012).
- Zackiewicz, C. (2007). "Tratamiento Realidade, Dividas y Perspectivas" en: Organización Panamericana de la Salud/ Fundación Mundo Sano *La Enfermedad de Chagas. Publicación Monográfica 7*. Artes Gráficas Buschi S.A., Buenos Aires: 231-237.

III Jornadas Nacionales de Plantas Aromáticas Nativas y sus Aceites Esenciales

San Salvador de Jujuy-República Argentina

29 y 30 de noviembre de 2012

Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Jujuy (FI-UNJu)

República Argentina

Comisión Organizadora

Dra. Carmen Inés Viturro	Ing. Elizabeth García
Ing. Mabel Zampini	Lic. Marta Labarta
Ing. Cecilia Heit	Ing. Luciana Saluzzo
Dra. Adriana Olleta	Lic. Roxana Cabana
Lic. Ana Cristina Molina	Ing. Liliana Celaya
MSc. Ing. Miguel Ángel Elechosa	Lic. María Ana González
Tec. Qco. Miguel Ángel Juárez	Ing. Adriana Apaza
Ing. Walter Villa	Dra. Cecilia González
Ing. Sigfrido Alemán	Prof. María Rosa Poma

Comisión Científica

Dr. Arnaldo Baldoni
MSc. Ing. Agr. Miguel A. Elechosa
Dra. Dora Vignale
Dr. César Catalán
Dra. Carmen Viturro
Ing. Qco. Armando Ricciardi
Dra. Catalina van Baren
Dra. Ana María Molina
Dra. Susana Gattuso

Resúmenes de conferencias y trabajos presentados

Conferencias

PRINCIPIOS BIOACTIVOS EN ESPECIES AROMÁTICAS Y MEDICINALES ANDINAS: “PUPUSA” (*XENOPHYLLUM POPOSUM*), “PUPUSA DE AGUA” (*X. INCISUM*), “YACÓN” (*SMALLANTHUS SONCHIFOLIUS*), “COPA-COPA” (*ARTEMISIA COPA*) Y “CHACHA-COMA” (*SENECIO NUTANS*). César A. N. Catalán. INQUINOA-CONICET e Instituto de Quí-

mica Orgánica, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán (4000), Argentina. Correo electrónico: ccatalan@fbqf.unt.edu.ar

El aislamiento geográfico de las comunidades y los pueblos que habitan la región andina del noroeste de la Argentina, Bolivia y Perú, ha contribuido a la conservación y el mantenimiento de sus tradiciones

ancestrales, entre ellas, la medicina folklórica. La farmacopea herbaria de los pueblos andinos es rica y variada, aun cuando la flora del ambiente semidesértico de la región bajo consideración (provincias fitogeográficas de la puna, prepuna y altoandina) es relativamente pobre (Cabrera, 1971; Giberti, 1983). En esta presentación se analizarán los principales metabolitos producidos por algunas de las especies pertenecientes a la familia de las Asteraceae que son utilizadas en la farmacopea folklórica del noroeste argentino así como los principios responsables de su actividad. *Xenophyllum poposum* (Philippi) V. A. Funk (sinónimo: *Werneria poposa* Philippi) es un subarbusto perenne, rizomatoso, con aroma desagradable, conocido con el nombre vulgar de “pupusa”, “poposa” o “fosfosa”. Crece en las altas montañas del norte de la Argentina, norte de Chile, Bolivia y Perú a 4.600-5.300 m.s.n.m. Sus partes aéreas se emplean para el tratamiento de la hipertensión, “apunamiento” y desórdenes digestivos como indigestión, inflamación intestinal, cólicos intestinales y diarrea (Alonso y Desmarchelier, 2006). También se usa para el dolor abdominal, el reumatismo y como condimento de alimentos para convalecientes de neumonía (Giberti, 1983; Alonso y Desmarchelier, 2006). El aceite esencial se obtuvo por arrastre con vapor de agua de diversas colecciones de material vegetal, realizadas en años diferentes, en el Cerro Pabellón, Departamento Andalgalá, provincia de Catamarca, a 4.600 m.s.n.m., con rendimientos del 0,6 al 0,8 %. El análisis por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masa mostró, en todos los casos, una composición muy parecida. Se identificaron 56 componentes en total que representan el 93 % del aceite. Los principales componentes fueron δ -cadineno 16,5 %, 6-hidroxitremetona 14,7 %, *epi*- α -cadinol 12,0 %, α -cadinol 8,8 %, γ -cadineno 7,5 %, 1-*epi*-cubenol 4,2 % y α -muuroleno 3,0 %. El aceite esencial mostró significativa actividad antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Por su parte, los principales componentes del extracto metanólico de las partes aéreas fueron: el compuesto antifúngico 4-hidroxi-3-(isopenten-2-il)-acetofenona (Figura 1), 6-hidroxitremetona (Figura 2) y tremetona. El extracto metanólico mostró actividad antibacteriana frente a diversas cepas de *Staphylococcus aureus*. El extracto metanólico y el aceite esencial mostraron, respectivamente, actividad antirradicalaria y antioxidante moderado y débil, en

comparación al BHT usado como referencia, empleando el ensayo del radical 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) y el sistema micelar β -caroteno/ácido linoleico. Los componentes más relevantes del aceite esencial de la “poposa” son fuertemente bioactivos. La 6-hidroxitremetona (Figura 2) (14,7 % en el aceite esencial) exhibe potente actividad anticáncer frente a células HL-60 de leucemia humana y de la línea tumoral HeLa (Liu y col., 2010); tiene efecto inhibitorio sobre el crecimiento de plantas (Céspedes y col., 2002), anti-HIV (Piacente y col., 1994) y actividad alergénica (Hausen y Helmke, 1995). El *epi*- α -cadinol (*t*-cadinol), 12,0 %, induce células dendríticas a partir de monocitos y estimula la polarización Th1 (Takei y col., 2006). También inhibe la hipersecreción intestinal inducida en ratones y las contracciones inducidas eléctricamente en el íleon de conejillos de india (Claeson y col., 1991a) así como propiedades antagonista de calcio (Claeson y col., 1991b). El *tau*-cadinol (12,0 %) y el α -cadinol (8,8 %) suprimen la producción de óxido nítrico inducida por lipopolisacáridos y tienen significativa actividad antiinflamatoria (Tung y col., 2011). El α -cadinol también exhibe poderosa actividad antiácaros (Chang y col., 2001). El antifúngico 4-hidroxi-3-(isopenten-2-il)-acetofenona (Figura 1), componente ampliamente mayoritario del extracto

Figura 1.- 4-hidroxi-3-(isopenten-2-il)-acetofenona

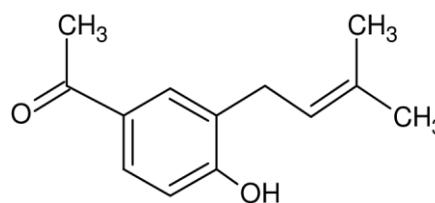
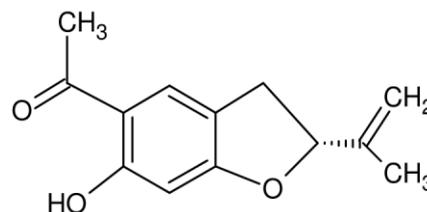


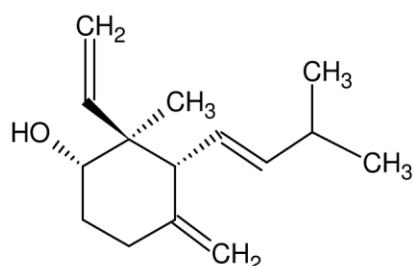
Figura 2.- (2R)-6-hidroxitremetona



de partes aéreas de la “poposa” tiene propiedades vasodilatadoras. En conclusión, *X. poposum* contiene cantidades significativas de metabolitos fuertemente bioactivos cuyas propiedades son consistentes con algunos de sus usos en medicina tradicional. Debido al contenido de tantos compuestos bioactivos (González y col., 2013), cabe esperar que la ingesta de infusiones o decocciones de esta hierba produzca efectos significativos que merecen ser investigados en profundidad, especialmente en relación con posibles sinergias. Debe investigarse también la existencia de quimiotipos, como se infiere de la composición muy diferente detectada en aceites esenciales de esta especie provenientes de colecciones realizadas en las provincias de Catamarca y Jujuy (Viturro y Ferro, 1994; Abella y col., 2000). *X. incisum* (Philippi) V. A. Funk (sin. *Werneria incisum* Phil.), también conocida como “pupusa”, “poposa”, “pupusa del cerro”, “pupusa de agua” o “pupusa del río”, se confunde frecuentemente con *X. poposum* y los usos de ambas plantas son esencialmente los mismos. Un estudio realizado por de Marchese y colaboradores en 2007, de material vegetal proveniente del Departamento Susques, provincia de Jujuy, dio un aceite esencial con β -pineno (19,4 %), un nuevo alcohol sesquiterpénico denominado incisol (Figura 3), $C_{15}H_{24}O$, (13,0 %); un óxido sesquiterpénico $C_{15}H_{26}O$ (11,0 %), un hidrocarburo sesquiterpénico no identificado $C_{15}H_{22}$ (6,4 %) y 2,2-dimetil-6-acetil-3-cromeno (5,9 %) como componentes principales. Por su parte, la cromatografía en columna del extracto clorofórmico de las partes aéreas permitió aislar e identificar, a igual que en *X. poposum*, la *p*-hidroxiacetofenona prenilada 1 como componente ampliamente mayoritario. En *X. incisum* se identificó además, acetovanillona (4-hidroxi-3-metoxi-acetofenona), un inhibidor potente

y selectivo de la NADH oxidasa-dependiente de especies reactivas de oxígeno y, notablemente, 9 miligramos de la hormona pregnenolona (de Marchese y col., 2007). En resumen, *X. incisum* tiene un aceite esencial con una composición marcadamente diferente a la de su pariente cercano *X. poposum*, aunque ambos tienen un uso similar en medicina tradicional. Ambas especies tienen el derivado prenilado de *p*-hidroxiacetofenona 1 como componente ampliamente mayoritario. El “yacón” o “yakón” [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp & Endl.) H. Robinson] es una planta herbácea perenne originaria de Sudamérica. Esta especie fue cultivada durante siglos por los pueblos originarios, desde el sur de Colombia hasta el norte de Argentina, por sus raíces tuberosas que se consumen como fruta. Las raíces de este cultivo andino poco difundido son un componente regular en la dieta de los lugareños y puede encontrarse en algunos mercados locales de Salta y Jujuy. Las hojas secas son recomendadas para personas que sufren de diabetes tipo II y también para desórdenes renales y digestivos. En el año 2001, investigadores de la Universidad Nacional de Tucumán (UNT) aportaron evidencia científica sobre la actividad hipoglucemiante de los extractos acuosos (decocción) de las hojas de yacón. La decocción al 10 % de hojas produce una disminución significativa de los niveles de glucosa plasmática (Aybar y col., 2001) en ratas con diabetes inducida. Sin embargo, la naturaleza de los compuestos responsables de esa actividad antidiabética no era conocida. Estudios fitoquímicos realizados sobre el yacón indican la presencia de varias lactonas sesquiterpénicas tipo melampolido, como sonchifolina, uvedalina, enhidrina y fluctuanina. La enhidrina es la principal lactona que se aísla de las hojas del yacón y se ha sugerido que tiene propiedades antidiabéticas, sin evidencia que lo sustente. También se han identificado en las hojas compuestos fenólicos, principalmente ácido clorogénico (ácido cafeoil-quinico) además de otros derivados del ácido cafeico que parecen ser los responsables de la actividad antioxidante. En nuestro laboratorio en colaboración con los grupos de la doctora Sara S. Sánchez, la doctora Susana Genta y el doctor Alfredo Grau, todos de la UNT, hemos realizado un estudio para determinar la actividad hipoglucemiante *in vivo* de cinco extractos orgánicos preparados con hojas de yacón, así como de la lactona sesquiterpénica enhidrina, aislada pura en forma cristalina. Como

Figura 3.- Incisol



animales de experimentación se emplearon ratas normoglicémicas y ratas con diabetes inducida por streptozotocin. Se aislaron e identificaron los componentes principales de las fracciones activas. El extracto butanólico donde se identificaron ácido cafeico, ácido clorogénico y tres ácidos dicafeoilquínicos resultó ser la fracción más activa. Por su parte, la principal lactona sesquiterpénica del yacón, la enhidrina, mostró también ser efectiva para reducir los niveles de glucosa posprandial (Aybar y col., 2001). Nuestros resultados apoyan fuertemente la idea de que los compuestos fenólicos derivados del ácido cafeico así como la enhidrina, son importantes principios hipoglucemiantes del yacón que producen un mejoramiento de la condición diabética.

Referencias bibliográficas

- Abella, L.; Cortella, A.R.; Velasco-Negueraela, A.; Pérez-Alonso, M.J. (2000). *Pharmaceutical Biology*, 38: 197-203.
- Alonso, J. y Desmarchelier, C. (2006). *Plantas Medicinales Autóctonas de Argentina*. Ediciones Fitociencia, Buenos Aires.
- Aybar, M.J.; Riera, A.N.S.; Grau, A.; Sánchez, S.S. (2001). *Journal of Ethnopharmacology* 74: 125-132.
- Cabrera, A.L. (1971). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 14: 1-42.
- Céspedes, C.L.; Uchoa, A., Salazar, J.R.; Perich, F.; Pardo, F. (2002). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 2283-2292.
- Claeson, P.; Andersson, R.; Samuelsson, G. (1991a). *Planta Medica* 57: 352-356.
- Claeson, P.; Zygumunt, P.; Hogestatt, E.D. (1991b). *Pharmacology and Toxicology* 69: 173-177.
- Giberti, G.C. (1983). *Journal of Ethnopharmacology* 7: 321-341.
- Chang, S.T.; Chen, P.F.; Wang, S.Y.; Wu, H.H. (2001). *Journal of Medical Entomology* 38: 455-457.
- de Marchese, A.J.A.; de Heluani, C.S.; Catalán, C.A.N.; Griffin, C.A.; Vaughn, J.B.; Herz, W. (2007). *Biochemical systematics and Ecology* 35: 169-175.
- González, A.M.; Tracanna, M.I.; Amani, S.M.; Schuff, C.; Poch, M.J.; Bach, H.; Catalán, C.A.N. (2013). *Natural Product Communications* (en prensa).
- Hausen, B.M.; Helmke, B. (1995). *Contact Dermatitis* 33: 33-37.
- Liu, Q.; Shen, L.; Wang, T.; Chen, J.; Qi, W.; Gao, K. (2010). *Food Chemistry* 122: 55-59.
- Piacente, S.; Aquino, R.; de Tommasi, N.; Pizza, C.; de Ugaz O.L.; Orellana, H.C.; Mahamood, N. (1994). *Phytochemistry* 36: 991-996.
- Takei, M.; Umeyama, A.; Arihara, S. (2006). *European Journal of Pharmacology* 537: 190-199.
- Tung, Y.T.; Huang, C.C.; Ho, S.T.; Kuo, Y.H.; Lin, C.C.; Lin, C.T.; Wu, J.H. (2011). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 59: 8117-8123.
- Vituro, C.; Ferro, E. (1994). *Actas del Simposio Internacional de Química de Productos Naturales y sus Aplicaciones*. Concepción, Chile: 296-297.

DE ESPONTÁNEAS A CULTIVADAS: ECONOMÍA, SUSTENTABILIDAD Y CONSERVACIÓN DEL RECURSO. Miguel A. Elechosa. Instituto de Recursos Biológicos INTA, Las Cabañas y de los Reseros s/n. Hurlingham (1686), Pcia. de Buenos Aires. Correo electrónico: melechosa@cnia.inta.gov.ar

La investigación en plantas aromáticas nativas reconoce antecedentes ya en el siglo XIX, con los estudios fitoquímicos de Arata y Arata y Canzonieri sobre el aromito (*Acacia caven* Mol.), y las contribuciones de Domínguez con la obra "Materia Medica Argentina" en las primeras décadas del siglo pasado. Pero es a partir de la publicación de "Los Aceites Esenciales de la República Argentina" en 1961, por Fester y sus colaboradores, que la investigación en plantas aromáticas adquiere un fuerte impulso por medio de sus discípulos y de los grupos científicos que se derivaron y generaron una importante producción. En el INTA Castelar el grupo dedicado al estudio de plantas aromáticas y nativas, inició en 1982 un plan de trabajo dedicado al estudio y domesticación de especies aromáticas indígenas, en un contexto de fuerte restricción presupuestaria, que obligó a su interrupción en 1987, pero a mediados de la última década del siglo XX reanudaron las actividades financiadas con fondos extrapresupuestarios generados por el mismo grupo hasta que finalmente en 2006, con la aprobación del proyecto PNHFA4164, se obtuvo una base firme de financiación que logró una mayor interacción con grupos extra INTA como las Universidades de Buenos Aires, Jujuy y San Luis. De esta manera se produjo una gran cantidad de información útil para encarar un proceso de introducción al cultivo de las especies nativas amenazadas por su demanda comercial. Estos estudios tuvieron mayor continuidad en las Universidades, y la labor de grupos de científicos en las de Córdoba, Cuyo, Nordeste, Patagonia, Río Cuarto, Santa Fe y Tucumán, además de las nombradas, generaron y continúan generando

importantes contribuciones en los aspectos de caracterización y evaluación y métodos de propagación de estas y otras especies nativas. El Proyecto Específico PNHFA4164, “Desarrollo de tecnologías innovativas para la exploración, conservación, evaluación y utilización de plantas aromáticas nativas”, pertenece a la cartera de proyectos del INTA correspondientes al período comprendido entre 2006 y 2009. El objetivo del proyecto fue contribuir a la conservación y utilización sostenible de las plantas aromáticas nativas amenazadas por sobreexplotación y que experimentan grave erosión genética por su demanda comercial. En la primera etapa se trabajó con un grupo de once especies que aparecen sometidas a la mayor presión de recolección, comprobada por el retroceso, el debilitamiento en términos de número y densidad, o la desaparición de las poblaciones en numerosas localidades. Se debe reconocer que la recolección no es la única causa de la erosión biológica; el desmonte a tala rasa que exige la ampliación de la frontera agrícola y otras prácticas, como la roza a fuego intencional para proveer pasto al ganado que deviene en incendios arrasadores, tienen efectos a menudo permanentes sobre la composición florística y la diversidad vegetal de inmensas áreas, que junto a la urbanización incontrolada en grandes áreas de interés turístico, como nuestros paisajes serranos, cuentan tal vez más en superficie. El cumplimiento estricto de la legislación existente o la creación de otra, actualizada, darían fin a estos flagelos. En cambio, la recolección de estas plantas efectuada por los pobladores para proveerse de dinero para sus necesidades, tiene un carácter alimentario, y no existe ni debería existir ley que la suprima. Por ello, se eligió este sector para trabajar, porque al proteger estas especies, finalmente se protege a los que las usan, para que puedan seguir haciéndolo ellos y sus descendientes. Cuando un recurso natural adquiere un valor económico, existen dos criterios de protección de la vida silvestre, la preservación a ultranza estableciendo un área intangible, o la intervención controlada sobre el recurso. El que defendemos en nuestro proyecto es el segundo, pues los recursos ocurren en un área poblada y constituyen buena parte del ingreso de los pobladores, cuyo interés es continuar aprovechándolos. A su vez, se debe considerar el interés de los consumidores de estos productos, que demandan autenticidad y calidad. El ideal de control en este caso es el cultivo de la especie. La

filosofía subyacente al proyecto es simple: se busca establecer y difundir pautas de recolección más amigables con la subsistencia de las poblaciones, mientras se desarrolla un proceso de introducción al cultivo que culmine en la mejora de la calidad, la cantidad y la continuidad del suministro. Incluso incrementaría su valor para el pequeño productor y transformaría la recolección en subsidiaria, y así contribuiría a la conservación de las especies en sus hábitats naturales. Este proceso de introducción al cultivo de especies nativas, está basado en estudios previos que han seguido una metodología estricta. La selección preliminar de procedencias se realizó sobre la base de los rendimientos y composiciones del aceite esencial, y con estos materiales se plantea la segunda etapa, el proyecto PNHFA064641, “Desarrollo de materiales base para la introducción al cultivo de quimiotipos seleccionados de plantas aromáticas nativas”. Se redujo el número original de especies en estudio a cuatro, sobre la base de las mayores demandas del mercado y la erosión genética estimada por las observaciones de retroceso en las áreas de recolección analizadas. Hasta ahora solo se han implantado ensayos preliminares y acabamos de distribuir las plantas para los definitivos y se esperan los primeros resultados para el próximo otoño. Una vez que transcurran tres ciclos, se habrán obtenido un número de resultados estadísticamente confiables y se podrá tomar decisiones respecto de las variantes que serán multiplicadas para ensayarse ya en el pequeño y el mediano cultivos. La experiencia de los investigadores y extensionistas locales en la selección de los productores será crucial para el éxito de esa etapa. Ahora bien, el proceso así descrito es apasionante, fluye naturalmente en un círculo virtuoso; sin embargo, debemos considerar que el éxito de la introducción a cultivo solo se hace sustentable por los factores socioeconómicos externos, una vez que se transforme en un eslabón de la cadena de valor, y supere a la mera recolección. El cultivo de plantas aromáticas es de larga data en la Argentina, puesto que el Programa Nacional Plantas Aromáticas del INTA se inició en 1964; en los últimos cincuenta años pasó por picos y valles, principalmente debido a las políticas macroeconómicas adoptadas en diferentes períodos. Las décadas de 1960 y 1970 significaron la expansión del área de cultivo y el crecimiento de la industria nacional, pero a finales de la última la restauración de políticas neoliberales frenó ese

impulso, y en consecuencia provocó la entrada de productos extranjeros, muchas veces en condiciones de *dumping*, que ni el retorno a la democracia en la década de 1980 y los consiguientes cambios en la economía, lograron revertir totalmente. En la última década del siglo pasado, sobre todo después de 1995 y comienzos de la primera década del presente siglo, el paradigma de la convertibilidad afectó en forma negativa al desarrollo de la actividad. Solo permanecieron en pie los productores e industriales consolidados y relativamente integrados, se defendieron nichos de mercado ganados con anterioridad, mientras que la mayor parte de los productores pequeños y medianos redujeron su producción a causa de la falta de competitividad derivada de la situación económica y sus consecuencias íntimamente relacionadas, como la desinversión y el atraso tecnológico que les impedían cumplir las exigencias del mercado interno a los precios que imponía el mercado mundial. Con la salida de la convertibilidad entre 2002 y 2003, cambiaron las condiciones de rentabilidad, y desde ese punto en adelante se reanimaron las explotaciones en las zonas tradicionales, donde además se pudo notar el incremento de las superficies cultivadas y se radicaron nuevos emprendimientos hasta 2008, momento en que la sequía y el comienzo de la crisis externa, ralentizaron el impulso inicial. Así nos encontramos en la actualidad, en un compás de espera por la subvaluación del dólar que disminuye la competitividad de la producción nacional. El mercado mundial de aromáticas y especias asciende a más de un millón de toneladas con valor superior a cinco mil millones de dólares, con un crecimiento sostenido del consumo mundial del 4 % anual durante la última década. El balance nacional es netamente favorable a las importaciones (17 millones de dólares contra exportaciones de 8,2 millones en 2007). La mayoría de las especias que se importan no se pueden producir en nuestro territorio; y otras especias como el orégano, las mentas entre otras que se producen en el país, y cuya producción nacional se encuentra por debajo del consumo interno; así la exportación no alcanza a equilibrar la balanza comercial. En la actualidad, la superficie en producción está estimada en más de 8 000 ha de aromáticas cultivadas, excluidos el limón y los pinos, que son trabajadas por aproximadamente 3 000 productores, que generan una demanda de empleo temporario que ronda el millón de jornales por año,

lo que equivale a más de 5 000 puestos de trabajo permanente, solo en la producción primaria. En el mercado de las hierbas participan también las plantas aromáticas nativas de recolección en ambiente natural, que movilizan un consumo interno de alrededor de 1 500 toneladas al año, y representan un valor final cercano a los quince millones de dólares y que solo en la etapa primaria da sustento económico familiar a un estimado grosero de 1 000 recolectores. En este caso se debe considerar además, el deterioro creciente de estos recursos y del ambiente que ocurren debido a la sobreexplotación. En la cadena de la comercialización de plantas aromáticas los productores primarios son en su gran mayoría pequeños y medianos, se insertan en sistemas de minifundios y explotaciones familiares con mano de obra intensiva (con la excepción de algunos de los cultivos pampeanos) y muchos de ellos ejercen una precaria tenencia de la tierra. Los recolectores se reclutan también en este segmento social. Las problemáticas regionales presentan diferencias no solo de contexto sino de preferencia o raigambre de determinados cultivos que imprimen rasgos particulares a las formas de producción y comercialización de estos productos, donde hay un común denominador: la pobreza estructural que determinan estas formas de producción y su interacción con relaciones de intercambio asimétricas, de baja transparencia. Los problemas generales para las aromáticas son: escasez de normas para la tipificación de calidad de la droga cruda, alta dependencia de los precios internacionales, falta de datos estadísticos confiables, subsistencia de materiales y prácticas de multiplicación y cultivo inadecuadas, condiciones deficientes en el tratamiento poscosecha, insuficiente asistencia técnica zonal y embrionaria organización local y regional de los productores. El cultivo de las plantas aromáticas nativas solucionaría los siguientes problemas: la calidad despereja del producto obtenido de la recolección en ambiente natural, la excesiva presión de extracción con respecto a la recuperación del recurso, el deterioro de la integridad genética de las poblaciones naturales y el hábitat, la falta de estabilidad de la oferta por influencia de fenómenos climáticos o antrópicos y la insuficiente remuneración en relación con el tiempo invertido en la recolección. En este sentido, el mercado, sobre todo el acopio primario, debería reaccionar con precios adecuados a las nuevas calidades, ya que los costos por volumen entregado se

incrementarían. Las oportunidades del cultivo de plantas aromáticas son: el creciente interés del mercado en el uso de aromas y condimentos naturales, nuevos sabores para la industria de las bebidas y productos para la fármaco-fitoterapia, la necesidad de las industrias de la perfumería y la cosmética por notas novedosas florales, frutales, herbáceas y fijadores, relacionados con aceites esenciales y oleorresinas naturales, y la posibilidad de desarrollar los cultivos con mano de obra familiar, en superficies pequeñas, en zonas marginales, áridas o montañosas de difícil mecanización agrícola. Todos estos factores desempeñan un rol importante en la adopción de nuevos cultivos, por lo que habrá que trabajar con tenacidad y perspicacia en la instalación de esta alternativa entre nuestros pequeños productores. La preservación de nuestros recursos depende de ello.

IMPORTANCIA DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO EN LA NORMALIZACIÓN DE PLANTAS AROMÁTICAS Y MEDICINALES. **Catalina M. van Baren.** **Cátedra de Farmacognosia-IQUIMEFA (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956 (1113) Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: cbaren@ffyb.uba.ar**

Las plantas aromáticas son utilizadas principalmente por sus cualidades aromáticas (aroma y sabor); sin embargo, tienen numerosas propiedades terapéuticas que también las constituyen en medicinales. Estas características hacen que su utilización se haya extendido más allá del uso tradicional en la herboristería, a otras industrias como la farmacéutica, la cosmética y alimentaria. La Argentina tiene una elevada riqueza de especies nativas que incluyen aromáticas y medicinales; muchas de ellas son endémicas. Dentro de este grupo, existen alrededor de 300 especies cuya recolección se realiza directamente del ambiente natural y en general, en forma extractiva (se descalza la planta entera) (Núñez y Cantero, 2000). Si bien los pobladores locales han recolectado estas especies desde hace siglos para su utilización tradicional, en las últimas décadas la presión sobre las poblaciones naturales se ha incrementado notablemente debido a su gran demanda industrial, principalmente por la industria alimentaria en la elaboración de bebidas amargas sin alcohol y el gran auge que han tenido en los últimos años las aguas saborizadas y con

propiedades funcionales (energizante, antioxidante, entre otras). La consecuencia de esta coyuntura es la reducción de las poblaciones naturales, que no solo está asociada en gran medida al tipo de cosecha extractiva, sino además a la expansión de las fronteras para la explotación agrícola extensiva, al uso del paisaje para el desarrollo del turismo ligado a las inversiones inmobiliarias en las zonas serranas y a los incendios ocasionales. Estas prácticas han provocado no solo una importante disminución de las poblaciones naturales de las especies nativas sino que también ocasionan que muchas de ellas se encuentren en peligro de extinción (Goleniowski y col. 2006). Más aún, hasta la recolección local por pobladores para consumo propio, principalmente como droga vegetal cruda (hojas, flores, frutos) en la preparación de infusiones caseras (yerba mate “compuesta”), en la actualidad, también tiene impacto sobre las poblaciones naturales. La introducción al cultivo de estas especies es una acción necesaria y recomendada, ya que contribuiría no solo a la conservación de la biodiversidad sino también a la estabilización de la oferta y al mejoramiento de la calidad de la droga cruda para su utilización como materia prima por las diversas industrias. Por otra parte, la posible obtención de los aceites esenciales a partir de especies aromáticas nativas con las características de calidad que requiere el mercado, podría constituir una oportunidad de mayores y mejores fuentes de ingreso para los pobladores que se sustentan de ellas, que se estima en más de 800 familias solo en la región central de la Argentina (Elechosa, 2010). Esta misma problemática incluso ha fomentado el interés por iniciar el cultivo a escala industrial, como se planteó en países vecinos (Uruguay, Paraguay, Bolivia y Brasil). La amplia variabilidad química que pueden presentar estos materiales dada su alta biodiversidad, constituye una de las problemáticas para el sector productivo, tanto de la droga cruda como de los aceites esenciales. Las industrias necesitan materias primas de calidad constante para proveer al mercado de productos con calidad homogénea. Sin embargo, las especificaciones de calidad son diferentes para los distintos sectores industriales que utilizan estas plantas. Como etapa inicial del proceso de domesticación es necesario disponer de las normas de calidad que aseguren materiales aptos para cada una de estas aplicaciones y sirvan como base para

seleccionar los mejores materiales genéticos. Analizaremos la importancia del análisis fitoquímico en la normalización de plantas aromáticas y medicinales, utilizando dos especies nativas de amplio uso tradicional en la Argentina: “marcela” y “cedrón”. Con el nombre común de “marcela” suele nombrarse a las especies *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., *Achyrocline flaccida* (Weinm.) DC. y *Gnaphalium gaudichaudianum* DC. (Asteraceae). Las tres comparten el área de distribución, son morfológicamente muy similares y ante la falta de normas de calidad oficiales, es bastante usual la utilización de una u otra de manera indistinta. Junto a estas especies también se puede llegar a encontrar la especie *Achyrocline alata* (Kunth) DC., aunque con bastante menor frecuencia, y de la cual resulta más sencilla su diferenciación, por su distinta morfología. Estas especies son utilizadas por sus cualidades aromáticas y medicinales otorgadas por distintos metabolitos secundarios. Se realizó una serie de estudios farmacognósticos y análisis fitoquímicos de las distintas fracciones (volátil y no volátil) de la especie *A. satureioides*, la especie más estudiada y reconocida como “marcela”, con el objetivo de definir sus criterios fitoquímicos de calidad, soportado en el análisis de varias poblaciones silvestres y comerciales, recolectadas en las áreas más representativas de su localización. Además, se analizaron las otras especies mencionadas, como adulterantes usuales, de manera de encontrar parámetros diferenciales entre ellas. Los análisis fitoquímicos permitieron determinar metodologías analíticas de laboratorio y valores de referencia que especifican su calidad como droga vegetal para su utilización medicinal, justificar que las inflorescencias constituyen la parte usada, determinar el mejor momento de recolección y establecer metodologías analíticas sencillas para diferenciarla de sus adulterantes. Por otra parte, por medio de estudios sensoriales, se lograron establecer diferencias significativas para su uso en la preparación de bebidas. También se pudo demostrar que la cualidad aromática no está asociada a su aceite esencial. Los resultados de este trabajo permiten proponer una norma farmacopeica para su uso medicinal (Retta, 2012). El “cedrón” es *Aloysia citrodora* Palau (Verbenaceae). Crece desde México hasta Chile, Uruguay y sur de Brasil, y en el centro y noroeste de la Argentina. La fracción volátil es su característica más destacada

junto a la fracción polifenólica no volátil (Carnat y col., 1999). El principal componente en el aceite esencial es el citral (mezcla de los isómeros geranial y neral); sin embargo, se conocen en el mercado local variedades de “cedrón” que contienen otros compuestos distintos al citral (Gil y col., 2007). Nuestro grupo de trabajo definió los parámetros fitoquímicos básicos que identifican la mejor calidad del aceite esencial de cedrón en la Argentina (Di Leo Lira y col., 2008). Este trabajo fue adoptado para la redacción de una propuesta de monografía para el “cedrón”, a fin de ser incluida en la próxima edición de la Farmacopea Argentina. Por otra parte, ya se encuentra incluido en el Código Alimentario Argentino y en Códigos de países limítrofes; así como también existen monografías en Farmacopeas y Asociaciones de países europeos con las exigencias mínimas requeridas. De todas estas normas, solamente en tres de ellas (EuPh, FFX y EHIA) se indican algunos parámetros con gravitación discriminante para la determinación de calidades; uno de ellos es el rendimiento de aceite esencial, pero sin especificar la composición química específica de la parte volátil. Nuestros trabajos demostraron la relevancia de esta determinación, teniendo en cuenta que existen calidades de “cedrón” con posibles efectos negativos sobre la salud (contenido de los isómeros de tuyona) (Molina y col., 2003; Di Leo Lira y col., 2008). Respecto del análisis de la fracción no volátil, responsable de gran parte de las propiedades medicinales, se analizó su contenido en polifenoles determinados como activos y se están determinando los valores de referencia por medio del análisis poblacional de “cedrón” en la Argentina. En función de las calidades determinadas y conociendo las exigencias del mercado, se impone la introducción al cultivo de estos materiales a fin cubrir las necesidades internas, homogeneizar su calidad y evitar recurrir a materiales de otras procedencias foráneas. Es indudable que existe una creciente necesidad de implementar normas de calidad de los materiales vegetales que se emplean como materia prima en la elaboración de alimentos, productos cosméticos, farmacéuticos y otros. Esta necesidad se sostiene en la importancia de comercializar productos con garantía de calidad y homogeneidad y que además satisfagan los requerimientos del mercado, posibilitando por otro lado, la identificación de nuevos productos con características diferenciales potencialmente útiles. Para obtener

productos de calidad hay que partir de materias primas de calidad. El control de calidad de materias primas vegetales requiere, entre otras cosas, de profesionales experimentados, instrumental, patrones primarios o estándares, insumos varios, pero fundamentalmente es necesario poder contar con especificaciones de calidad, que deben contener valores de referencia, criterios de aceptación o rechazo, incluir gráficos o tablas que le permitan al profesional a cargo del control de calidad decidir si esa materia prima se encuentra dentro de los parámetros de calidad óptimos o necesarios, y conforme a su utilización. Las especificaciones de referencia deben ser consistentes y estar avaladas por una serie de análisis previos; por otra parte, deben ser representativas; en el caso de materias primas de origen vegetal, como lo son las especies aromáticas y medicinales nativas, deberán ser representativas de las poblaciones de ese país o de la región. Cualquier acción que promueva el estudio fitoquímico de plantas aromáticas y medicinales nativas será un aporte importante en la valorización de los recursos vegetales nativos.

Agradecimientos: Proyectos UBACyT 20020110200118 y 20020100100348; PICT 2008-1969.

Referencias bibliográficas

- Núñez, C. y Cantero J.J. (2000). *Las plantas medicinales del sur de la Provincia de Córdoba*. Ed. Fundación de la Universidad Nacional de Río Cuarto.
- Goleniowski, M.E.; Bongiovanni, G.A.; Palacio, L.; Nuñez, C.O.; Cantero, J.J. (2006). *Journal of Ethnopharmacology* 107(2): 324-341.
- Elechosa, M.A. (Coordinador). (2010). PE INTA 64641 (2010-2012) *Desarrollo de materiales base para la introducción al cultivo de quimiotipos seleccionados de especies aromáticas nativas*.
- Retta, D. (2012). Trabajo de Tesis: "Parámetros fitoquímicos para la determinación de calidad de "marcela", *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Asteráceas)". Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.
- Carnat, A.; Carnat, A.P.; Fraisse, D.; Lamaisson, J. (1999). *Fitoterapia* 70: 44-49.
- Gil, A.; van Baren, C.; Di Leo Lira, P.; Bandoni, A.L. (2007). *J. Agric. Food Chem.* 55: 8664-8669.
- Di Leo Lira, P.; van Baren, C.; Retta, D.; Gil, A.; Gattuso, M.; Gattuso, S.; Bandoni, A. L. (2008). *J. Essent. Oil Res.* 20(4): 350-353.
- Molina, A.; Viturro, C.; Heit, C. (2003). *XIV Congreso de la Sociedad Argentina de Investigación en Química Orgánica (SAIQO)*, Santa Fe, Argentina, 7 al 10 de noviembre de 2003.

ESTRATEGIAS EN LA INVESTIGACIÓN CON PLANTAS AROMÁTICAS Y MEDICINALES. Arnaldo L. Bandoni. Cátedra de Farmacognosia-IQUIMEFA (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956 (1113) Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: abandoni@ffyb.uba.ar

En la Argentina existe abundante bibliografía científica dedicada a las plantas aromáticas y medicinales. Si se revisaran estos antecedentes se comprobaría que prácticamente la mayoría fueron gestados sin un objetivo común, algo totalmente esperable y hasta casi lógico: cada grupo de investigación actúa en función de distintos incentivos, competencias e intereses. Sin embargo, y considerando que estamos integrando un país en desarrollo, sería loable que una parte importante de los esfuerzos realizados se orientaran a fines específicos, como una forma de optimizar los recursos y lograr en un plazo mínimo los adelantos necesarios para mejorar nuestro nivel de vida o impulsar nuestra economía. El Ministerio de Ciencia y Tecnología de la Nación inicialmente percibió esta necesidad y trató de conciliar opiniones y necesidades de los distintos actores que participan en la gestión de I+D+i nacional, para consensuar una política nacional en el sector. No sabemos si esta iniciativa tuvo algún resultado, pero cabe entonces plantearse cuáles serían las pautas mínimas a las que deberíamos amoldarnos como para aprovechar esta coyuntura o, por lo menos, definir cuáles deben ser los paradigmas que deberíamos proponer como lineamientos más adecuados. Y esto debiera considerar tres elementos básicos: la elección de qué planta estudiar, hacia qué objetivo orientarlo y cómo planificar el trabajo. Con respecto a la elección de las plantas más promisorias de estudio, nos parece útil recordar una clasificación que propusimos en otra oportunidad, donde las dividimos en cuatro tipos básicos según su importancia económica y su disponibilidad, tal como se muestra en el cuadro 1. Dentro de este esquema los trabajos fitoquímicos tradicionalmente abordan el estudio de plantas silvestres no aprovechadas, mientras que el sector agronómico se orienta hacia las cultivadas aprovechadas. Queda entonces un riquísimo campo de acción en el estudio fitoquímico y agronómico de plantas cultivadas no aprovechadas o silvestres aprovechadas, para facilitar o mejorar su

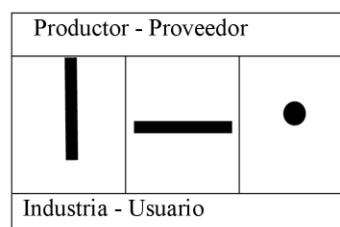
Cuadro 1.-

Categorías	Cultivadas	Silvestres
Aprovechadas	Tradicionales (cítricos, menta...)	Peperina, marcela...
No aprovechadas	Aguaribay, ciprés...	Flora aromática y medicinal autóctona

explotación comercial sustentable. En cuanto a la flora autóctona es indispensable recopilar la información existente sobre su conocimiento, ya sea por trabajos científicos previos, por la tradición de uso o por la experiencia personal. También resulta útil poder reconocer cuáles serían las especies más promisorias de la flora autóctona para su potencial aplicación industrial. Para esta tarea se ha propuesto y se explicarán brevemente una serie de pautas que permiten caracterizar cada especie con un valor numérico que permite ponderar la legitimidad de su estudio. ¿Con qué perfiles se podrían concebir estos estudios? Para las silvestres aprovechadas, el estudio de la variabilidad genotípica, la normalización de su calidad, la domesticación y el mejoramiento del manejo agronómico con criterios de productividad y calidad y el escalamiento de su procesamiento industrial, son algunos de los posibles caminos que se pueden seguir. En cuanto a las no aprovechadas y cultivadas, merece destacarse el reconocimiento de nuevas funcionalidades o bioactividades. Cuando se evalúa el cómo estudiar las plantas aromáticas y medicinales, el principal criterio que debería ser justipreciado es cuál es la motivación de trabajar en esta temática, que debería justificarse por intereses sociales o regionales, y no por intereses curriculares o personales. Con esta premisa hay dos condiciones que se debieran priorizar: la labor multidisciplinaria y la coparticipación del sector privado. Esta metodología permite garantizar dos premisas básicas para alcanzar el éxito en la transferencia de la tecnología al sector productivo: a) evitar esfuerzos aislados y alcanzar mancomunadamente objetivos de mayor alcance e integrales; b) no ofrecer lo que se procura, sino lo que se demanda. Una amenaza cierta que se puede encontrar en este camino es la pretensión de alcanzar objetivos que no se correspondan con las circuns-

tancias económicas o sectoriales existentes o planificadas en el mediano plazo. Es el riesgo de crear falsas expectativas o de alentar propuestas erróneamente fundamentadas o alejadas de la realidad o de las posibilidades futuras. Un paquete tecnológico aporta solamente la *factibilidad técnica* de desarrollar un nuevo emprendimiento. En forma concomitante debiera implementarse un adecuado asesoramiento en lo referente al estudio de *factibilidad económica y comercial* de la propuesta. Con frecuencia se encuentran trabajos científicos que tienen como corolario una propuesta de aprovechamiento industrial de la planta aromática o medicinal en cuestión, sin considerar o desconociendo la competitividad o las contingencias del mercado para su implementación. Se observa entonces que el objetivo de la investigación necesariamente tiene que estar supeditada a la demanda y a sus especificaciones o a las potenciales fortalezas de la planta estudiada, cualidades que justificarían la creación de un nuevo producto o un nuevo negocio. Las plantas aromáticas y medicinales pueden comercializarse de muy distintas formas (frescas, desecadas, para obtener extractos purificados, compuestos químicos puros, entre otras) y a través de muy diversas especialidades (cosmética, alimentaria, medicinal, agroquímicas, productos domisanitarios, industriales, etcétera). Por esas razones, desde el punto de vista operativo nos parece muy positivo utilizar estrategias de selección de potenciales interesados, para invitarlos a asociarse a nuestra labor científica. Para este objetivo hemos propuesto en su momento definir los tres tipos de emprendimientos universalmente utilizados en la comercialización de plantas aromáticas y medicinales: el modelo vertical (donde el productor trabaja patrocinado por una empresa que demanda el producto y proveedora del paquete tecnológico), el horizontal (labor cooperativa o asociada entre productores o entre productores e industriales) y el puntual (desarrollo familiar, indi-

Figura 1.-



vidual o aislado, por iniciativa propia) (Figura 1). A la hora de elegir un socio del sector productivo para un proyecto, entre estos tres modelos parece casi obvio priorizar los provenientes del tipo horizontal, por su trascendencia social y su influencia económica. Pero puede también ser muy útil encarrar el modelo puntual, si realmente hay un interés cierto en promover un negocio de este tipo. Un ejemplo de este último planteo es la creación de un negocio con productos que llamaremos *marcadores territoriales*. El “mate” en Misiones, el “calafate” en la Patagonia o la “peperina” en Córdoba son algunos ejemplos de productos que aportan un sentido geográfico y cultural distintivo, que los hace comercialmente competitivos. Se fundamentan en la tradición de uso local y en el relativo endemismo de las especies. La plasticidad de las plantas aromáticas y medicinales para adecuarse a distintos ambientes y la frecuente presencia de quimiotipos entre ellas aportan verdaderas oportunidades para identificarlos como marcadores de territorios y generar negocios con este esquema de trabajo. Por último, no se debe omitir el modelo vertical de producción, si es requerido específicamente para algún tipo de asesoramiento externo al compromiso contractual existente entre la industria y el productor o proveedor, sea por sustitución de importaciones, por requerimientos de control de calidad, por resolución de problemas puntuales o temporales, etcétera. En el NOA hay grupos de investigación de reconocido nivel científico, ONG interesadas en estas problemáticas, numerosos productores e industriales de envergaduras muy distintas y, por último, tal vez lo más significativo, importantes carencias sociales. Sería un gran logro saber aunar esfuerzos para aportar soluciones a algunas de las necesidades de la región.

ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS EN LA INVESTIGACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD DE METABOLITOS SECUNDARIOS VEGETALES BIOACTIVOS. Silvia Moreno. Fundación Instituto Leloir (IIBBA-CONICET), Patricias Argentinas 435. Ciudad Autónoma de Buenos Aires (1405), Argentina. Correo electrónico: smoreno@leloir.org.ar

La naturaleza es el mejor químico que, comenzando con agua, dióxido de carbono y elementos minerales ha mostrado su habilidad sintética para producir hidratos de carbono, proteínas, grasas, vitami-

nas y metabolitos secundarios. A partir de la gran diversidad estructural y funcional de moléculas naturales sintetizadas a partir de metabolitos secundarios se pueden originar innumerables productos naturales que, ya se utilizan, o se les reconoce su alto potencial como productos alimentarios, agentes aromatizantes, colorantes, insecticidas, hipolipidémicos, y agentes reguladores del crecimiento de microorganismos y de células de mamíferos. En particular, las plantas sintetizan una inmensa diversidad de estructuras químicas que las transforman en una de las principales fuentes renovables y potencialmente ilimitadas de materias primas. Una gran cantidad de aceites esenciales aislados de diversas especies aromáticas y medicinales se utilizan en la industria alimentaria como saborizantes (Ponce y col., 2011), así como bioconservantes para prolongar la vida útil de los alimentos, al reducir o eliminar las bacterias patógenas y aumentar la calidad global de los productos alimenticios. Ciertos conservantes que contienen aceites esenciales están disponibles comercialmente en algunos países y están clasificados como Generalmente Reconocidos como Seguros (GRAS aditivos alimentarios); sin embargo, las cantidades de sus componentes exactas no están informadas. Otras fracciones obtenidas de plantas aromáticas y medicinales muestran un alto potencial en el área de la alimentación y para la producción de nuevos productos en el área de la salud humana como nuevos agentes terapéuticos. Sin embargo, su utilización en la medicina moderna requiere del conocimiento de su eficacia biológica, ensayos de toxicidad, entre otra información científica. En términos generales el estudio de la funcionalidad de metabolitos secundarios aislados de fracciones vegetales requiere el conocimiento de su composición química, la determinación de la función biológica en modelos de estudio que puede involucrar estudios *in vitro* mediante técnicas bioquímicas, el uso de líneas celulares en cultivo y el uso de animales de experimentación. Además, se requieren estudios de toxicidad. Con el desarrollo de varios métodos analíticos de alta precisión, y los avances en biología molecular y de ingeniería genética, es ahora posible aislar compuestos, estudiar su estructura química y potencialidades terapéuticas. A continuación se puede alterar la molécula para adecuarla a la producción de más selectivos y nuevos agentes terapéuticos. Recientemente, una planta que ha despertado un gran interés por

sus potencialidades terapéuticas es el *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) (“romero”), una planta doméstica muy común. El “romero” es una hierba culinaria utilizada en todo el mundo desde la antigüedad como saborizante y conservante de alimentos por sus propiedades antioxidantes. Esta planta que se reconoce como una de las especies que presentan mayores contenidos de compuestos polifenólicos antioxidantes se encuentra naturalizada en varias provincias de la Argentina, como el NOA, el NE, el centro y la zona cuyana. Es bien conocido que algunos aceites esenciales del romero ejercen propiedades antimicrobianas y antioxidantes (Burt, 2004). Se ha investigado mucho la naturaleza química de sus moléculas constituyentes tanto de fracciones volátiles como no volátiles. Por otro lado, más recientemente se han enfocado investigaciones tendientes a conocer sus efectos antimicrobianos (Moreno y col., 2006) antiinflamatorios y anticancerígenos (Barni y col., 2012) para entender cómo ejerce el romero efectos benéficos sobre la salud humana. Sin embargo, resta por conocer la identidad de sus moléculas bioactivas particulares y los mecanismos de acción tanto sobre células de mamíferos como sobre microorganismos. El objetivo general de nuestras investigaciones es identificar los principales bioactivos presentes en plantas de romero naturalizadas en la Argentina y comprender sus mecanismos de acción. Investigamos acciones antioxidantes, antibacterianas *in vitro* e *in vivo* de los bioactivos solos, y en combinación con antibióticos de uso en clínica, así como en sus posibles efectos inmunomoduladores y antitumorales. Desarrollamos diferentes ensayos *in vitro*, bioensayos y utilizamos diferentes líneas celulares tanto de células normales como macrófagos y fibroblastos como de células tumorales y de adenocarcinoma de colon humano. Ensayamos acciones antimicrobianas sobre bacterias de colección sensibles a antibióticos y sobre cepas patógenas multirresistentes a diversos antibióticos utilizados en la clínica actual. Hemos caracterizado químicamente diversos extractos no volátiles por cromatografía líquida de alta presión y aceites esenciales de romero por cromatografía gaseosa determinando su composición e identificando sus componentes mayoritarios. Sobre la base de la actividad biológica obtenida ensayando los extractos completos y la observada por sus componentes principales aislados, se conocen los bioactivos particulares responsables de cada una de

las acciones biológicas estudiadas. Inicialmente demostramos acciones antimicrobianas de extractos y compuestos no volátiles aislados de hojas de romero sobre bacterias sensibles a antibióticos (Moreno y col., 2006). Recientemente informamos el mecanismo de acción del principal bioactivo antimicrobiano de extractos orgánicos, el diterpeno antioxidante ácido carnósico (Ojeda-Sana y col., 2012). El ácido carnósico es capaz de potenciar la actividad antimicrobiana de varios antibióticos. Sin embargo, el mecanismo molecular subyacente que regulaba este efecto no estaba claro. Nosotros investigamos el efecto del ácido carnósico sobre el transporte del fluorocromo bromuro de etidio, la permeabilidad o el potencial de membrana en *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*. Mediante el uso de ensayos fluorométricos demostramos que en *E. faecalis*, el ácido carnósico es un modulador de la captación y el eflujo de bromuro de etidio. Aunque no induce la permeabilización de la membrana celular, es capaz de alterar el potencial de membrana en *S. aureus* y *E. faecalis*. Por lo tanto, este compuesto natural, estructuralmente no relacionado con antibióticos conocidos, podría funcionar como un modulador de la bomba de eflujo bacteriana por disipación del potencial de membrana. La resistencia bacteriana a los antibióticos, como informó la Organización Mundial de la Salud, es una de las tres mayores amenazas para la salud humana. Limita la eficacia de los antibióticos clásicos y limita las alternativas actuales para el tratamiento de enfermedades infecciosas (Leclercq, 2009). La falta de antibióticos eficaces requiere iniciativas de alcance global para paliar esa situación, y entre ellas la obtención de nuevos agentes antimicrobianos de origen vegetal es una estrategia posible (Cowan y col., 1999). En los últimos años se informó de un gran incrementode *S. aureus* resistentes a meticilina y vancomicina que pueden producir septicemias y constituyen una de las primeras causas de muerte relacionadas con infecciones nosocomiales en muchos países (Taubes, 2008). En este contexto hemos estudiado la acción microbicida de compuestos naturales de naturaleza terpénica aislados de plantas de *Rosmarinus officinalis*, informando acciones bacteriostáticas y bactericidas de sus compuestos bioactivos. En este contexto avanzamos en el conocimiento del potencial uso de compuestos volátiles aislados del “romero” en nuevas aplicaciones para inhibir el crecimiento de bacterias

patógenas para humanos (Ojeda-Sana y col., 2012). Para ello, evaluamos la relación entre la composición química de los aceites esenciales y la actividad antibacteriana contra patógenos humanos y la libre capacidad de captación de radicales libres en diferentes plantas que crecen en la Argentina. Encontramos que un quimiotipo de aceite esencial de “romero” rico en mirceno tenía mayor capacidad antioxidante, probablemente debido al alto contenido de mirceno, demostrado por el ensayo de DPPH. Comprobamos cambios en la permeabilidad de la membrana de *Escherichia coli* después del tratamiento con 1,8-cineol mediante el ensayo de Sytox Green y se correlacionó su actividad bactericida con su capacidad para romper la membrana celular de *E. coli*. Cuando investigamos su efecto sobre células clave del sistema inmune innato, encontramos posibles efectos inmunomodulatorios en la línea celular de macrófagos murinos RAW 264.7. Evaluamos efectos antibacterianos sobre bacterias patógenas de difícil tratamiento, como son bacterias multirresistentes a antibióticos comunes como, por ejemplo, *S. aureus* resistente a la meticilina y vancomicina, tanto en ensayos *in vitro* como *in vivo* (Cáceres y col., 2012). Encontramos que el aceite esencial de “romero” y algunos de sus compuestos principales presentan actividad antibacteriana contra cepas hospitalarias multirresistentes. En otros trabajos demostramos efectos antiproliferativos sobre la migración y adhesión celular en líneas celulares de cáncer colorrectal humano (Barni y col., 2012). Utilizando líneas celulares de fibroblastos en cultivo y mediante el uso de sales de formazán (reactivo MTS) determinamos los efectos sobre la viabilidad y la toxicidad celular de los compuestos bajo estudio. Encontramos blancos moleculares modulados por bioactivos particulares del “romero” en preadipocitos (línea celular NIH 3T3) y en células de cáncer colorrectal (Caco-2), ambos tipos celulares regulados directamente por componentes de la dieta (Moreno y col., 2012). En conclusión, mediante técnicas bioquímicas, moleculares y cultivos celulares identificamos proteínas y genes regulados por bioactivos aislados de la planta modelo bajo estudio. Toda la evidencia científica sostiene que el “romero”, muy utilizado como conservante y aditivo alimentario, es una rica fuente de compuestos bioactivos de alto valor en otros campos, como el área farmacológica para la prevención y el trata-

miento de diversas patologías humanas.

Referencias bibliográficas

- Ponce, A.; Roura, S.I.; Moreira, M.R. (2011). *Journal of Food Science* 76: 34-40.
- Burt, S. (2004). *International Journal of Food Microbiology* 94: 223-253.
- Moreno, S.; Scheyer, T.; Romano, C.S.; Vojnov, A.A. (2006). *Free Radical Research* 40(2): 223-231.
- Barni, M.V.; Carlini, M.J.; Cafferata, E.G.; Puricelli, L.; Moreno, S. (2012). *Oncology Reports* 27(4): 1041-1048.
- Ojeda-Sana, A.M.; Repetto, V.; Moreno, S. (2012). *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (DOI) 10.1007/s11274-012-1166-3.
- Leclercq, R. (2009). *Clin Microbiol Infect* 15: 224-231.
- Cowan, M.M. y col. (1999). *Clin Microbiol Rev* 12: 564.
- Taubes, G. (2008). *Science* 321: 356.
- Ojeda-Sana, A.M.; van Baren, C.; Elechosa, M.A.; Juárez, M.A. y Moreno, S. (2012). *Food Control* DOI 10.1016/j.foodcont.09.022.
- Cáceres, G.P.A.; Ojeda-Sana, A.M.; Blanco, A.; Lopardo, H.; Macchi, A.; van Baren, C.; Dellorso, M.; Moreno, S. (2012). *Pediatric Research* 72(1): 109.
- Moreno, S.; Ojeda-Sana, A.M.; Gaya, M.; Barni, M.V.; Castro, O.A.; van Baren, C. (2012). “Rosemary compounds as nutraceutical health products” en El-Samragy, Y. (ed.) *Food additives* Cap. 9. Intech-open Science: 157-174.

PLANTAS CON TRADICIÓN DE USO COMO ALEXÍTERAS EN LA ÉPOCA PRECOLOMBINA. ACTUALIDAD Y VALIDACIÓN DE SU CONOCIMIENTO. Armando I.A. Ricciardi. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Química Orgánica III C. Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), (Corrientes). República Argentina.

En las crónicas de los primeros cronistas españoles de la época de la colonia, que nos transmitieron los conocimientos de la etnomedicina aborigen del centro norte argentino, se encuentran numerosas referencias al empleo de plantas con efectos sorprendentes para tratar los accidentes provocados por mordeduras o “picaduras” de víboras, riesgo frecuente y temido. De esas plantas, hoy conocidas como alexíteras, hemos relevado más de ciento setenta especies a las que se atribuyen esas propiedades. Su caracterización por nombres vernáculos dificulta su correlación con los taxones reconocidos en la botánica sistemática moderna, sobre todo teniendo presente que la falta de ejemplares de herbario impide su verificación. Otro aspecto de incerteza

es la variabilidad en constituyentes de las especies vegetales o animales según su origen geográfico. Pero casi sobre el final del siglo veinte la tradición en la medicina popular ha llevado a investigar el empleo de sus especies o extractos para contrarrestar los accidentes por ponzoñas animales. Así, se han podido comprobar acciones *in vitro* e *in vivo* con resultados sorprendentes en la inhibición o neutralización de venenos, como es el caso de las cabenegrinas A-I y A-II, pterocarpanos de las raíces de una planta conocida como “cabeça de negro” sobre el veneno de *Bothrops atrox*, el (-)-edunol, otro pterocarpano de *Brongniartia*; la wedelolactona, cumestano de plantas del género *Eclipta* que antagoniza los venenos de crotálicos, la arturmerona, sesquiterpeno de *Curcuma* sobre los venenos de la “yaráraca” y de la “cascabel sudamericana”, y la publicación de un número creciente de trabajos vinculados. En esta exposición examinamos los antecedentes y evidencias relacionados con especies autóctonas de los géneros *Aristolochia*, *Asclepias*, *Bidens*, *Brunfelsia*, *Casearia*, *Chiococca*, *Cissampelos*, *Clematis*, *Dorstenia*, *Eclipta*, *Flaveria*, *Petiveria*, *Pilocarpus*, *Sapindus* y *Tabernaemontana* del norte-nordeste argentino; en algunos casos referimos nuestras propias observaciones sobre coagulación del plasma sanguíneo, y hemólisis por acción del veneno de *Bothrops neuwiedi diporus* Cope (“yarárica”) y de este con diluciones de extractos acuoso o etanólico de *Aristolochia* y *Cissampelos* sobre la base de los efectos observados experimentalmente. Se abre así la posibilidad de una nueva terapia alternativa al uso tradicional de sueros heterólogos no siempre accesible o exento de riesgos.

APLICACIÓN EN MEDICINA VETERINARIA DE ACEITES ESENCIALES PROVENIENTES DE PLANTAS DE LA FLORA LATINOAMERICANA. Heriberto V. Elder. Programa de Plantas Aromáticas y Medicinales para la provincia de Santa Fe. Convenio MAGIC-UNL-CONICET, Ruta Prov. 2, N° 2400, Monte Vera, Pcia. Santa Fe (3014). República Argentina. Correo electrónico: herelder@fiq.unl.edu.ar

La resistencia a los tratamientos ectoparasitarios en medicina veterinaria, mediante productos sintéticos, que está generando la “mosca de los cuernos” (*Haematobia irritans*) y las “garrapatas” (*Rhipicephalus microplus*), en animales bovinos; y en apicultura, la “varroa” (*Varroa destructor*),

trae aparejado a las respectivas cadenas de valor pérdidas económicas significativas. En la ganadería bovina los productos utilizados son, en general, clorados, fosforados, carbamatos, piretroides, formamidinas, benzoilfenilureas, avermectinas y, muchos de ellos ya han comenzado a perder efectividad en los tratamientos. El ejemplo de la cipermetrina, uno de los más usados por su bajo costo en los baños sanitarios ganaderos por inmersión, es emblemático, y en los últimos años han comenzado a manejarse de dos formas: en algunos casos han triplicado la cantidad de baños por temporada y han duplicado la dosis de producto por baño. Esto trae como consecuencia dos impactos negativos: mayor costo de los tratamientos y una elevada contaminación ambiental. En el caso de la cadena apícola la situación es parecida, aunque son mucho menos los acaricidas sintéticos utilizados: amidinas, formamidinas, piretroides y difenil bromados, pero ocurre algo similar al caso anterior; con el aumento de las dosis surge inmediatamente el peligro de contaminación de los productos derivados de la colmena. En el año 1998, en apiarios de la provincia de Santa Fe, comenzamos con los primeros ensayos de aplicaciones de aceites esenciales crudos (AEC) provenientes de especies vegetales nativas, y desde 2004 se aplican en ganadería bovina. Los AEC utilizados son: “aguaribay” (*Schinus molle* L. –Anacardiaceae–), “lipia” (*Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britton & Wilson –Verbenaceae–) y “carqueja” (*Baccharis articulata* (Lam.) Pers. –Asteraceae–), todas cultivadas en forma intensiva en el Centro de Extensión y Capacitación en Plantas Aromáticas y Medicinales en Monte Vera, Santa Fe y los ensayos se realizan en el Centro Operativo Experimental “Tito L. Coppa”, Las Gamas, Vera, Pcia. Santa Fe. La extracción de los AEC se realizó por arrastre con vapor de agua. Las experiencias y los ensayos llevados a cabo se resumen en los resultados que se expresan en la tabla 1, y dan una idea de la potencialidad de los AEC en el control de ectoparásitos. Para el control de la “mosca” de los cuernos (*Haematobia irritans*), se da como ejemplo una de las experiencias que se llevó a cabo para determinar la eficiencia de la solución oleosa del AEC de aguaribay al 5 %. Se trabajó con un total de 48 vacas adultas sin cría al pie, de razas Brangus y Bradford. La observación preliminar permitió estimar que había más de 200 moscas posadas sobre el lomo del animal y otras tantas volando

Tabla 1.-

Animales	0 h	8 h	24 h	48 h	96 h
Tratados	200	20	45	60	100
Testigos	200	200	200	200	200

a su alrededor. Se tomaron 2 lotes de animales A y B; Lote A: 24 vacas para ser tratadas mediante aplicación del AEC de “aguaribay”, y Lote B: 24 vacas que quedaron como testigos. Los animales para tratar fueron marcados con pintura de esmalte sintético blanco en el lomo o la grupa para su posterior identificación; los restantes se dejaron sin marcar. Se aplicó sobre el lomo de cada animal tratado, 40 ml de una solución oleosa de AEC de “aguaribay” al 5 % peso/peso, utilizando una jeringa de 100 ml con dosificador automático. Inmediatamente después de la aplicación del producto los dos lotes (tratados y testigos), se dejaron en corrales diferentes, separados entre 25 y 30 metros entre sí. Las observaciones se efectuaron luego de la aplicación del producto: 0, 8, 24, 48 y 96 horas. Para determinar la eficiencia sobre el control de las garrapatas se realizaron ensayos *in vitro*, probando con emulsiones de diferentes aceites esenciales y tomando como testigo la concentración de

cipermetrina permitida para los baños sanitarios (Tabla 2). Para los ensayos del control de “varroas”, presentamos un resumen representativo de los ensayos realizados a lo largo de los años. Se trabajaron en total sobre 40 colmenas, divididas en grupos de 10. El método de aplicación fue el de la tira de cartón de 3 mm (espesor) x 20 mm (ancho) x 200 mm (largo), embebida con el producto respectivo, 10 con AEC de “aguaribay”; 10 con AEC de “lipia”, 10 con “amitraz” y 10 blanco (sin producto). El conteo de las “varroas” se realizó por el método del frasco con detergente, que permite determinar cuántos ácaros vivos quedan adheridos al cuerpo de las abejas. Se tomó el promedio porcentual de infestación de las “varroas” sobre las 10 colmenas por producto. Los AEC se aplicaron en soluciones oleosas. Con # se marca cuando se aplicó el producto (Tabla 3). La composición de los aceites esenciales crudos utilizados para los ensayos se determinaron por

Tabla 2.-

Emulsión de AEC	Concentración (% en peso)	Tiempo (min)	Resultados
Aguaribay	25	24	50 % mort.
		33	100 % mort.
	50	32	100 % mort.
		17	100 % mort.
Lipia	25	16	100 % mort.
		16	50 % mort.
	50	22	100 % mort.
Carqueja	75	25	100 % mort.
		25	0 % mort.
	50	60	0 % mort.
Cipermetrina	75	60	0 % mort.
		28	50 % mort.
	0,10	60	0 % mort. Poca vitalidad

Tabla 3.-

Fecha	Amitraz	Aguaribay	Lipia	Blanco
		Porcentaje de infestación		
1-12-2010 #	--	--	--	--
2-12-2010	1,3	1,8	1,5	3,1
9-12-2010	1,1	1,5	1,0	2,8
16-12-2010	1,2	1,8 #	1,1 #	2,3
23-12-2010	0,9	1,2	0,8	2,6
30-12-2010	0,7	1,0	1,0	3,0
7-1-2011	0,8 #	0,9 #	0,6 #	3,3
14-1-2011	0,8	1,3	1,1	3,6
21-1-2011	1,3	1,5	1,0	1,9
28-1-2011	1,6	2,2 #	1,7 #	2,2
5-2-2011	0,4	1,2	0,5	3,4
12-2-2011	1,0	1,6	1,3	4,1

Fecha de aplicación. Sintético I: Amitraz : N,N-bis(2,4-xililiminometil) metilamina, C₁₉H₂₃N₃, PM: 293.4.

Tabla 4.- Composición química del AEC de “aguaribay” (*Schinus molle* L.)

Compuesto	Porcentaje
<i>alfa</i> -pineno	3,2
<i>beta</i> -pineno	4,0
sabineno	41,9
mirreno	2,7
limoneno	2,0
<i>gamma</i> -terpineno	1,8
terpinen-4-ol	7,1
e-cariofileno	2,8
germacreno D	4,2
biciclogermacreno	4,5
<i>gamma</i> -cadineno	2,2
<i>delta</i> -cadineno	1,8
espatulenol	2,2
<i>alfa</i> -muurolol	2,1

Tabla 5.- Composición química del AEC de “lipia” (*Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown)

Compuesto	Porcentaje
mirreno	0,3
<i>cis-beta</i> -ocimeno	0,1
limoneno	4,3
<i>trans-beta</i> -ocimeno	0,9
linalol	0,2
<i>cis</i> -óxido de limoneno	0,1
<i>cis</i> -dihidrocarvona	17,3
<i>trans</i> -dihidrocarvona	57,8
dihidrocarveol (isómero n.i.)	0,5
carvona	0,2
dihidrocarveol acetato (isómero n.i.)	0,5
<i>beta</i> -elemeno	0,8
<i>beta</i> -cariofileno	1,0
<i>beta</i> -farneseno	1,0
<i>alfa</i> -humuleno	0,2
<i>allo</i> -aromadendreno	0,1
germacreno D	4,6
<i>alfa</i> -muuroleno	0,4
bicicloermacreno	0,1
germacreno D-4-ol	2,4
<i>tau</i> -muurolol	0,4
Compuestos menores a 0,1 % (n.i.)	6,1

Tabla 6.- Composición química del AEC de carqueja (*Baccharis articulata* (Lam.) Pers.)

Compuesto	Porcentaje
<i>alfa</i> -pineno	2,9
sabineno	0,6
mirceno	6,1
<i>beta</i> -pineno	26,7
limoneno	2,6
<i>beta</i> -felandreno	0,8
<i>o</i> -cimeno	1,5
<i>beta</i> -cariofileno	11,1
germacreno D	8,6
viridifloreo	1,3
biciclogermacreno	9,4
<i>gamma</i> -cadineno	1,1
<i>delta</i> -cadineno	2,8
espatulenol	8,1
óxido de cariofileno	4,4
ledol	2,3
<i>tau</i> -cadinol + <i>epi-alfa</i> -muurolol	3,6
<i>alfa</i> -cadinol	1,7
Compuestos menores al 0,1% (n. i.)	4,7

CG-EM y se muestran en la tablas 4, 5 y 6. La conclusión sobre la base de los resultados de las experiencias realizadas, es que se pueden utilizar los AEC como productos alternativos en el control de ectoparásitos; de esta manera se reduce la contaminación ambiental, la resistencia de los parásitos es nula y se mejora la huella de carbono de nuestros productos alimenticios acordes con las exigencias internacionales para exportación.

Agradecimientos: Mg. Ing. Química María Silvia Guala, Dr. Veterinario Matías Lapissonde, Ing. Químico Gustavo Pérez, Dr. Eduardo Dellacassa, Dr. Arnaldo L. Bandoni, Dra. Catalina van Baren y la Asociación Cooperativa Centro Operativo "Tito L. Coppa".

Trabajos Presentados

AVANCES EN LA MULTIPLICACIÓN *IN VITRO* DE *LIPPIA INTEGRIFOLIA* (GRISEB.) HIERON. ("INCAYUYO"). Jéssica Iannicelli^{1*}, Lucía González Roca¹, Miguel A. Elechosa² y Alejandro Escandón³. ¹Instituto de Floricultura, CNIA, CIRN, INTA. De los Reseros y Nicolás Repetto s/n.º (1686) Hurlingham, Pcia. de Buenos Aires, Argentina. jiannicelli@cnia.inta.gov.ar; mpdelatorre@cnia.inta.gov.ar. ²Instituto de Recursos Biológicos, CNIA, CIRN, INTA melechosa@cnia.inta.gov.ar. ³Instituto de Genética Ewald A. Favret, CNIA, CICVyA, INTA-Castelar, El Ñandú y Aristizabal s/n.º (1686) Hurlingham. *Autor a quien dirigir la correspondencia: jiannicelli@cnia.inta.gov.ar

En los últimos años el consumo de hierbas medicinales y aromáticas nativas ha devenido cada vez más popular. Dado que la mayoría de estos materiales se cosechan de manera extractiva, trae aparejado la pérdida en su diversidad genética y la destrucción de su hábitat. Con el objetivo de propagar genotipos seleccionados a partir de su producción de aceites esenciales de *Lippia integrifolia* (Verbenaceae) ("incayuyo"), se intentó optimizar la respuesta *in vitro* de esta especie frente a diferentes concentraciones de BAP sobre la base de los resultados previamente obtenidos (Iannicelli y col., 2011). Como explantos se utilizaron segmentos nodales obtenidos de *vitroplantas* cultivadas en medio MS libre de hormonas. Los explantos se transfirieron al

mismo medio suplementado con 2,2; 3,3 y 4,4 μM de BAP, con un n de 15 explantos por tratamiento; el ensayo se repitió 2 veces. Las condiciones de cultivo fueron: temperatura: 24 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 h y 4 500 lux. Al cabo de 2 subcultivos (40 días de cultivo) los brotes regenerados fueron transferidos a un medio MS 0,5X para su enraizamiento, y una vez cumplido este paso, se transplantaron a macetas de 10 cm de diámetro que contenían sustrato artificial (GrowingMix®) y cultivadas en cámara húmeda, bajo condiciones de invernáculo, para su aclimatación. Excepto en los controles, se observaron multibrotaciones en todos los tratamientos probados, aunque no se detectaron diferencias significativas entre sí, por lo que se optó por utilizar el de menor concentración, que mostró una tasa de multiplicación promedio de 14 brotes por explanto luego del segundo subcultivo. Los brotes obtenidos de este tratamiento fueron aislados, y se obtuvo el 80 % de eficiencia tanto en el enraizamiento y como en la aclimatación (Figura 1). En relación con los resultados obtenidos previamente en esta especie, donde a mayores niveles de regulador de crecimiento y tiempo de cultivo se obtuvo mejor tasa de multiplicación, estos resultados muestran que fue posible optimizar el protocolo de propagación *in vitro* a partir de la utilización de menor concentración de regulador de crecimiento (BAP) y con menor tiempo de cultivo, además fue posible lograr mejor porcentaje de enraizamiento, con lo cual ya se podría avanzar en la aplicación de técnicas de mutagénesis *in vitro* (por ejemplo: poliploidización). Asimismo,

y a partir de que bajo las condiciones probadas se generaron brotes de *novo* a partir de una masa callosa, indicaría que el protocolo desarrollado sería adecuado para la búsqueda de variabilidad *in vitro*.

Referencias bibliográficas

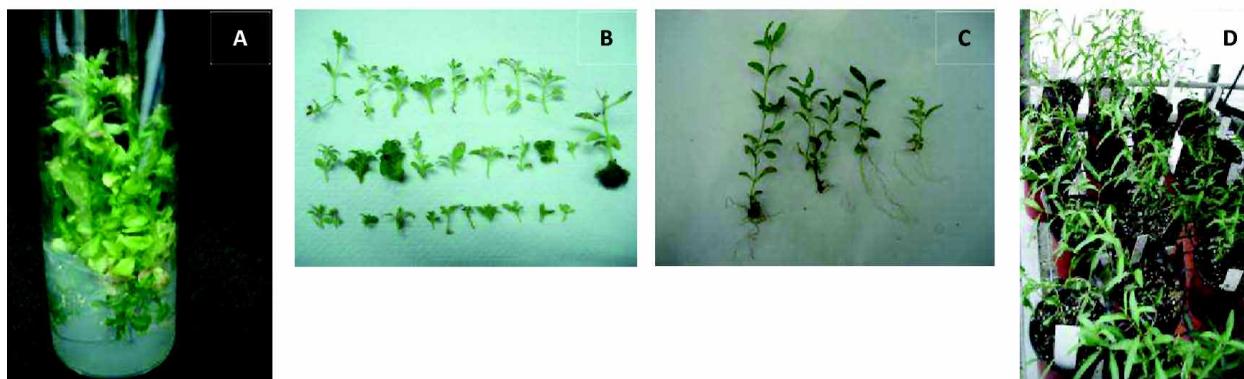
Iannicelli, J. y col. (2011). *VIII Simposio Nacional de Biotecnología REDBIO* Argentina, CABA, Argentina.

DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE N, P, K EN LA BIOMASA AÉREA DE *ACHYROCLINE FLACCIDA* (WEINM.).

Maricel Bálsamo* y Bárbara Iwasita. EEA INTA Cerro azul. Misiones. Ruta Nac. 14 km 1085. *Autor a quien dirigir la correspondencia: marisel@cerro.inta.gov.ar

Achyrocline flaccida (Weinm.) (Asteraceae), conocida vulgarmente como “marcela” es una importante hierba aromática medicinal, nativa de Uruguay, sur de Brasil, Argentina y Paraguay. Por sus propiedades farmacológicas está incluida en la 7ª edición de la Farmacopea Argentina. Sus inflorescencias se emplean como “estomacales”, “digestivas” y “antiespasmódicas” (Davies, 2004). Mediante estudios se constató su acción en la reversión o disminución de lesiones cerebrales (Arredondo y col., 2004). La “marcela”, es explotada de forma totalmente extractiva, y se desconocen iniciativas de cultivo racional. Existen pocas informaciones de los aspectos nutricionales de plantas nativas y de su desarrollo en ambientes cultivados. Una de las herramientas utilizadas en el balance de las fertilizaciones es la marcha de absorción de nutrientes, expresada bajo las formas de curvas en función de la edad de la planta

Figura 1.- Multiplicación *in vitro* de *Lippia integrifolia*



A: tratamiento 2,2 μM ; B: brotes aislados de 2,2 μM ; C: enraizamiento de los brotes aislados; D: plantas aclimatadas de *L. integrifolia*.

(Nunes y col., 1981). En este contexto, este trabajo tiene como objetivo determinar la exportación de tres macronutrientes (N, P, K) por el cultivo *A. flaccida*. El ensayo fue realizado en el sector plantas medicinales de la EEA INTA Cerro Azul, Misiones, en un suelo pedregoso poco desarrollado. El diseño experimental utilizado fue en bloques al azar con cuatro repeticiones, los tratamientos se realizaron en las épocas de cosecha de las plantas (20-120-180 días después del trasplante). Se cosecharon las partes aéreas de dos plantas por repetición. La determinación de la concentración de macronutrientes fue realizada en los extractos obtenidos por digestión nítrico-perclórica (fósforo, potasio) por fotometría de emisión de llama. El nitrógeno fue cuantificado por el método Kjeldahl. Cuantitativamente, la secuencia de los nutrientes extraídos por la especie fue: N > K > P. El período de mayor exigencia de nutrientes ocurrió alrededor de los 120 días después del trasplante. Por lo tanto, es muy importante considerar esta etapa para la definición de un programa de fertilización de este cultivo.

Referencias bibliográficas

- Davies, P. (2004). "Estudios en domesticación y cultivo de especies medicinales aromáticas nativas". *Serie FPTAINIA*, N° 11. 229 p.
- Arredondo, F.; Blasina, F.; Echeverry, C.; Morquio, A.; Ferreira, M.; Abín, J.A.; Lafón, L.; Dajas, F. (2004). *Journal of Ethnopharmacology* 91: 13-20.
- Nunes, M.R.; Velloso, A.C.S.; Leal, J.R. (1981). *Pesq. Agropec. Bras.* 16(2): 171.

AJUSTE DE LA TÉCNICA DE MICROSATÉLITES ANCLADOS (ISSRSISSRS) EN *LIPPIA INTEGRIFOLIA*. Jéssica Iannicelli^{1*}, Mariana Pérez de la Torre¹, Miguel A. Elechosa² y Alejandro Escandón³. ¹Instituto de Floricultura, CNIA, CIRN, INTA. De los Reseros y Nicolás Repetto s/n.° (1686) Hurlingham, Pcia. de Buenos Aires, Argentina. jiannicelli@cnia.inta.gov.ar; mpdelatorre@cnia.inta.gov.ar. ²Instituto de Recursos Biológicos, CNIA, CIRN, INTA. melechosa@cnia.inta.gov.ar. ³Instituto de Genética Ewald A. Favret, CNIA, CICVyA, INTA-Castelar, El Ñandú y Aristizabal s/n.° (1686) Hurlingham. aescandon@cnia.inta.gov.ar. *Autor a quien dirigir la correspondencia: jiannicelli@cnia.inta.gov.ar

Los marcadores moleculares son una poderosa herramienta para el estudio de la diversidad genética de poblaciones naturales y como complemento de los métodos morfométricos para la determinación

de la distinguibilidad, uniformidad y estabilidad de las nuevas variedades y para el control de las colecciones de referencia. El objetivo de este trabajo fue ajustar la técnica de ISSR en *Lippia integrifolia* (Griseb.) Hieron. (Verbenaceae) para el estudio de sus poblaciones naturales. Se extrajo ADN a partir de hojas jóvenes mediante un método CTAB modificado (Pérez de la Torre y col., 2010). La concentración de ADN extraído se calculó por comparación sobre el mismo gel (agarosa 0,8 % y 0,01 % de bromuro de etidio), con cantidades conocidas del marcador de peso molecular λ /HindIII. Para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se ajustaron las temperaturas de hibridación de 6 iniciadores ISSR (Tabla 1). Las condiciones generales de reacción fueron: 30 ng de ADN molde, 2,5 μ l de buffer de reacción 10X (500 mM KCl; 100 mM Tris-HCl, pH 9,0 a 25 °C; 1 % Triton® X-100); 3 mM MgCl₂; 0,2 mM de dNTP's; 0,8 μ M de iniciadores y 0,5 U de Taq polimerasa (Inbio-Highway); volumen final 25 μ l, en termociclador BioRad (MyCycler). Las condiciones de ciclado fueron: (A) desnaturalización inicial de 10 min a 94 °C, (B) 40 ciclos de: 40 seg a 94 °C, 45 seg a la temperatura de interés para cada iniciador y (C) extensión final por 10 min a 72 °C. El gradiente de temperatura de las reacciones (para cada uno de los iniciadores) se llevó a cabo usando como referencia la temperatura de hibridación teórica (Ta) de los iniciadores (Tm-4 °C). Se probaron 6 temperaturas decrecientes de a 1 °C a partir de Ta para obtener finalmente la temperatura de uso (Tu). Una vez obtenida la temperatura óptima de cada iniciador, se procedió a ajustar la concentración de MgCl₂ para los 6 iniciadores, para lo cual se varió la concentración de MgCl₂ entre 1,0 y 3,0 mM con una variación de 0,5 mM en cada punto del gradiente. Los productos de PCR se corrieron en geles de agarosa al 2 % en TAE 1X, teñidos en bromuro de etidio (0,05 %) (Figura 1). Los resultados obtenidos

Figura 1-. Muestra a manera de ejemplo

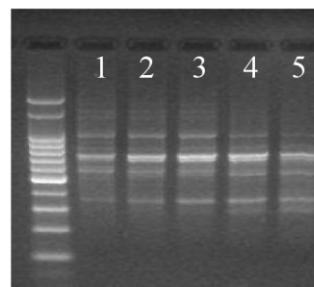


Tabla 1- Temperaturas y concentraciones de $MgCl_2$ utilizadas en los iniciadores probados

Nombre	Secuencia	Tm (°C)	Ta (°C)	Tu (°C)	MgCl ₂ (mM)
3' CAC	(CAC)5GT	62	58	57	1,5
3' CAG	(CAG)5AT	59	55	55	2,5
5' CA	CCCGGATCC(CA)9	71	67	57	1,0
5' CT	CCCGGATCC(CT)9	71	67	67	2,5
5' GT	CCCGGATCC(GT)9	71	67	67	2,5
5' GA	CCCGGATCC(GA)9	71	67	67	2,5

se muestran en la tabla 1. Están en progreso las condiciones de PCR para 7 iniciadores más. Productos de amplificación obtenidos con el iniciador 5'CT en concentraciones crecientes de $MgCl_2$ (mM) a 67 °C. Calle 1: 3,0 (mM); calle 2: 2,5 (mM); calle 3: 2,0 (mM); calle 4: 1,5 (mM); calle 5: 1,0 (mM).

Referencias bibliográficas

Pérez de la Torre, M. y col. (2010). *Revista de la Facultad de Agronomía*, La Plata, 109: 23-30.

EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA REPRODUCCIÓN ASEJUAL DE "PEPERINA" (*MINTHOSHACHIS MOLLIS* GRISEB.) EN EL INTA EEA, SALTA. ARGENTINA. Simón López*, Julio Mamaní y Gloria E. Payo. Estación Experimental Agropecuaria Salta del INTA, Ruta Nacional 68, km 172 (4403) Cerrillos, Salta, Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: simonlopez@correo.inta.gov.ar

La "peperina" es un arbusto de la familia de las Lamiaceae que se distribuye naturalmente en el centro y noroeste de la Argentina (Catamarca, Córdoba, Jujuy, Salta, Santiago del Estero, San Luis y Tucumán). Crece desde los 500 a los 3.500 m.s.n.m, en suelos pedregosos y en laderas generalmente protegidas por especies arbóreas. En el marco del PNHFA-064641 "Desarrollo de materiales base para la introducción al cultivo de quimiotipos seleccionados de especies aromáticas nativas" se introdujo el Jardín de la EEA Salta, material colectado de poblaciones naturales de Tucumán, Córdoba y San Luis para su adaptación, reproducción y domesticación. El objetivo de este trabajo fue evaluar la interacción de factores que inciden en la reproducción asexual de "peperina" bajo cubierta. Se realizó un ensayo DCA con 2 repeticiones, con $n = 10$ y arreglo factorial de $3 \times 2 \times 2 \times 2$, en bandejas de aluminio.

Los factores fueron: Tratamiento IBA (0,500 y 1000 ppm), sustrato (perlita, turba), fertilizante foliar (0,1 %) y estacas (apical con ápice truncado, subapicales) con longitudes de 5 a 8 cm, y desinfección con solución de hipoclorito de sodio al 0,05 %. El trasplante se realizó a los 30 días de la siembra en bolsines plásticos. Se analizó el porcentaje de enraizamiento y la estructura radicular (0-sin reacción, 1-con callo radicular, 2-escasa raíz, 3-buena raíz, 4-abundante raíz) mediante ANOVA y comparación múltiple de medias (Tukey al 5 %). Durante el proceso no hubo ataque de plagas ni enfermedades y tan solo el 1 % de las estacas feneció. A los 25 días del trasplante, el 99,8 % de los plantines se mantuvieron vivos en excelentes condiciones y, a la fecha, continúan su desarrollo. En el análisis de la variancia de porcentaje de enraizamiento solo hubo respuesta a la interacción tratamiento x estaca ($Pr > F = 1,54$). En la comparación de estacas hubo diferencias a la dosis 500 ppm. Las apicales enraizaron en un 100 % y las subapicales, en un 95 %. A la dosis de 1000 ppm ambas enraizaron en un 100 %. No hubo diferencias significativas entre tratamientos de estacas apicales. A las dosis de 1000 y 500 ppm enraizaron en un 100 %, mientras que a la dosis 0 en un 98 %. Para las estacas subapicales hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($Pr > F = 3,46$). A las dosis de 0 y 1000 ppm enraizaron en un 100 % y a la dosis 500 ppm, en un 95 %. En el análisis de la variancia de estructura radicular solo hubo respuesta a la interacción de sustrato x estaca ($Pr > F = 1,16$) y de sustrato x tratamiento ($Pr > F = 0,19$). En la comparación de estacas hubo diferencias tanto para perlita como para turba. Las estacas apicales de perlita con valor 4 difirieron de las subapicales con valor 3. Las estacas apicales de turba con valor 3 difirieron de las subapicales con valor 2. En la comparación de sustratos hubo diferencias significativas tanto para las estacas

apicales ($Pr > F = 2,55$) como para las subapicales ($Pr > F = 0,01$). En las apicales, perlita con valor 4 difirió de turba con valor 3. En las subapicales, perlita con valor 3 difirió de turba con valor 2. En perlita, la dosis 1000 ppm con valor 4 difirió de la dosis = 0 con valor 3 pero no de la dosis 500 ppm con valor 3,49. Hubo diferencias altamente significativas entre tratamientos para turba. Las dosis 1000 y 500 ppm con valor 3 difirieron significativamente de la dosis 0 con valor 2. Hubo diferencias altamente significativas entre sustratos para la dosis 0. Perlita con valor 3 difirió de turba con valor 2. Para la dosis 500 ppm no hubo diferencias entre los sustratos que presentaron valor 3. Para la dosis 1000 ppm hubo diferencias significativas entre sustratos. Perlita con valor 4 difirió significativamente de turba con valor 3. El factor fertilización no interactuó ni influyó en las variables analizadas. El mayor porcentaje de enraizamiento y la mejor estructura radicular se obtuvo en estacas apicales y sustrato perlita. Las estacas subapicales en sustrato perlita obtuvieron mayor porcentaje de enraizamiento por acción de las dosis 1000 ppm. Se debe repetir la experiencia del ensayo en ambiente natural, con material proveniente de plantas adaptadas y conservadas en el mismo ambiente y utilización de otros sustratos con el fin de poder establecer un protocolo de reproducción para la especie y generar una tecnología de fácil adopción por parte de pequeños y medianos productores de la región norteña.

ORÉGANOS NATIVOS (*LIPPIA* Y *ALOYSIA* –VERBENACEAE–) Y ORÉGANOS COMERCIALIZADOS (*ORIGANUM* SPP –LAMIACEAE–) EN ARGENTINA. ASPECTOS IMPORTANTES PARA EL CONTROL DE CALIDAD. Beatriz G. Varela*, Graciela B. Bassols, Karina A. Borri, Alberto A. Gurni y Marcelo L. Wagner. Cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (1113) Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: bgvarela@ffyb.uba.ar

Bajo el nombre de “orégano” se conocen unas 60 especies de varias familias botánicas. En la Argentina, *Lippia* y *Aloysia* son dos géneros de Verbenaceae con especies nativas llamadas orégano, entre otros nombres. El orégano comercial proviene del género *Origanum* (Lamiaceae), cuyas hojas y sumidades floridas se usan principalmente

como condimento. Originario del Mediterráneo es, sin embargo, un cultivo importante en la Argentina, donde comprende varias especies, subespecies e híbridos. Tanto las nativas como las cultivadas son plantas muy aromáticas debido a sus aceites esenciales. En el Código Alimentario Argentino (CAA), se hace referencia al género *Origanum*, y se permite hasta un 5 % de material extraño. El objetivo del trabajo fue comprobar la pureza de las muestras comerciales de orégano y detectar si las especies nativas se usan como sustituto de las cultivadas. Se analizaron ejemplares de herbario de oréganos nativos y ocho marcas de orégano comercializadas en la Ciudad de Buenos Aires. De las últimas, se tomaron muestras representativas, se separaron los componentes bajo lupa y se calcularon sus porcentajes. Además, se realizaron disociados leves de los componentes separados y de las hojas de los ejemplares de herbario, y se observaron al microscopio óptico. Los elementos separados y los disociados obtenidos fueron fotografiados digitalmente. Las muestras comerciales contenían hojas, brácteas, flores, tallos y elementos ajenos al orégano. El material extraño consistió en fragmentos irregulares, amarillo-verdosos en cuatro marcas, y hojas fragmentadas, coriáceas y discolores en dos marcas. La microscopía reveló, a) para el orégano comercial: estomas diacíticos, pelos eglandulares 1-pluricelulares, pelos glandulares peltados y capitados; b) para los fragmentos amarillentos: células alargadas tangencialmente, células con aleurona y pelos eglandulares 1-celulares; c) para las hojas coriáceas: escamas pluricelulares y esclereidas filiformes; d) para los oréganos nativos: pelos eglandulares 1-celulares cistolíticos y no cistolíticos, y pelos glandulares de distintos tipos. Los trozos amarillentos correspondieron a salvado de trigo y las hojas coriáceas a olivo. Los porcentajes de tallos, de salvado y de olivo fueron superiores a los permitidos por el CAA, y altos con respecto a los elementos genuinos. El salvado y el olivo se consideran adulterantes de las muestras analizadas; mientras que en los oréganos nativos no se hallaron en las muestras. Los datos obtenidos indican que: a) las especies nativas no se usan para sustituir los oréganos comerciales; b) hay una marcada disminución de las partes usadas debido al contenido de elementos ajenos, lo cual afecta negativamente la calidad del producto comercializado.

CARACTERIZACIÓN DE CAROTENOIDES PRESENTES EN VARIEDADES DEL GÉNERO *CAPSICUM* DE LA REGIÓN DE LOS VALLES CALCHAQUÍES. Victoria Wierna Sánchez Iturbe^{1*}, Mónica A. Nazareno² y Norberto A. Bonini¹. ¹INIQUI-Universidad Nacional de Salta, Salta (4400) Argentina. ²Instituto de Ciencias Químicas, Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad Nacional de Santiago del Estero, Santiago del Estero (4200), Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: victoriawierna@gmail.com.

La región de los valles Calchaquíes se ha caracterizado por la producción de distintas especies de aromáticas de fruto. En particular, el pimiento para pimentón (*Capsicum annuum* L. –Solanaceae–) ha sido importante para el desarrollo de su economía regional. Sin embargo, debido a entrecruzamientos, y a adaptaciones a las condiciones climáticas locales, se desarrollaron cultivares que producen frutos con propiedades variables, hecho que dificulta la obtención de un producto con características de color y aroma uniformes. En el momento actual la estación experimental Encalilla de INTA-Tucumán está desarrollando variedades adaptadas a la región y con características adecuadas para su comercialización. Entre ellas, “largo de encalilla” es una variedad que por sus propiedades merece una caracterización de su perfil de carotenoides. *Capsicum annuum* se caracteriza por la presencia, en sus frutos maduros, de una gran variedad de carotenoides que van desde carotenos apolares a xantófilas monohidroxiladas, dihidroxiladas y carbonílicas altamente polares (Collera-Zúñiga y col., 2005). Estas xantofilas se encuentran bajo su forma esterificada. Siguiendo la metodología propuesta por Rodríguez-Amaya y Kimura (1999), Rodríguez-Amaya (2002), se realizó la puesta a punto de una técnica para la extracción, saponificación y concentración de los carotenoides presentes en la variedad “largo de encalilla”, a fin de obtener estándares para la posterior cuantificación de los principales carotenoides. Mediante cromatografía de columna abierta (CCA), empleando como adsorbente MgO-Hyflosuperpel/1:1 (activado 2 h a 110 °C), se realizó la separación de fracciones que contienen los principales carotenoides presentes en el fruto. Las diferentes fracciones se eluyeron con mezclas de

hexano que contenía cantidades crecientes de éter etílico, acetona y metanol. Por cromatografía en placa delgada (TLC) de silicagel se realizó un examen preliminar para determinar el tipo y la cantidad de pigmentos presentes en cada una de las fracciones. Teniendo en cuenta que los máximos de absorción y la estructura fina de los espectros UV-Vis son característicos del cromóforo presente en la molécula Britton, (1995), su determinación constituyó una herramienta de diagnóstico preliminar para la identificación de carotenoides mayoritarios. Por HPLC sobre columna de sílice (Zorbax RX-Sil), usando como fase móvil un gradiente de hexano/acetato de etilo-isopropanol, se verificó la pureza de las xantófilas obtenidas mediante el empleo de detectores UV-Vis y de arreglo de diodos (DAD). Se emplearon como estándares β -caroteno (Merck) y β -apo-8-carotenal (Aldrich). Otros carotenoides, como luteína, β -criptoxantina y zeaxantina entre otros, se obtuvieron de sus fuentes naturales. La capsantina y capsorubina se obtuvieron de las propias muestras de *Capsicum* y se identificaron por sus espectros UV-Vis en distintos solventes y por sus reacciones específicas luego de purificación. La presencia de epóxidos en las fracciones se determinó por exposición de las cromatoplasmas a vapores de HCl. El desarrollo de un protocolo estandarizado de extracción y saponificación, combinado con el análisis por HPLC permitirá determinar la calidad de las variedades de pimiento para pimentón y cómo variables como maduración, temperatura, tiempo de secado, entre otras, afectan a la calidad de este producto de la región de los Valles Calchaquíes.

Referencias bibliográficas

- Collera-Zúñiga O.; García Jimenez F.; Meléndez Gordillo R. (2005). *Food Chemistry* 90: 109-114.
- Rodríguez-Amaya D.B.; Washington, D.C. (1999). *Int. Life Sciences Institute Press* ISBN 1-57881-072-8.
- Rodríguez-Amaya D.B.; Kimura M. (2002). *Food Chemistry* 78: 389-398.
- Britton G. (1995). *Carotenoids*. Volume 1 B: *Spectroscopy*, Chapter 2: 13-62.

ACEITES ESENCIALES DE DOS VERBENÁCEAS Y SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA. María I. Aguado*, Cristina Pérez Zamora, Carola Torres, Carlos Vonka, Alberto J. Bela y María B. Núñez. Universidad Nacional del

Chaco Austral, Departamento de Ciencias Básicas y Aplicadas, Carrera de Farmacia, Cte. Fernández 755 (3700) Sáenz Peña, Chaco, Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: marynes@uncaus.edu.ar

La infusión de las hojas de *Aloysia polystachya* (Griseb.) Mold. se emplea como tónico, digestivo y carminativo, para dolores de estómago, contra trastornos hepáticos y como sedativo. Diversos estudios refieren bioactividad del aceite esencial y de extractos hexánico y etanólico. El empleo de *Lippia turbinata* Griseb. está referido como antivenéreo, aromático, estomáquico, emenagogo, nervino, en dispepsia, oliguria, dismenorreas y para acelerar el parto. Hay investigadores que asocian a los extractos etanólicos con efectos depresores del sistema nervioso central, y otros que refieren actividad inhibitoria del aceite esencial frente a *Pseudomonas aeruginosa*. Los aceites esenciales de las plantas aromáticas en general han demostrado capacidad inhibitoria frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, que resultó en que las últimas eran más resistentes. En este trabajo se presentan datos experimentales acerca de la composición química y de la actividad antibacteriana de aceites esenciales de las dos Verbenáceas mencionadas. En el caso de *A. polystachya* la materia prima se recogió de plantas logradas por micropropagación de un ejemplar carente de tuyona, en tanto que la de *L. turbinata* se colectó de una única planta desarrollada en un jardín de la ciudad. La obtención de los aceites esenciales se realizó a partir de material vegetal oreado, mediante destilación por arrastre con vapor, con un dispositivo de diseño propio (a escala de laboratorio) y posterior separación del aceite esencial en un segundo equipo con trampa según Dean Stark (IVA). El rendimiento fue de alrededor del 1 % para ambas especies. En muestras diluidas en hexano (para obtener mejor resolución de los picos, evitando solapamientos) se investigó la composición química por GC-MS (estudio realizado en la Universidad Nacional de Córdoba, en el IMBIV). Los componentes mayoritarios en ambas especies fueron carvona, limoneno y cineol; cariofileno se encontró solo en *L. turbinata*. La actividad antibacteriana se determinó por el método de difusión en discos. Se utilizaron 8 cepas de *Staphylococcus*, 1 cepa de *Enterococcus*, 2 cepas de *Enterobacter*, 2 de *Pseudomonas* y 1 de cada una de las siguientes: *Morganella*, *Proteus*, *Escherichia* y *Klebsiella*

Ambos aceites esenciales mostraron actividad antibacteriana contra la mayor parte de las bacterias Gram positivas y Gram negativas ensayadas. Además, se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM) por el método de microdilución en caldo. Para la determinación de la CIM también se empleó el método de difusión en discos. En ambos casos se evaluó aceite puro y también 3 diluciones en dimetilsulfóxido de aceite puro. El aceite esencial de burrito resultó ser el más activo; fue bactericida para la mayoría de las cepas evaluadas. El aceite esencial de poleo, si bien no mostró actividad bactericida a las concentraciones ensayadas, tuvo actividad inhibitoria para la mayoría de las bacterias Gram positivas y Gram negativas: fue más efectivo contra el último grupo de bacterias. Las dos cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resultaron resistentes a ambos aceites esenciales. Tanto la composición química como el comportamiento antimicrobiano hallado se encuentran, con algunas diferencias, de acuerdo con lo descrito por otros autores, para aceites esenciales de estas especies.

GENERACIÓN DE QUIMIOTIPOS EN *LIPPIA ALBA* COMO RESPUESTA A LA PLASTICIDAD FENOTÍPICA EN CORRIENTES. Gabriela Ricciardi*, Ana María Torres, Armando I. Ricciardi y Eduardo Dellacassa. Laboratorio Dr. G. A. Fester, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste (3400) Corrientes, Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: gricciardi@exa.unne.edu.ar

Lippia alba (Mill.) N.E. Brown (Verbenaceae) pasó a constituir, en los últimos años, el modelo de un fenómeno bastante particular por la amplísima variabilidad en la composición química de su aceite esencial que puede estar relacionada con factores edafológicos, climáticos, genéticos, ambientales en general (Ricciardi y col., 2009). Esto determina que no se puede pensar en que el aceite de *L. alba* sea un aceite estable con una composición determinada que permita utilizar a la especie no solo como aromática, sino también como medicinal, desde el punto de vista de las múltiples aplicaciones vernáculas que de ella se hacen (Bassols y Gurni, 1996). Según recientes y variados trabajos realizados por diferentes grupos de investigación, es posible reconocer 7 quimiotipos de *L. alba*, en función de la presencia

de componentes mayoritarios y con predominancia del quimiotipo citral (neral-geranial)-linalol (con posibles modificaciones metabólicas de uno en otro), el quimiotipo tagetenonas (mircenona-ocimenonas) y otros, según la presencia de limoneno, piperitona, carvona, mirceno, terpineno, alcanfor o estragol (Dellacassa, 2010). En este trabajo se presentan los resultados obtenidos del estudio del aceite esencial proveniente de poblaciones de *L. alba* colectadas en Corrientes: Paso de la Patria (muestras I y II) y San Isidro (III) todas de primavera. Las muestras I y II provienen de dos poblaciones naturales separadas aproximadamente a un metro de distancia, a la misma distancia de la orilla del río, seleccionadas en función de las características organolépticas de las hojas frescas, sin ningún carácter morfológico distintivo. El análisis fitoquímico se realizó por GC-FID y GC-MS en columna polar (Carbowax) teniendo en cuenta los IRL de la serie homóloga de *n*-alcanos (C₉-C₂₆). Como resultado, la esencia I se caracteriza por un 41,5 % de β-mirceno, 5,6 % de mircenona, 10,1 % de neral y 16,4 % de geranial; la esencia II por 28,7 % de limoneno, 28,2 % de β-felandreno y 23,6 % de óxido de piperitenona. La esencia III, en cambio, se caracteriza por 18,2 % de mircenona, 17,8 % de 1,8-cineol, 16,6 % de β-mirceno, 6,5 % de *Z*-ocimenona y 4,7 % de *E*-ocimenona. En las tres esencias caracterizadas, se encuentra β-cariofileno en proporciones variables (4,5-10,1 %). Esta composición plantea un nuevo interrogante: el posible entrecruzamiento de quimiotipos, o la existencia de nuevos. La esencia I presenta a la vez, citral y β-mirceno y mircenona coincidente con tres quimiotipos identificados (Dellacassa, 2010): quimiotipos mirceno, citral y mircenona. A su vez, la esencia II se corresponde al quimiotipo limoneno y piperitenona, y la esencia III coincide con el quimiotipo mircenona, pero tiene una elevada proporción de cineol. Se han descartado modificaciones metabólicas por el estado vegetativo ya que todas las muestras fueron colectadas en primavera. Por otra parte, entre las muestras I y II, al estar ubicadas a muy poca distancia, no existen diferencias edafológicas, por lo cual es evidente que las diferencias fitoquímicas se deben plantear como posibles hibridaciones de la especie, aunque esto debería corroborarse con posteriores análisis con más muestras.

Referencias bibliográficas

Ricciardi, G.; Ciccio, J.F.; Ocampo, R.; Lorenzo, D.; Ricciardi,

A.; Bandoni, A.; Dellacassa, E. (2009). *Natural Product Communications* 4(6): 853-858.

Bassols, G.; Gurni, A. (1996). *Dominguezia* 13(1): 7-24.

Dellacassa, E. (ed.). (2010). *Normalización de Productos Naturales obtenidos de Especies de la Flora Aromática Latinoamericana*, CYTED-EdiPUCRS.

AJUSTE DE MULTIPLICACIÓN *IN VITRO* DE *LIPPIA JUNELLIANA* (MOLD.) TRONC. (SALVIALORA). Jéscica Iannicelli^{1*}, Lucía González Roca¹, Miguel A. Elechosa², Alejandro Escandón³. ¹Instituto de Floricultura, CNIA, CIRN, INTA-Castelar. De los Reseros y Nicolás Reppeto s/n.º (1686) Hurlingham, Pcia. de Buenos Aires, Argentina. ²Instituto de Recursos Biológicos, CNIA, CIRN, INTA-Castelar, Las Cabañas y Los Reseros s/n.º. melechosa@cnia.inta.gov.ar. ³Instituto de Genética Ewald A. Favret, CNIA, CICVyA, INTA-Castelar, El Ñandú y Aristizábal s/n.º (1686) Hurlingham. aescandon@cnia.inta.gov.ar. *Autor a quien dirigir la correspondencia: jiannicelli@cnia.inta.gov.ar

Lippia junelliana (Mold.) Tronc. (Verbenaceae) es una especie de amplia distribución en la Argentina. Estudios en las regiones centro y NO del país han informado gran variabilidad en la composición de sus aceites esenciales, efectos de repelencia contra *Culicidae*, antifúngicos y antivirales (Juárez y col., 2005). Con el objetivo de propagar *L. junelliana* ("salvialora") se estudió la repuesta *in vitro* de esta especie. Se utilizaron como explantos segmentos nodales obtenidos de *vitroplantas* cultivadas en medio MS libre de hormonas y, dados los resultados obtenidos para la multiplicación *in vitro* de *L. integrifolia* (Griseb.) Hieron. (Iannicelli y col. 2011), para *L. junelliana* se ensayó con 4,4 μM de BAP adicionado al medio base (MS); el "n" por ensayo fue 13. A partir de los resultados obtenidos, en un segundo ensayo, se probaron las siguientes concentraciones de BAP (μM): 4,4; 8,8 y 17,6, con un "n" de 13 por tratamiento. Se efectuaron 2 repeticiones en ambos experimentos y las condiciones de cultivo fueron: temperatura: 24 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 horas y 4 500 lux. Al cabo de 2 subcultivos (50 días de cultivo) los brotes regenerados fueron transferidos a medio MS para su enraizamiento, y luego se transplantaron a macetas de 10 cm de diámetro que contenían sustrato artificial (*GrowingMix*®) y cultivados en cámara húmeda, bajo condiciones de invernáculo, para su aclimatación. En el primer

experimento, a diferencia de los controles, el tratamiento 4,4 μM de BAP no produjo el desarrollo de raíces, pero solo produjo una tasa de multiplicación de 3 yemas/explanto. En la segunda instancia se produjeron multibrotaciones en todos los tratamientos sin la producción de raíces, a diferencia de los controles; 17,6 μM fue el que produjo una mayor proporción de explantos con esta respuesta. Asimismo, en este tratamiento se obtuvo la mayor tasa de multiplicación (13 brotes/explanto, promedio) al cabo de 2 subcultivos. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos 17,6 y 8,8 μM . Los brotes del mejor tratamiento fueron aislados, y se obtuvo el 90 % de enraizamiento y aclimatación (Figura 1).

Figura 1.- Multiplicación *in vitro* de *Lippia junelliana*



A, Tratamiento 17,6 μM . **B,** Brotes aislados de 17,6 μM . **C,** Enraizamiento de los brotes aislados. **D,** Plantas aclimatadas de *L. junelliana*.

A partir de este trabajo se ajustó un protocolo de propagación *in vitro* para esta especie, con una tasa de multiplicación que permitiría la aplicación de técnicas de mutagénesis *in vitro* (i.e.: poliploidización). Bajo las condiciones probadas se generaron brotes *de novo* a partir de una masa callosa, lo que indicaría que el protocolo desarrollado sería adecuado para la búsqueda de variabilidad *in vitro*.

Referencias bibliográficas

- Juárez, M.A. y col. (2005). *XXX Jornadas Argentinas de Botánica*. Rosario, Sta. Fe, Boletín SAB vol. 40, (Supl.), Fitoquímica: 112.
- Iannicelli, J. y col. (2011). *VIII Simp. Nac. Biotec.* REDBIO Argentina, CABA, Argentina.

CONTROL DE CALIDAD BOTÁNICO DE ASTERACEAE ANDINAS CONDIMENTICIAS QUE SE COMERCIALIZAN EN LA CIUDAD DE SAN SALVADOR DE JUJUY. Leila Ayelén S. Giménez y Nilda D. Vignale. Laboratorio de Botánica Sistemática y Etnobotánica, Cátedra de Botánica Sistemática y Fitogeografía, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, S. S. de Jujuy (4600) Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: ndvignale@yahoo.com.ar

Los diversos platos que integran la cocina andina tradicional incluyen entre sus ingredientes diversos condimentos, entre ellos, elementos integrantes de la fitodiversidad procedente de la prepuna y puna de Jujuy, que se han integrado al circuito de comercialización local. La familia botánica Asteraceae aporta varias especies al espectro de condimentos andinos disponibles mediante el uso de las hojas, que contribuyen con el otorgamiento del carácter de identidad a los alimentos regionales. La comercialización de los órganos foliares de *Aphyllocladus spartioides* Wedd., “tola blanca”; *Baccharis grisebachii* Hieron., “quinchamal”; *Mutisia friesiana* Cabrera, “chinchircoma”; *Parastrephia quadrangularis* (Wedd.) Cabrera, “tola”; *Senecio nutans* Sch. Bip., “chachacoma” y *Xenophyllum poposum* (Phil.) V.A. Funk, “pupusa” se realiza generalmente de modo informal. Se suelen presentar en bolsas de plástico pequeñas, listas para ser comercializadas, aunque también se encuentran disponibles en grandes bolsas abiertas de modo que el consumidor pueda adquirir la cantidad que desea. En ambos casos las denominaciones por las que se las identifica suelen estar escritas de modo artesanal, que evidencia en todo el proceso de comercialización ausencia de normativas tendientes a procurar calidad en los productos. Mediante la aplicación del método micrográfico se analizaron muestras de productos en los cuales, por su denominación, se presume que en su elaboración se emplearon hojas de las especies mencionadas, con el objetivo de conocer la calidad botánica del material que se encuentra a disposición del consumidor en la ciudad de S. S. de Jujuy. La primera etapa de todo control de calidad botánico la constituye el examen macroscópico mediante el cual se referencian detalles a simple vista acerca de la presentación del producto y de la existencia de materia extraña. Seguidamente se aplica la técnica de disociado

(disgregado) leve a todas las muestras analizadas, ya que se adecua a la naturaleza herbácea de los órganos foliares en cuestión. Consiste en el tratamiento de una pequeña porción del material con solución acuosa al 5 % de NaOH, durante 5 min, a ebullición y posterior observación al microscopio óptico. Las observaciones se realizaron en un microscopio trinocular Carl Zeiss Axiostar Plus, con cámara fotográfica digital Canon Powershot A640 para la toma de las fotomicrografías. De cada uno de los materiales disociados se realizaron diez preparados para su observación. En la medida de lo posible se analizaron materiales procedentes de diez muestras diferentes adquiridas en las instancias comerciales. La comparación entre las características observables al microscopio con los indicadores micrográficos, disponibles en la bibliografía, de las hojas de las especies objeto de estudio permitió concluir respecto de la calidad botánica de los materiales que están a la venta en mercados y ferias regionales y en algunas herboristerías o comercios naturistas. Todas las muestras analizadas contenían hojas de las especies indicadas en sus rótulos según su nombre vulgar, ya que se han detectado de modo cualitativo los caracteres micrográficos definidos como elementos para su valor diagnóstico, por lo que se estarían cumpliendo las condiciones de producto genuino desde el punto de vista botánico. En algunas se encontraron elementos anatómicos extraños en baja proporción, los que indican contaminación del material. El examen macroscópico de todas las muestras estudiadas indicó la presencia de elementos extraños, seguramente generados por la vigencia de prácticas de manufactura inadecuadas y por la ausencia del cumplimiento de normas básicas de higiene en el procesamiento de los materiales. La conjunción de los resultados observables otorga a estos productos su ineptitud para el consumo humano, situación que merece su atención con el propósito de generar la diagramación y puesta en práctica de acciones tendientes a otorgar calidad botánica a estos importantes productos, desde el punto de vista de la alimentación regional, disponibles por parte de la sociedad. Ello contribuiría a la conservación de los saberes tradicionales vinculados con la diversidad vegetal andina, representada en este caso por las especies de Astereaceae analizadas.

CONTROL DE CALIDAD BOTÁNICA DE PIMENTONES PRODUCIDOS Y/O COMERCIA-

LIZADOS EN LA QUEBRADA DE HUMAHUACA, JUJUY, ARGENTINA. Estela N. Flores^{1*}, Nilda D. Vignale¹ y Alberto A. Gurni². ¹Cátedra de Botánica Sistemática y Fitogeografía, Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Jujuy. San Salvador de Jujuy (4600), Argentina. ²Cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. *Autor a quien dirigir la correspondencia: estelanoemiflores@yahoo.com.ar

En la región de la quebrada de Humahuaca existen circuitos de comercialización no formales, que están determinados por mercados y ferias regionales por donde circulan una gran variedad de alimentos producidos y comercializados en la zona, como los derivados de materias primas de origen vegetal. En esta situación de informalidad el método micrográfico se presenta como una herramienta útil y fácil de aplicar en el control de calidad botánico de productos alimenticios de origen vegetal para garantizar su genuinidad. En estos productos la especie vegetal usada como materia prima ha sido fragmentada, trozada o pulverizada durante el proceso tecnológico, por lo cual su identificación taxonómica no se puede realizar por medio de los caracteres de morfología externa; en consecuencia, se recurre a los caracteres de morfología interna o anatómicos. El método micrográfico mediante la toma de fotomicrografías de los caracteres internos observados en el material en estudio, y luego su comparación con el patrón micrográfico establecido en la bibliografía puede verificar la calidad botánica del alimento de origen vegetal en cuestión. La región del noroeste argentino concentra la producción de pimiento de la Argentina; sus variedades y cultivares rojos son apreciados para la elaboración de pimentón, condimento muy usado en el arte culinario para colorear y saborizar diversos platos. El Código Alimentario Argentino, en su artículo 874 establece que el producto conocido como pimentón debe corresponder a variedades rojas y dulces de *Capsicum annuum* L. Se analizaron muestras de deshidratados que se elaboran y comercializan en la región de quebrada de Humahuaca, específicamente pimentón, para verificar su calidad botánica utilizando el método micrográfico. Se reconoció previamente el patrón micrográfico de frutos de la especie, establecido y disponible en la bibliografía. Sus caracteres diagnósticos se aplicaron en muestras de pimentón; se usó una muestra genuina como testigo adquirida

en San Salvador de Jujuy y otras, provenientes de mercados y ferias y de productores locales. La muestra testigo y la producida por una cooperativa local evidenciaron claramente los parámetros micrográficos de la especie, se verificó su calidad botánica, por lo cual se puede afirmar que la materia prima utilizada corresponde a *C. annuum*. El resto de las muestras, a pesar de que revelaban algunos elementos diagnóstico, mostraron la presencia de granos de almidón, carácter que no debe estar presente; además, la prueba del Lugol dio positiva, por lo cual no se garantiza su genuinidad y, por lo tanto, no se recomiendan para el consumo humano.

PARÁMETROS MICROGRÁFICOS FOLIARES DE OCHO ESPECIES DE LA FLORA AROMÁTICA ANDINA DE JUJUY, ARGENTINA: SU APLICACIÓN EN EL ANÁLISIS DE CALIDAD BOTÁNICA. Nilda D. Vignale^{1*} y Alberto A. Gurni². ¹Laboratorio de Botánica Sistemática y Etnobotánica, Cátedra de Botánica Sistemática y Fitogeografía, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, San Salvador de Jujuy (4600) Argentina. ²Cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina. aagurni@ffyb.uba.ar. *Autor a quien dirigir la correspondencia: ndvignale@yahoo.com.ar

De acuerdo con el Capítulo XVI del Código Alimentario Argentino (CAA) se denominan especias o condimentos de origen vegetal a las plantas o a sus partes que se utilizan con el propósito de aderezar, aliñar o mejorar el sabor de alimentos y bebidas, ya que tienen sustancias aromáticas, sápidas o excitantes. La flora andina de Jujuy comprende ocho especies cuyos órganos foliares se emplean para condimentar alimentos y saborizar bebidas típicas, prácticas componentes de la identidad cultural andina cuya persistencia obedece a reglas de transmisión generacional por vía oral. *Acantholippia salsoloides* Griseb., “rica-rica” (Verbenaceae) y *Clinopodium gilliesii* (Benth.) Kuntze, “muña muña” (Lamiaceae) otorgan al clásico mate un sabor particular; son también empleadas para la elaboración de licores, bebidas regionales de interés para los turistas. La “muña muña” también es aromatizante de sopas y de las bebidas elaboradas a base de leche, como la “leche piri” y leche hervida. *Aphyllocladus spartioides* Wedd.,

“pular” o “tola blanca”, *Baccharis grisebachii* Hieron., “quinchamal”, *Mutisia friesiana* Cabrera, “chinchircoma”, *Parastrephia lepidophylla* (Wedd.) Cabrera, “tola”, *Senecio nutans* Sch. Bip., “chachacoma” y *Xenophyllum poposum* (Phil.) V.A. Funk, “pupusa”, todas pertenecientes a la familia Asteraceae, se caracterizan porque sus hojas constituyen ingredientes de platos andinos elaborados con maíz como chilcán, tostado y ulpada. *S. nutans* también es usada como condimento de calapurca, guiso de “achacana” (*Neowerdermannia vorwerckii* Fric), majadillo, sopas y asado de carne de llama. La provisión de las hojas de estas especies se realiza ya sea por recolección directa del interesado en su hábitat (la puna jujeña) ubicada a partir de 2 000 m.s.n.m. o mediante su adquisición en puestos de mercados y ferias locales permanentes o ambulantes en diversas localidades de la quebrada de Humahuaca, y llega hasta la capital de la provincia. Su comercialización, al igual que todas las especies que integran la etnoflora andina (medicinales, rituales, entre otras) se realiza de modo artesanal, pero se encuentran ausentes los análisis de calidad a los que deben responder los productos elaborados con vegetales cuyo destino sea el uso humano. Con el propósito de generar futuras acciones encaminadas a posibilitar la permanencia de estos productos en el circuito de comercialización, en función de su importancia en la consolidación del patrimonio cultural andino representado por los saberes tradiciones que otorgan sustento al uso en alimentación, se analizan hojas procedentes de ejemplares de las especies en estudio coleccionadas en la puna jujeña, con la participación de los pobladores locales para asegurar cuáles son las plantas realmente empleadas mediante la aplicación de la técnica que provee el método micrográfico. Para el caso de órganos foliares se someten las hojas a la acción de una solución acuosa al 5 % de NaOH a ebullición por espacio de 5 minutos, para provocar la disolución de la laminita media. Este disociado o disgregado leve obtenido se lava hasta lograr que el líquido de lavado permanezca limpio, y a continuación se procede a su observación con el microscopio óptico. Mediante la aplicación de la técnica citada a las hojas –parte útil– de las especies de interés alimenticio, se proponen los caracteres micrográficos de valor diagnóstico cuya aplicación en muestras de productos localizados en mercados y ferias,

presumiblemente elaborados con estas especies, permitirá definir la autenticidad botánica del material, es decir, si en su composición está presente la especie cuyo rótulo indica. Los resultados indican que los caracteres diferenciales son aportados por el tejido epidérmico, particularmente por la variedad de tricomas, tanto tectores como glandulares, y en *Xenophyllum poposum* se incorporan los cuerpos resinosos. El control de calidad botánico propuesto se puede realizar en un laboratorio provisto de microscopio, elementos auxiliares de bajo costo y personal idóneo, en un tiempo breve.

RELACIÓN MACRO Y MICROSCÓPICA DE SIETE APIACEAS CONDIMENTICIAS. Judith Montenegro, Roberto Souto da Rosa, Romina Numata, María E. Marovic, Alberto A. Gurni y Graciela B. Bassols. Cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 4° Piso Buenos Aires (1113), Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: gbossols@ffyb.uba.ar

Algunos frutos de Apiaceae son utilizados como condimentos: *Pimpinella anisum* L. “anís verde”, *Coriandrum sativum* L. “coriandro”, *Cuminum cyminum* L. “comino”, *Carum carvi* L. “kummel”, *Foeniculum vulgare* Miller. “hinojo”, *Petroselinum crispum* (Miller.) A. W. Hill “perejil” y *Anethum graveolens* L. “eneldo”. Los objetivos de la investigación son generar una clave diacrítica con los caracteres microscópicos para ser utilizada en el control de calidad y comprobar su correlación con los caracteres macroscópicos. Se utilizaron muestras comerciales que se analizaron mediante disociado leve (NaOH 5 %, 5 min en ebullición), reducción a polvo (raspado con bisturí) y observación con lupa. Macroscópicamente, se diferencian por características de los mericarpios: presencia de alas (“eneldo”), forma esférica (“coriandro”), presencia de tricomas (“comino” –solo en costillas secundarias– y “anís verde” –en toda la superficie–), ausencia de tricomas y forma oblonga (“perejil” (2,5-4,1 mm); longitud de la cara comisural (“kummel” (1,2-1,4 mm) e “hinojo” (2-3 mm). Microscópicamente, por la presencia de células del mesocarpio reticuladas y cutícula estriada (“eneldo”), ausencia de estas células (“kummel”), mesocarpio con cristales (“perejil”), mesocarpio con capas de células dispuestas de forma perpendicular (“coriandro”), cutícula no estriada y mesocarpio con parénquima reticulado (“hinojo”),

presencia de tricomas unicelulares simples (“anís verde”) y presencia de tricomas pluricelulares multiseriados (“comino”). El análisis microscópico permitió crear una clave, que no guarda relación con la clave macroscópica. La aplicación de una u otra clave va a depender de la forma de presentación de las especies, enteras o en polvo. Además, la metodología empleada para analizar estas especies puede ser aplicada a cualquier material que presente características herbáceas o no lignificadas.

EL MODELO *ALOYSIA CITRIODORA*: ESTUDIO *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD ALEXITÉRICA DEL ACEITE ESENCIAL. Marcela Cáceres Wenzel*, Ana María Torres, Gabriela Ricciardi, Bárbara Ricciardi Verrastro, Armando I. Ricciardi y Eduardo Dellacassa. Laboratorio. Dr. G.A. Fester, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes (3400), Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: marcelacw@hotmail.com.

Aloysia citriodora Palau (Verbenaceae) (“cedrón”) es una especie aromática utilizada en medicina popular para el tratamiento de desórdenes digestivos, como antiinflamatorio, analgésico, antipirético, tónico, estimulante (Oliva y col., 2010), sedativo y anticonvulsivo (Oksay y col., 2005). El aceite esencial ha sido informado como antimicrobiano, antimicótico (Sartoratto y col., 2004), antitripanosómico (Rojas y col., 2010) y antioxidante (Stashenko y col., 2003). Además, la especie se ha informado como antídoto para tratar mordeduras de animales venenosos en forma de infusiones y cataplasmas (Manfred, 1969; Duke y col., 2009). Esta información etnobotánica tiene más de 400 años de uso avalado por la práctica y es sumamente importante si se tiene en cuenta que los accidentes ofídicos son un grave problema de salud pública en la Argentina, de los que son responsables del 80 % de *Bothrops diporus* “yarára chica” (Boletín Epidemiológico Periódico, 2009). En este trabajo se propone comprobar científicamente esta propiedad que le ha sido atribuida. Se estudió la composición química de la fracción volátil de poblaciones de *A. citriodora* colectada en Laguna Brava (LB) y San Luis del Palmar (SLP), Corrientes. Los resultados del análisis por GC-FID y GC-MS dieron resultados coherentes con los obtenidos por Ricciardi y colaboradores (2011) en lo que respecta

a los componentes mayoritarios, que verificó así la estabilidad y la homogeneidad de las poblaciones (Ricciardi y col., 2010). Para el estudio de la actividad alexitérica se utilizó un *pool* de veneno de *B. diporus* desecado al vacío. El *screening* por SDS-PAGE (Camargo, 2011) se realizó para aceites directos (ed) obtenidos por hidrodestilación de las partes aéreas, y aceites de aguas (ea) obtenidos por extracción con éter etílico de las aguas de arrastre. En paralelo, se evaluó la capacidad *in vitro* de los aceites para inhibir las acciones coagulantes (técnica del plasma recalcificado), hemolítica indirecta (difusión radial en placas de agar sangrefosfatidilcolina) y proteolítica (SDS-PAGE con caseína). Los resultados del *screening* indicaron que todas las muestras modificaron sustancialmente el perfil electroforético del veneno, borrando completamente las bandas de las fosfolipasas (18 KDa) y disminuyendo las demás. En las pruebas de inhibición de la actividad coagulante del veneno (relación 1:10 veneno: aceite), resultaron activos todos los aceites, mayoritariamente los de aguas: ea de SLP de otoño (92 %) y de primavera (56 %); ea de LB de otoño y primavera (58 %). Las pruebas de inhibición de la capacidad hemolítica *in vitro* se realizaron para los aceites de LB; fueron activos tanto ed como ea (20 % de inhibición). Con respecto a la inhibición de la proteólisis de la caseína por el veneno, tanto las esencias directas como las de aguas presentaron actividad frente a *B. diporus*. En conclusión, el aceite esencial de *A. citriodora* no solo es importante desde un punto de vista industrial por su alto contenido en citral (variable en los aceites estudiados entre el 25,7 y el 52 %), sino que además, la actividad alexitérica demostrada *in vitro*, avala el uso etnofarmacológico de esta Verbenácea como antiveneno. Lo expuesto sustenta la necesidad de continuar el trabajo de investigación en la búsqueda de determinar si la actividad alexitérica evaluada se debe a los aceites esenciales, o bien, a componentes activos presentes en sus fracciones.

Referencias bibliográficas

- Boletín Epidemiológico Periódico. (2009). Envenenamiento por animales ponzoñosos. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación Argentina.
- Camargo, F.; Torres, A.; Ricciardi, G.; Ricciardi, A.; Dellacassa, E. (2011). *BLACPMA* 10(5): 429-434.
- Duke, J.; Bogenschutz-Godwin, M.; Ottesen, A. (2009). *Duke's Handbook of Medicinal Plants of Latin America*.
- Manfred, L. (1969). *7 000 Recetas botánicas a base de 1 300 plantas medicinales americanas*.
- Oliva, M.; Beltramino, E.; Gallucci, N.; Casero, C.; Zygadlo, J.; Demo, M. (2010). *BLACPMA* 9: 29-37.
- Oskay, M.; Usame Tamer, A.; Ay, G.; Sari, D.; Aktas, K. (2005). *J. of Biol Sciences* 5: 620-622.
- Ricciardi, G.; Torres, A.; Bubenik, A.; Ricciardi, A.; Lorenzo, D.; Dellacassa, E. (2011). *Nat. Prod. Com.* 6: 1711-1714.
- Rojas, C.; Solis, H.; Palacios, O. (2010). *An. Fac. Med.* 71: 161-5.
- Sartoratto, A.; Machado, A.; Delarmelina, C.; Figueira, G.; Duarte, M.; Rehder, V. (2004). *Brazilian Journal of Microbiology* 35(4): 275-280.
- Stashenko, E.; Jaramillo, B.; Martínez, J. (2003). *Rev. Ac. Col. Cienc.* 27: 579-598.

ACEITE ESENCIAL DE OCOTEA ACUTIFOLIA: QUÍMICA Y ACTIVIDAD ALEXITÉRICA. Juan José Ruiz Díaz, Ana María Torres, Bárbara Ricciardi Verrastro, Gabriela Ricciardi, Armando I.A. Ricciardi y Eduardo Dellacassa. Laboratorio Dr. G.A. Fester, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes (3400) Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: juanjoruid@yahoo.com.

Las especies pertenecientes a la familia Lauraceae son utilizadas frecuentemente como aromatizantes, saborizantes y fitoterápicos. *Ocotea acutifolia* (Ness) Mez., “laurel”, “laurel negro” o “laurel blanco” es utilizada para la construcción de bancos, puertas y ventanas. Los extractos de hojas en acetona son activos frente a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*; mientras que los extractos en cloroformo lo son contra *S. aureus* y *B. subtilis* (Barneche y col., 2010). Los extractos etanólicos presentan alto potencial genotóxico en células de alas de *Drosophila melanogaster* (Guterres y col., 2012). La corteza y las hojas tienen alcaloides de la aporfina: (+)-6S-N-óxido de ocoteína y (+) norocoxilonina y análogos con actividad citotóxica (Garcez y col., 2011). No se ha informado, hasta el momento, la química del aceite esencial ni otro tipo de actividad biológica, pero teniendo en cuenta que es confundida por la población con otros *laureles* como *Nectandra angustifolia* (“laurel amarillo”) y, dado que esta especie es muy activa contra el veneno de *Bothrops diporus* (Torres y col., 2011) responsable del 80 % de los accidentes ofídicos

del país, es nuestro interés investigar si esta actividad está presente en *O. acutifolia*. Para ello, se recolectaron hojas y tallos tiernos en la localidad de San Isidro, Corrientes. El aceite esencial se obtuvo por destilación por arrastre con vapor de agua (0,34 % de rendimiento). Del agua de arrastre se separó la esencia de aguas mediante extracción con éter etílico; se conservaron ambas en *freezer* a -15 °C y atmósfera inerte hasta su uso. La composición química fue analizada por GC-MS utilizando además, una serie homóloga de *n*-alcanos (C₉-C₂₆). Se realizó el *screening* de la actividad alexitéra por SDS-PAGE (Camargo y col., 2011) y se realizaron pruebas *in vitro* para determinar la capacidad de los aceites para neutralizar las actividades coagulante (por la técnica del plasma recalcificado) y proteolítica (por SDS-PAGE sobre caseína) del veneno de yarará chica (*pool* de veneno de *B. diporus* por ordeño y desecado al vacío). Se pudo determinar el 88,7 % de los componentes del aceite, de los cuales el 18,2 % corresponde a hidrocarburos terpénicos (principalmente *trans*- β -ocimeno 13,3 %, limoneno 3,4 %, β -pineno 0,6 %); el 0,5 % a monoterpenos oxigenados, 16 % a hidrocarburos sesquiterpénicos, y una elevada proporción, el 57,5 %, a sesquiterpenos oxigenados entre los que se destacan atractilona (20 %) y curzerenona (3,5 %). Con respecto a la actividad alexitérica, tanto del aceite como la esencia de aguas borraron totalmente las bandas del veneno en el *screening* por SDS-PAGE, que demostró elevada actividad en una relación 1:7 (veneno:aceite). Ambos inhibieron *in vitro* la actividad proteolítica sobre la caseína en relación 1:120 y también, en un 50 %, la actividad coagulante del veneno en proporción tan baja como 1:5. En conclusión, en primera instancia se puede afirmar que esta especie, que no ha sido informada como alexitéra hasta el momento, y cuya química no ha sido evaluada, es muy activa contra el veneno de yarará chica como otras especies de Lauraceae, lo que podría constituir un rasgo característico de la familia.

Referencias bibliográficas

68

Guterres, Z.; Da Silva, A.; de Camargo, M.; Nogueira, C.; Garcez, F.; Garcez, W.; Spanó, M. (2012). *Rev. Bras. Biociênc.* 18: 157-163.
Torres, A; Camargo, F; Ricciardi, G; Dellacassa, E; Ricciardi, A. (2011). *Nat. Prod. Comm.* 6: 1393-1396.

INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTI-OXIDANTE DE CIS- β -OCIMENO Y DE CIS Y TRANS TAGETENONA DE TAGETES MINUTA DE JUJUY. Adriana M. Apaza^{1*}, Adriana C. Olleta² y Carmen I. Viturro¹. ¹PRNOA-UNJu-Facultad de Ingeniería-Universidad Nacional de Jujuy. San Salvador de Jujuy (4600). Argentina. ²Cátedra de Química Computacional-Facultad de Ingeniería-Universidad Nacional de Jujuy. San Salvador de Jujuy (4600). Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: aapaza@fi.unju.edu.ar

El género *Tagetes* (Asteraceae) es de origen sudamericano. En Jujuy crece espontáneamente *T. minuta* L., una de las seis especies que Cabrera (1978) describe en la provincia. Como consecuencia de su facilidad de adaptación a diferentes ambientes, se dispersó por distintos lugares del mundo. En consecuencia, la composición del aceite esencial (AE) fue estudiada por diversos autores (Chisowa y col., 2001; Mooghaddam y col., 2007) en diferentes regiones. En nuestros laboratorios se realizaron análisis previos de la capacidad antirradicalaria de diversos extractos de la especie colectada en varias regiones de Jujuy (Apaza y col., 2010). En estos estudios se observaron diferencias en los porcentajes de decoloración del radical activo 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). En el caso de los AE obtenidos por destilación por arrastre con vapor, se realizó un estudio particular de correlación estructura-actividad. Sobre la base de la estructura de los compuestos principales se formularon hipótesis de contribución de grupos activos a la actividad antirradicalaria (AAR). Por otra parte, este grupo de fitoquímicos presenta gran interés debido a sus efectos benéficos para la salud, por lo que numerosas investigaciones han sido enfocadas para evaluar sus propiedades biológicas (Miguel, 2010); sin embargo, la información existente respecto a los factores estructurales que influyen en estas propiedades es escasa o nula. Los terpenos tienen diferencias en su acción farmacológica, que pueden estar asociadas a las modificaciones en la disposición del esqueleto básico y en los efectos localizados en las propias cadenas en el

curso de la reacción. Establecer el origen de estas diferencias, sería un aporte en la interpretación de las características estructurales y electrónicas más adecuadas para la actividad biológica evaluada. En los AE analizados se determinaron, entre otros, los siguientes componentes *cis*- β -ocimeno; dihidro-tagetona; *trans*-tagetona y *cis*-tagetona; *cis*-tagetenona y *trans*-tagetenona. Los resultados se focalizaron en la relación entre la capacidad decolorante (CD) y el porcentaje de *cis*- β -ocimeno y *cis* y *trans*-tagetenona en cada uno de los AE estudiados. Posteriormente, se evaluó la relación estructura-actividad antioxidante de los monoterpenos principales, por medio de diferentes métodos computacionales, a fin de establecer las propiedades electrónicas y estructurales que favorecen la eficiencia de la actividad antioxidante. En ese sentido se calcularon las energías de disociación homolítica C-H. Para justificar en forma más ajustada lo observado experimentalmente se definieron dos nuevas variables: el parámetro de acercamiento (PA) y el ángulo de acercamiento (AA). PA y AA contemplan la interacción que se produce entre los sitios reactivos de la molécula objetivo (DPPH) y cada uno de los monoterpenos analizados. Se concluye que a) la actividad antioxidante de los terpenos se incrementa conforme aumenta el número de dobles enlaces conjugados presentes en la estructura entre otros factores; b) la AAR está relacionada con la presencia de hidrógenos doblemente alílicos; c) el PA y AA proporcionan herramientas adicionales para la interpretación de las determinaciones de AAR. De esta manera se verifica que existe un importante acuerdo entre los resultados experimentales de AAR y los teóricos de la matriz de composición compleja.

Referencias bibliográficas

- Apaza, A.M.; Víturro, C.I.; Molina, A.C.; Luna Pizarro, P. (2010). *XIII Simposio Latinoamericano de Farmacobotánica*: 106.
- Cabrera A.L. (1978). *Flora de la Provincia de Jujuy*, Parte X. Chisowa y col. (2001). *J. Essent. Oil Res.* 10: 183-184.
- Miguel, M.C. (2010). *Flavour and Fragrance Journal* 25(5): 291-312.
- Mooghaddam y col. (2007). *J. Essent. Oil Res.* 19: 3-4.

GENÉTICA EN “PEPERINA” Y “CEDRONCILLO”: EFECTO DE LA ACCIÓN ANTRÓPICA SOBRE POBLACIONES NATURALES DE TUCUMÁN. Adriana del Valle Pastoriza¹, Car-

los J. Budegue¹, Pablo Herrero Nasif¹, Miguel A. Elechosa², Miguel A. Juárez² y Ana M. Molina². ¹Facultad de Agronomía y Zootecnia (FAZ-UNT). ²Instituto de Recursos Biológicos – INTA Castelar. *Autor a quien dirigir la correspondencia: adrianapastoriza@yahoo.com.ar

En los últimos años se han realizado investigaciones relacionadas con el estudio, la evaluación, la caracterización, y la conservación de especies aromáticas nativas. En Tucumán existen especies aromáticas nativas cuya demanda se incrementó sustancialmente en los últimos tiempos. Por ello, se ha planteado como objetivo general estimar la variabilidad genética en especies aromáticas nativas, mediante análisis morfológicos, citológicos y moleculares, promoviendo la conservación del recurso fitogenético y, lograr así, su mayor aprovechamiento. En este estudio se han incorporado para su investigación poblaciones naturales de “peperina” *Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb. (Lamiaceae) y de “cedroncillo”, *Aloysia gratissima* (Gill. et Hook) Tronc. (Verbenaceae). El material de *M. mollis* provino de Río Nío y de Villa Padre Monti (Burrucuyacú, Tucumán) y el de *A. gratissima* de El Mollar (Tafí del Valle, Tucumán). Se determinaron números cromosómicos, niveles de ploidía, fertilidad y marcadores moleculares de isoenzimas. Se realizaron observaciones *in situ* de las poblaciones para inferir el efecto de la acción antrópica sobre la permanencia de las especies. Para las determinaciones de número cromosómico y los niveles de ploidía se utilizaron meristemas radiculares, con técnica de coloración con hematoxilina. La valoración de la fertilidad se realizó por medio del análisis de cromosomas en meiosis, en células madre del polen (CMP). La viabilidad del grano de polen se determinó por coloración con azul de algodón en lactofenol. Para obtener las fotografías se usó microscopio óptico Carl Zeiss Primo Star con cámara digital incorporada. Los marcadores moleculares se determinaron por electroforesis en gel de acrilamida vertical y se reveló para peroxidadas y esterases. Los resultados mostraron: 1) *M. mollis*. Se encontró un número cromosómico $2n = 48$, con tamaño cromosómico de entre 0,2 y 0,4 μm . En meiosis se observaron divisiones normales y anormales, en diferente porcentaje. Entre las anomalías, se presentaron multivalentes, díadas, tríadas y políadas de grado y tamaño diferentes. También se observaron configuraciones como orientación anormal del huso,

rezagados (*laggards*) y micronúcleos en porcentaje variable. El estudio de viabilidad de polen, dio 87,2 % de polen viable y 12,8 % inviable. Se trataría de poblaciones octoploides, con un comportamiento diploidizado, según el número $x = 6$ informado por otros autores. Las determinaciones isoenzimáticas mostraron una banda única para peroxidasas. Para α y β esterases, las muestras analizadas presentaron variabilidad fenotípica interpoblacional.

2) *A. gratissima*. El número cromosómico fue $2n = 54$, con complemento cromosómico asimétrico, con variaciones de tamaño cromosómico de entre 0,5 a 2 μm . La meiosis fue muy irregular, con escasa fertilidad para las poblaciones observadas. Se presentaron univalentes, puentes y rezagados. La viabilidad de polen dio 7,59 % normal y 92,41 % anormal. Se trataría de una población hexaploide, considerando el número básico $x = 6$ citado previamente. En los análisis isoenzimáticos, en peroxidasas se expresó una sola banda y en α y β esterases las bandas obtenidas indican escasa variabilidad para estos marcadores. El fenotipo observado en peroxidasas (una sola banda), fue encontrado en otras especies de géneros relacionados (*Aloysia* y *Lippia*), por ello podría inferirse que esta expresión génica sería característica de estos géneros; sería necesario incluir más especies para confirmar el hecho. Se sabe que los poliploides se adaptan a condiciones ambientales más desfavorables, como ocurre con algunas poblaciones de *M. mollis* y de *A. gratissima*. Es probable que su valor selectivo compense sus dificultades reproductivas, para lo cual recurre a la multiplicación vegetativa, para mantenerse y prosperar como poblaciones. Sin embargo, se ha detectado una alarmante disminución del número de especímenes, que se atribuye a la extracción antrópica, realizada sin un análisis de sustentabilidad ambiental y de conservación de la biodiversidad natural. En el caso de *A. gratissima* de El Mollar, Tafi del Valle, se ha introducido como ornamental para cerco, un arbusto con gran agresividad invasora (*Crataegus pyracantha*) que ocupa los nichos ecológicos naturales de *A. gratissima*, y por ello, esta última se ve afectada en su número, por lo que resulta muy importante el rescate de esta especie y la conservación de su germoplasma, concepto válido también para *M. mollis*.

COMPOSICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE XENOPHYLLUM POPOSUM Y X. ROSENII (ASTERACEAE). Carola Schuff* y César A.N.

Catalán. INQUINOA-CONICET e Instituto de Química Orgánica, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán (4000), Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: cschuff@fbqf.unt.edu.ar

A manera de continuación de nuestras investigaciones sobre hierbas empleadas en la medicina tradicional andina, estudiamos la composición química de *Xenophyllum poposum* (Philippi) V.A. Funk, un subarbusto conocido con el nombre vulgar de "poposa", que crece en las altas montañas del noroeste de la Argentina, el norte de Chile, Bolivia y el sur de Perú entre 4 600 y 5 300 m.s.n.m. las infusiones de las partes aéreas (a pesar de su olor fétido) son usadas en medicina tradicional para el tratamiento de la hipertensión, para combatir el apunamiento, las náuseas y los problemas digestivos. También analizamos *X. rosenii* (R.E.Fr.) V.A. Funk, un subarbusto que crece a los 5 200 m en las montañas de Jujuy. En este trabajo se determinó la composición química del aceite esencial (AE) de varias colecciones de *X. poposum* y una colección de *X. rosenii*. Fueron recolectadas partes aéreas de *X. poposum* en el Cerro Pabellón a 4 600 m.s.n.m., Departamento Andalgalá, provincia de Catamarca, Argentina en los años 2003, 2005, 2009 y 2011. Se analizó también una muestra comercial adquirida en 2006, en una herboristería de San Miguel de Tucumán. *X. rosenii* fue recolectada en el Departamento Rinconada de la provincia de Jujuy en febrero de 2009. En todos los casos el AE se obtuvo por destilación por arrastre de vapor en un equipo tipo Clevenger. Los aceites fueron analizados por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). La identificación de los componentes se realizó por comparación computarizada con la biblioteca de espectros del equipo (NBS75K, NIST, WILEY), por comparación visual con los espectros informados en la literatura y por los Índices de Kovats. El perfil cromatográfico de los AE de todas las colecciones de *X. poposum* fue similar. Los sesquiterpenoides (72,2 %) fueron los componentes dominantes, mientras que el contenido de monoterpenoides (3,6 %) fue escaso. Notablemente, se detectaron cantidades significativas de compuestos de origen no terpénico, los derivados de p-hidroxiacetofenona 6-hydroxytremetona y tremetona. El AE de *X. rosenii* también mostró predominancia de sesquiterpenos (59,7 %), una

cantidad importante de monoterpenos (36,7 %) junto a cantidades menores de tremetona y 6-hydroxytremetona. Investigaciones previas de una colección de *X. poposum* de un lugar no especificado de la Puna (Abella y col., 2000) y otras realizadas en la provincia de Jujuy por Viturro y Ferro (1994), mostraron monoterpenos como componentes principales (76,4 %) con predominio de β -pineno, baja cantidad de sesquiterpenoides (6,2 %) y ausencia de derivados de benzofurano. La composición química diferente exhibida por el AE de nuestra colección sugiere que se trata de otro quimiotipo, como también lo demostraron las colecciones de *X. poposum* que analizamos posteriormente, en diciembre de 2005, marzo de 2009 y marzo de 2011, en el mismo lugar (Cerro Pabellón, provincia de Catamarca). La estabilidad del perfil químico durante varios años de *X. poposum* recolectado en Andalgalá (Catamarca) y su similitud con el AE del material proveniente de una herboristería de Tucumán indica que probablemente se trata de un nuevo quimiotipo. Este trabajo constituye el primer informe del AE de *X. rosenii* cuya composición tiene algunas similitudes con el quimiotipo de *X. poposum* de Catamarca.

Referencias bibliográficas

- Abella, L.; Cortella, A.R.; Velasco-Negueruela, A.; Pérez-Alonso, M.J. (2000). *Pharmaceutical Biology* 38: 197-203.
- Viturro, C.; Ferro, E. (1994). *Actas del Simposio Internacional de Química de Productos Naturales y sus Aplicaciones*. Concepción, Chile: 296-297.

AVANCES EN EL ESTUDIO DE *CLINOPODIUM GILLIESII* (BENTH.) KUNTZE DE LA PROVINCIA DE JUJUY, ARGENTINA. Roxana del C. Cabana^{1*}, Carmen I. Viturro^{1*}, Cecilia I. Heit¹, Luciana Saluzzo¹ y Juliana Vinholes². ¹PRNOA, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Jujuy, San Salvador de Jujuy (4600) Argentina. ²Laboratorio de Farmacognosia, Departamento de Química, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto, 4050-313, Portugal. *Autores a quien dirigir la correspondencia: rcabana@fi.unju.edu.ar, civiturro@fi.unju.edu.ar

Clinopodium gilliesii (sin: *Satureja parvifolia* (Phil.) Epling) (Lamiaceae), popularmente es conocida como "muña-muña". Es un arbusto propio de la región Andina, donde suele ser abundante, crece en cercanías de ríos y, en particular en la Argentina, en las provincias de Salta, Jujuy, Córdoba, Catamarca, Tucumán, La Rioja, San Luis y San Juan. Es usada

en infusiones por su aroma y por sus propiedades etnobotánicas (Bustos y col., 1996). En trabajos previos evaluamos la actividad antioxidante (AAOx) de extractos polares de esa especie, en una población (A) del departamento de Humahuaca, Jujuy, y encontramos que tiene un potencial interesante. En función de esos resultados se amplió la búsqueda de poblaciones en la provincia de Jujuy, se expandió el espectro de actividades estudiadas y se profundizó en la fitoquímica. El objetivo principal de este trabajo es la determinación del perfil de volátiles en las poblaciones en estudio por medio del análisis de sus aceites esenciales y del espacio de cabeza de la planta entera. Además, se presentan avances logrados en el estudio integral. Fueron colectadas tres poblaciones de *Clinopodium gilliesii*: población A (HN 10 05/marzo 2010/ 2ª floración //HN 11 08/abril 2011/principio de fructificación) y dos poblaciones B y C pertenecientes al departamento de Cochinoca HN11 01/marzo 2011/plena floración y HN 11 06 /abril 2011/fructificación. La medición de la actividad antioxidante frente a DPPH de muestras de las tres locaciones permitió la selección de la más activa (B) en todos los extractos polares, para profundizar la investigación de actividad biológica: inhibición de acetilcolinesterasas (AChE, BuChE) y α -glucosidasa y determinar el perfil metabólico de los extractos activos. La AAOx fue evaluada frente a los radicales DPPH, óxido nítrico y superóxido. Los compuestos volátiles fueron determinados por GC-MS y, en otros casos, HS-SPME/GC-ITMS, y los compuestos polifenólicos se determinaron por HPLC / UV DAD. La AAOx de todos los extractos muestra un buen potencial: los acuosos fueron los más eficaces. Además, el etanólico mostró mejor inhibición de AChE y el hidrolato fue el más activo para inhibir BuChE y α -glucosidasa. Los componentes volátiles monoterpénicos mayoritarios de las tres poblaciones son coincidentes cuali y cuantitativamente: óxido de piperitenona (31-35 %), piperitenona (13-16 %), pulegona (4-5 %), en tanto que la composición de los sesquiterpenos muestra diferencias con la fenología. En fructificación se determinó elemol, γ -eudesmol, β -eudesmol e hinesol. En general se mantiene el perfil volátil de las poblaciones estudiadas. Fueron identificados 34 compuestos volátiles en el espacio de cabeza de tres extractos polares de B. La mayor diversidad de compuestos se encuentra en el extracto etanólico, seguido de infusión e hidrolato. El metabolito volátil

captado en mayor proporción en el espacio de cabeza de la muestra HN 11 01, resultó ser el óxido de piperitenona. De los compuestos polifenólicos, el ácido rosmarínico es el mayoritario en todos los extractos y la luteolina la más abundante en el extracto etanólico. Las poblaciones de *C. gilliesii* estudiadas pueden constituirse en un aporte de antioxidantes para la industria alimentaria como posibles sustitutos naturales de antioxidantes artificiales. El seguimiento temporal de la composición de volátiles y no volátiles se abordará en estudios posteriores para confirmar la homogeneidad de estas tres poblaciones. Se encaró, además, la adaptación de la especie como herramienta de bio-preservación.

Referencias bibliográficas

Bustos, D. A.; Tapia, A.A.; Feresin, G.E.; Ariza-Espinar, L. (1996). *Fitoterapia* 5: 411-415.

ESTUDIO PRELIMINAR PARA DETERMINAR POSIBLES RESPONSABLES DE LA PUNGENCIA EN FRUTOS DE *SCHINUS AREIRA* DE JUJUY. María A. González, Walter C. Villa, Ana C. Molina y Carmen I. Viturro. Laboratorio de Productos Naturales PRONOA, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Jujuy, San Salvador de Jujuy (4600) Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: agonzalez@fi.unju.edu.ar

Schinus areira L. (Anacardiaceae) crece naturalmente en la quebrada de Humahuaca, Jujuy (Argentina). Es una especie a la que los lugareños dan diversas aplicaciones en su vida cotidiana, como ser: antiséptico veterinario, antirreumático (hojas) y como condimento culinario picante (frutos). El objetivo de este trabajo fue tratar de orientarnos respecto a los fitoquímicos responsables de pungencia en los frutos de *Schinus areira* mediante el uso de cromatografía en capa fina (CCF). Las muestras ensayadas provienen de frutos de ejemplares de las localidades de Pinchayoc, Juella, Tilcara y Huajra, seleccionados por su pungencia mediante una evaluación preliminar exploratoria y teniendo en cuenta que pertenecieran a los quimiotipos: α -felandreno, β -felandreno y limoneno previamente identificados (Viturro y col., 2005). Los extractos se obtuvieron a partir de frutos molidos usando como solventes metanol y cloroformo. Se sometieron a calentamiento a reflujo durante 10 minutos, se enfriaron, filtraron y evaporaron para posteriormente realizar CCF

(Wagner y Bladt, 1995). Como referencias se usaron productos pungentes adquiridos en los comercios locales: ají molido, páprika (pimentón), pimienta blanca, pimienta negra, pimienta verde y rocoto (ají locoto), y se obtuvieron extractos con la misma metodología. Como fase fija se emplearon cromatofolios de sílica gel (Merck 60 F₂₅₄) y como fase móvil, una mezcla de tolueno y acetato de etilo (70:30) (Wagner y Bladt, 1995) para la determinación de sustancias pungentes. Se revelaron con vainillina al 1 % en etanol y ácido sulfúrico 10 % en etanol. Se observó en el visible luego de mantenerlos 10 minutos a 100 °C. Todos los ensayos se realizaron por triplicado y con diferentes concentraciones de los extractos. Al comparar las placas reveladas con las publicadas (Wagner y Bladt, 1995) se concluye que las muestras de *Schinus areira* no contendrían piperina, aunque se halló similitud en Rf (0,2) y color de mancha con capsaicina determinada en páprika. Se observa la presencia de muchas manchas en la zona con Rf mayor que 0,6 que pueden atribuirse a los compuestos monoterpénicos hidrocarbonados presentes en los aceites esenciales (Wagner y Bladt, 1995). Por debajo de Rf 0,6 se encuentran otros grupos de manchas que podrían pertenecer o no, a otros responsables de pungencia. Es muy probable que la pungencia se deba principalmente a compuestos del tipo felandrenicos presentes en los aceites esenciales (González y col., 2011) ya que en un ensayo previo se determinó que el orden decreciente de pungencia para los distintos quimiotipos es: α -felandreno, β -felandreno y limoneno (González y col., 2011). Se llevarán a cabo evaluaciones sensoriales de los frutos y de sus aceites esenciales vehiculizados para contar con elementos que permitan avalar estas hipótesis.

Referencias bibliográficas

González, M.; Viturro, C.; Molina, A.; Heit, C.; Villa, W. (2011). *Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA* 1: 355-362.

Viturro, C.; Corro, M.; Molina, A.; Heit, C.; Villa, W.; Bandoni, A.; Elder, H.; Dellacassa, E. (2005). *Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA* 2: 309-316.

Wagner H.; Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis* (2ª ed.): 291-299.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PROPÓLEOS DE TRANCAS PARA SU APLICACIÓN EN TECNOLOGÍA ALIMENTARIA. Florencia López Airaghi,

Martín M. Tolay, Javier E. de Quintana, Ana C. Albornoz, Verónica Albarracín, Patricia M. Albarracín y Mariela González*. Cátedra de Química Orgánica, Dpto. de Ingeniería de Procesos y Gestión Industrial, Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología, Universidad Nacional de Tucumán. Av. Independencia 1800 (4000) San Miguel de Tucumán, Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: magonza-lez@herrera.unt.edu.ar

El propóleo es una mezcla compleja elaborada por las abejas a partir de resinas vegetales y secreciones propias (Asís, 1991). Sus principales componentes son compuestos fenólicos y derivados, con efectos biológicos y farmacológicos, aunque su composición química y su actividad biológica varían según la fuente vegetal (Schmeda-Hirschmann y col., 2003). El creciente uso de propóleos en tecnología alimentaria presenta el problema de su variabilidad. Para el control de la calidad y la normalización de este producto, en la actualidad se considera la necesidad de relacionarlo con los metabolitos secundarios provenientes de su fuente vegetal. Por esta razón, cobra importancia el estudio en paralelo de los propóleos y las especies vegetales de las que provienen. Las sustancias provenientes de las plantas y modificadas por las abejas son finalmente las responsables de su actividad biológica (Bakova, 2005). El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad antimicrobiana de propóleos de Trancas para su posible uso en la conservación de alimentos. Con este fin se cosecharon propóleos del departamento de Trancas (Tucumán), que se encuentra en un gran valle que forma parte de dos regiones fitogeográficas: el bosque chaqueño serrano y las yungas. Se trabajó con ocho muestras, que fueron cosechadas mediante técnica de raspado y trampas en colmenas de abejas *Apis mellifera*. Para estudiar la actividad antimicrobiana se siguió el método de Rahalison modificado (Rahalison y col., 1991), frente a *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Escherichia coli* (ATCC 2592). En los ensayos bioautográficos se estudiaron extractos etanólicos de propóleos (EEP), usando como control positivo gentamicina, y como control negativo, etanol 80 %. Se sembraron 10 µL de los EEP. Todos los EEP de Trancas mostraron actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, mientras que las muestras n.º 3 y n.º 4 presentaron halos de inhibición frente a *E. coli*. Estos resultados presentan la factibilidad del uso de EEP de Trancas

en tecnología alimentaria como conservante natural. En el futuro se estudiarán con la metodología aquí descripta, otras especies vegetales colectadas en zonas circundantes a las colmenas de las que se cosecharon las muestras de propóleos.

Referencias bibliográficas

- Asís, M. (1991). *Propóleos: oro púrpura de las abejas*. CIDA. La Habana (2ª ed.): 62-70.
- Bankova, V. (2005). *J. of Ethnopharmacology* 100: 114-117.
- Rahalison, L.; Hamburguer, M.; Hostettman, K.; Monod, M.; Frenk, E. (1991). *Phytochemical Analysis* 2: 199-203.
- Schmeda-Hirschmann, G.; Rodríguez, J.; Theoduloz, C.; Astudillo, S.L.; Feresin, G.E.; Tapia, A. (2003). *Free Radical Research* 37: 447.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE ESPECIES VEGETALES NATIVAS PARA SU USO EN TECNOLOGÍA ALIMENTARIA. Lucrecia Corral, Cristian G. Vivacqua, Luis A. Ojeda López, Iván Rosales, Ezequías L. Fernández, Mariela González y María L. Tereschuk*. Cátedra de Química Orgánica, Dpto. de Ingeniería de Procesos y Gestión Industrial, Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología, Universidad Nacional de Tucumán. Av. Independencia 1800 (4000) San Miguel de Tucumán, Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: mtereschuk@herrera.unt.edu.ar

En la actualidad existe un creciente interés en el estudio de fitoquímicos como nuevas fuentes de antioxidantes y antimicrobianos naturales para utilizarlos en alimentos y preparados farmacéuticos a fin de reemplazar los antioxidantes sintéticos, que son restringidos debido a su potencial toxicidad. Los flavonoides se pueden encontrar en los vegetales y tienen propiedades antioxidantes. Se han estudiado estos compuestos en la prevención de enfermedades ligadas al estrés oxidativo (Veskoukis y col., 2012). Las familias Fabaceae, Solanaceae y Zygophyllaceae comprenden especies vegetales nativas de América. Algunos miembros de estas familias presentan diversas actividades biológicas (Harborne y Williams, 2000). El objetivo de este trabajo fue estudiar la actividad biológica de plantas conocidas en la medicina tradicional por sus propiedades que se encuentran en Amaicha del Valle (Tucumán) y, además, determinar compuestos fenólicos totales para establecer una correlación entre la actividad biológica y la presencia de polifenoles. Las especies seleccionadas fueron: *Bulnesia schickendantzii* Hieron. ex Griseb.

(Zygophyllaceae), *Larrea divaricata* Cav. (Zygophyllaceae), *Plectrocarpa rougesii* Descole, O'Donnell & Lourteig (Zygophyllaceae), *Zuccagnia punctata* Cav. (Fabaceae), *Lycium chilense* Miers ex Bertero (Solanaceae) y *Fabiana sp.* (Solanaceae). Se determinó la capacidad antioxidante según el método de DPPH (Schmeda-Hirschmann y col., 2004), y en todas las muestras era superior al 76 % para una concentración de 100 µg/cm³. El contenido de compuestos fenólicos se determinó por la técnica de Folin-Ciocalteu modificado (Tawaha y col., 2007). El resultado de fenoles totales siempre fue superior a 400 mg EAG/ 100 gramos de muestra. Para determinar la actividad antimicrobiana se aplicó la bioautografía en agar según Rahalison y col. (1991) modificado. Se emplearon: *Escherichia coli* (ATCC 259229) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). *Z. punctata*, *L. divaricata* y *Fabiana sp.* que mostraron actividad frente a ambos microorganismos, presentes como patógenos en alimentos. Se concluye que tres de las especies estudiadas tienen buena actividad antioxidante, altos contenidos de compuestos fenólicos y actividad antimicrobiana positiva, por lo que se encarará un estudio más profundo para evaluarlas como futuros conservantes naturales y aplicarlos en tecnología de alimentos.

Referencias bibliográficas

- Harborne, J.B.; Williams, C.A. (2000). *Phytochemistry* 55: 481-504.
- Rahalison, L.; Hamburguer, M.; Hostettman, K.; Monod, M.; Frenk, E. (1991). *Phytochem. Anal.* 2: 199-203.
- Schmeda-Hirschmann, G.; Tapia, A.; Theoduloz, C.; Rodríguez, J.; López, S.; Feresin, G.E. (2004). *Z. Naturforschung* 59: 345-353.
- Tawaha, K.; Alali Feras, Q.; Gharaibeh, M.; Mohammad, M.; El-Elimat, T. (2007). *Food Chemistry* 104: 1372-1378.
- Veskoukis, A.; Tsatsakis, A.M.; Kouretas, D. (2012). *Cell Stress & Chap.* 17: 11-21.

ANÁLISIS PRELIMINAR DE LA INCIDENCIA DE COCHINILLAS (INSECTO) EN LA FITOQUÍMICA DE *APHYLLOCLADUS SPARTIOIDES*. Lilia Estela Neder^{1*}, Carmen I. Viturro^{2*}, María I. Zamar¹, Cecilia I. Heit² y Ana C. Molina². ¹Instituto de Biología de la Altura, Universidad Nacional de Jujuy. ²Laboratorio de productos naturales PRNOA, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Jujuy, San Salvador de Jujuy (4600), Argentina. *Autores a quien dirigir la corres-

pondencia: leneder@inbial.unju.edu.ar, civiturro@fi.unju.edu.ar

Aphyllocladus spartioides Wedd. (Asteraceae) conocida como “pular”, “tola blanca”, “tojra tola”, es una especie nativa distribuida en el sur de Bolivia y el noroeste de la Argentina, en la prepuna de Salta y Jujuy. Es usada en la medicina folklórica como infusión (tallos y hojas) para afecciones digestivas, y externamente se utilizan las inflorescencias para baños curativos de enfermedades reumáticas (Vignale, 1996). En estudios previos se evaluó la actividad antioxidante de extractos acuosos de dos poblaciones de *A. spartioides* de dos localidades de la prepuna jujeña (Maimará y Juella). Se observó que no existen diferencias químicas cuali y cuantitativas entre los componentes de los aceites esenciales de ambas poblaciones, que predominan los sesquiterpenos (Viturro y col., 2007). Con respecto a la entomofauna asociada al “pular” se registró un predominio del Orden Hemiptera (57 %) (Neder de Román y col., 2011). Entre estos insectos se destacan las cochinillas que pertenecen a la familia Coccidae (Homoptera), que, en general, se desarrollan sobre hojas, ramas y raíces; se alimentan de la savia y eliminan gran cantidad de melado o líquido azucarado rico en aminoácidos y otros compuestos nitrogenados que favorecen el desarrollo de hongos (fumaginas) y deterioran el aspecto de la planta e inhiben la fotosíntesis. En ataques intensos producen defoliación, decaimiento y pueden provocar la muerte del vegetal (Granara de Willink, 1994). Este trabajo tiene como objetivo iniciar estudios sobre la incidencia de los insectos en la fitoquímica de *A. spartioides*. Se realizaron muestreos mensuales (n = 4) en Maimará y Juella, que abarcaron dos estados fenológicos. Se empleó un aspirador DVAC y se tomaron diez ramas al azar. El aceite esencial de plantas en el mismo estado fenológico con y sin ataque de cochinillas se extrajo por arrastre con vapor y su composición se determinó por GC/FID y GC/EM. El muestreo con aspiradores permitió la recolección de 733 ejemplares de artrópodos, que brindan un panorama general de la riqueza de especies asociada a *A. spartioides*. La especie dominante por el número de ejemplares obtenidos en el muestreo de ramas fue una especie de *Coccidae*. En Maimará y Juella se registraron dos colonias con 60 y 78 individuos respectivamente, en distintos estados de desarrollo. El análisis del aceite

esencial de las plantas atacadas por cochinillas no muestra diferencias en la cantidad e identidad de monoterpenos. Sin embargo, hay variaciones porcentuales de sesquiterpenos: disminuyen E-cariofileno, α -cadineno, óxido de cariofileno, α -cadinol y aumentan biciclogermacreno, espatulenol, epi- α -cadinol, shyobunol, entre otros. Hasta el presente no existen referencias bibliográficas de la incidencia de Coccidae sobre la producción de fitoquímicos, por lo cual es necesario continuar los estudios en relación con los distintos estados fenológicos que permitan determinar el efecto directo que tienen al succionar la savia vegetal.

Referencias bibliográficas

- Granara de Willink, M.C. (1995). *Serie Monográfica y Didáctica* N° 24. Fac. de Ciencias Naturales e IML, UNT.
- Neder de Román, L.E.; Zamar, M.I.; Ortiz, F.; Linares, M.; Hamity, V.C.; Contreras, E.F.; Quispe, R. (2011). *3er Congreso Nacional de Entomología de Bolivia*. CD-R.
- Vignale, N.D. (1996). *Anales de SAIPA* 14: 177-182.
- Vituro, C.I.; Valdiviezo, A.L.; Villa, W.C.; Molina, A.C. (2007). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 6(5): 286-287.

ACANTHOLIPPIA SALSOLOIDES DE JUJUY: SCREENING PRELIMINAR, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ACEITE ESENCIAL. Liliana S. Celaya*, Carmen I. Vituro*, Ana C. Molina, Roxana del C. Cabana, Marta Labarta y Patricia Luna Pizarro. Facultad de Ingeniería, PRONOA-UNJu, San Salvador de Jujuy, (4600) Jujuy, Argentina. *Autores a quien dirigir la correspondencia: civituro@fi.unju.edu.ar; lilianacelaya@hotmail.com.

Acantholippia salsoloides Griseb. (Verbenaceae), "rica rica" es un arbusto aromático de ramas espiniscentes, de hojas alternas sésiles y flores blancas pequeñas en racimos terminales (Caro, 1982; Elechosa y col., 2011). Crece en suelos salados de

la quebrada y la puna de Jujuy, también en Salta, Catamarca y en Bolivia (Vituro y col., 1994; Vituro y Molina, 2007). Las ramas florecidas son utilizadas en la preparación de infusiones con fines analgésicos y digestivos (Vituro y Molina, 2007). El objetivo de este trabajo fue caracterizar los aceites esenciales (AE) de tres poblaciones de "rica rica" de zonas áridas y semiáridas de Jujuy, realizar la caracterización fitoquímica preliminar y determinar la actividad antirradicalaria (AAR) de los hidrolatos. Los AE fueron obtenidos por hidrodestilación de hojas, flores y tallos del material colectado en floración en Casabindo (HN 10-10), Cianzo (HN 09-03), Salinas Grandes (HN 07-27); la composición del AE se cuantificó por CG/FID. Para la determinación de la AAR de los hidrolatos frente al DPPH[•] se utilizó un microplate reader Epoch BioTeK. Las poblaciones de Cianzo y Casabindo son principalmente del tipo tuyonas, al igual que la de Chucalezna (Elechosa y col., 2011); los componentes mayoritarios son *cis*-tuyona y *trans*-tuyona (Tabla 1). La población de Salinas Grandes (Tres Morros) pertenecería a otra variedad química, con *trans*-tuyona y sabinil acetato (*trans*) como componentes mayoritarios; para esta última población, se observó también, variación de la composición con el tiempo de almacenamiento (se incrementa principalmente el *trans*-sabinol). Son necesarios estudios posteriores sobre el AE de distintas poblaciones en diferentes fenologías y evaluar el efecto del almacenamiento sobre la composición de volátiles de la "rica rica". No se registraron diferencias entre las evaluaciones fitoquímicas preliminares de las poblaciones estudiadas (hojas y flores): azúcares reductores (+), esteroides (+), alcaloides (-), flavonoides (+). En cuanto a la AAR de los hidrolatos frente al DPPH[•]: en las condiciones del ensayo todas las muestras de concentración > 100 μ g / ml (sólidos totales) mostraron AAR superior al 50 %, los IC₅₀ variaron entre

Tabla 1- *Acantholippia salsoloides* de Jujuy: principales componentes del AE

Componente	Cianzo	Casabindo	Salinas Grandes	Salinas Grandes [#]	Chucalezna [#]
<i>cis</i> -tuyona	18,54	18,56	0,90	trazas	26,77
<i>trans</i> -tuyona	72,46	69,75	25,69	65,37	63,30
sabinil acetate (<i>trans</i>)	0,30	trazas	26,03	20,74	-
sabinol (<i>trans</i>)	0,20	1,02	38,51	9,53	-

[#] Elechosa y col., 2011.

64,1 y 93,5 µg/ml. La población de Cianzo mostró los mejores IC50 (64,1 y 82,8 µg/ml, a los 5 y 30 min, respectivamente); sin embargo, no hay diferencia significativa con las otras dos poblaciones.

Referencias bibliográficas

- Caro, J.A. (1982). *Dominguezia* 3: 7-9.
 Elechosa, M.A.; Viturro, C.I.; Juárez, M.A.; Heit, C.; Molina, A.C.; Martínez, A.J.; Molina, A.M. (2011). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 46: 170-171.
 Molina, A.C.; Viturro, C.I. (2007). *SIBEAQO I*, PN: 51.
 Viturro, C.I.; Molina, A.C.; Saavedra, O.N.; Campos, E.; Molina, S. (1994). *VI Reunión Técnica Nacional sobre Especies y Productos Aromáticos y Medicinales, SAIPA*.

VARIACIONES EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ACEITES ESENCIALES MICROENCAPSULADOS EN UN ENSAYO DE CONTROL DE VARROA EN COLMENAS EN JUJUY. Sigfrido P. Alemán*, Walter C. Villa, Ana C. Molina, Silvia G. Maidana, Celia A. González y Carmen I. Viturro*. Laboratorio de Productos Naturales PRONOA, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Jujuy, San Salvador de Jujuy (4600), Argentina. *Autores a quien dirigir la correspondencia: sigfridoaleman@hotmail.com.ar; civiturro@fi.unju.edu.ar

El ácaro *Varroa destructor* Oud (Varroidae) es un parásito que afecta a *Apis mellifera* L., y provoca, en consecuencia, disminuciones en el rendimiento de productos de la colmena y la muerte de las colonias. Las colmenas se tratan generalmente con acaricidas de síntesis que producen residuos indeseables en sus productos, y la aparición de resistencia en varroa frente a algunos compuestos. El empleo de productos naturales, ecológicamente compatibles, representa una alternativa viable en la lucha contra ese parásito. Hay registros de aceites esenciales (AE) provenientes de especies diversas que exhiben efecto acaricida en condiciones de laboratorio. Desde 2007 realizamos ensayos de actividad varrocida con distintos métodos de laboratorio con AE libre (Viturro y col., 2009) y AE microencapsulado (me) (Alemán y col., 2011) de especies introducidas y nativas de Jujuy de composición diferente. El objetivo de este trabajo es estudiar la variación relativa en la composición química de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) microencapsulado (me) con goma arábiga como material de pared y secado con *spray*, antes y después de ser utilizado en un ensayo de control del

ácaro *Varroa destructor* en colmenas. El volumen total del aceite esencial retenido en las microcápsulas, antes y después de su aplicación en las colmenas durante un período de 15 días, se recuperó por hidrodestilación (Clevenger). Los aceites esenciales fueron cuantificados por CG/FID. Los ensayos se realizaron por triplicado. Se verificaron variaciones en la composición porcentual relativa de los aceites esenciales microencapsulados antes y después de su aplicación en las colmenas; así para *trans*-sabineno-hidrato de 9,3 a 2,0 %; terpinen-4-ol de 21,5 a 12,5 %; timol de 14,8 a 9,9 %; carvacrol de 2,7 a 0,2 % respectivamente, entre otros. Se observó un incremento en el porcentaje de *p*-cimeno y una disminución del porcentaje de terpinenos, lo cual puede corresponder en gran medida a la oxidación de estos terpenos a *p*-cimeno debido a la exposición, durante la permanencia en las colmenas, a las condiciones de temperatura y la presión de oxígeno. Los compuestos que experimentaron mayor disminución porcentual podrían ser los responsables de la actividad varrocida observada.

Referencias bibliográficas

- Alemán, S.P.; Viturro, C.I.; Molina, A.C.; Villa, W.C. (2011). *XVIII SINAQO (XVIII Simposio Nacional de Química Orgánica)*. Carlos Paz, Argentina. PN: 223.
 Viturro, C.I.; Alemán, S.P.; Heit, C.I.; Molina, A.C. (2009). *XVII SINAQO (XVII Simposio Nacional de Química Orgánica)*. Mendoza, Argentina. PN: 77.

POACEAS DE MISIONES: QUIMIOTIPOS DE ELIONURUS MUTICUS. Eugenio Kolb*, Nicolás Kolb, Darío J. Ferreyra, Roberto F. Uliana, Liliana S. Celaya, Carlos Puglisi, Roberto A. Miño y Jorge Huk. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. UNaM. Félix de Azara 1552 (3300) Posadas, Misiones, Argentina. *Autor a quien dirigir la correspondencia: ekolb@fceqyn.unam.edu.ar

Durante varias décadas, se han implantado con relativo éxito en la provincia de Misiones, tres especies de *Cymbopogon*: *C. flexuosus* (Nees. ex Steud.) Watson (“lemongrass”), *C. martinii* (Roxb.) Will. Watson (“palmarosa”) y *C. winterianus* Jowitt. ex Bor. (“citronella”), con el objeto de aprovechar el aceite esencial (AE) rico en citral y geraniol. De la misma familia (*Gramineae*, ex *Poaceae*), hemos aislado y estudiado diferentes quimiotipos locales de *Elionurus muticus* (Spreng.) Kuntze (“espartillo”): espartillo citral, con un contenido de neral + geranial superior

al 80 %, rendimiento en AE > 1 % y gran resistencia a condiciones climáticas adversas (con gran potencial para su explotación comercial); espartillo geraniol, con más de 60 % de geraniol, y otros quimiotipos con elevado contenido en sesquiterpenoides: oxobisaboleno (óxido monocíclico, hasta 44 %), acorenona (cetona bicíclica, hasta 57 %), nerolidol (alcohol acíclico, hasta 53 %). Como la gran mayoría de los componentes identificados en el AE de espartillo, mono y sesquiterpenoides, se forman por medio de la ruta del mevalonato se planteó como objetivo estudiar las rutas metabólicas involucradas en la producción de los principales componentes del AE y definir las variables que permitan explicar la diversidad química de *Elionurus muticus*. La diversidad de quimiotipos aislados y estudiados en condiciones controladas de cultivo llevó a las grandes bases de datos científicas, donde se almacena la información relacionada con las enzimas involucradas en cada reacción de biosíntesis de un metabolito secundario específico al utilizar claves EC (índice global de descripción de acción enzimática). Las claves EC 1.1.1.183 (GPP (geranil pirofosfato) → geraniol → geranial), EC 4.2.3.25 (GPP → linalol), EC 5.4.4.4 (linalol → geraniol), describen una primera etapa de la ruta del mevalonato, donde se forma el siguiente grupo de compuestos: ocimeno, mirceno, geraniol, genaral, nerol, neral. Cuando estos compuestos no se consolidan, la ruta del mevalonato continúa hacia la formación de sesquiterpenoides (EC 2.5.1.10). Un menor contenido de citral y geraniol se detecta en presencia de monoterpenoides monocíclicos y bicíclicos que se forman también a partir del GPP y sesquiterpenoides formados a partir del FPP (farnesil pirofosfato). El cultivo controlado del espartillo deberá considerar varios aspectos, entre ellos: (a) conviene realizar la multiplicación de manera clonal y evitar la contaminación entre genotipos; (b) no cosechar hojas nuevas o plantas en etapa de floración, pues en esta etapa la concentración de acetato de geranilo (precursor del citral) es mayor, mientras que la de citral es menor; (c) son necesarios mayores estudios sobre fenotipos, y se observan variables como composición del suelo, contenido de nutrientes y método de irrigación, que pueden inducir la inhibición de las enzimas conducentes a la formación de citral o a la activación de enzimas que lleven a la formación de productos competitivos con esas reacciones. Esos factores podrían explicar la

inactivación de la formación de citral y prolongar, en consecuencia, la ruta metabólica hasta la formación de sesquiterpenoides.

VARIABILIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE *ZUCCAGNIA PUNCTATA* CAV. OBTENIDO DE 7 POBLACIONES EN LA REGIÓN NOROESTE ARGENTINO Y CUYO. Catalina M. van Baren¹, Miguel A. Juárez², Paola Di Leo Lira¹, Miguel A. Elechosa², Ana M. Molina², Alejandro J. Martínez² y Arnaldo L. Bandoni¹. ¹Cátedra de Farmacognosia, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. Junín 952, 2° P. (C1113AAD) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. ²Instituto de Recursos Biológicos, CIRN, INTA, Las Cabañas y Los Reseros s/n.º, (1686) Hurlingham, Prov. de Buenos Aires, Argentina. *Autores a quien dirigir la correspondencia: mijuarez@cni.inta.gov.ar; cbaren@ffyb.uba.ar

Zuccagnia punctata Cav. (Leguminosae), “jarilla melosa”, “jarilla macho”, “pus pus”, es un arbusto aromático xerófilo, endémico de la provincia Biogeográfica del Monte (NOA y Cuyo), de unos 3 m de alto, muy ramificado, con flores amarillas, que por su aspecto resinoso y viscosidad es muy parecido a las verdaderas jarillas (*Larrea* spp.), con las cuales convive. Florece desde agosto a marzo y fructifica de noviembre a abril. Fue mencionado como antiséptico pédico, y también como que su aceite esencial tiene actividad antifúngica. El objetivo de este trabajo es determinar la composición del aceite esencial en varias poblaciones del noroeste y Cuyo, las variaciones entre poblaciones y la posible utilidad de sus principios activos. Se colectaron muestras de la parte aérea en floración en 7 poblaciones, algunas a fines de noviembre y otras, a mediados de abril. Los sitios fueron: Salta: Departamentos San Carlos, Angastaco (n.º 1) y La Viña, Tres Cruces (n.º 2 y 3); La Rioja: Departamentos Independencia, Paganzo (n.º 4) y Sanagasta, Pampa de la Viuda (n.º 5); Tucumán: Departamento Taffi del Valle, Amaicha del Valle (n.º 6); Mendoza: Departamento Tupungato, San José (n.º 7); San Juan: Departamento 25 de Mayo, Cuesta de las Vacas (n.º 8). Los aceites esenciales se obtuvieron por hidrodestilación (Clevenger) del material oreado. Los rendimientos sobre la parte aérea oreada variaron entre 0,18 y 0,34 % (v/w). Estos valores son muy superiores a los obtenidos en *Larrea divaricata* Cav., *L. nitida*

Cav. o *L. cuneifolia* Cav. (Zygophyllaceae) en varias poblaciones de la región patagónica (0,01-0,03 %). La composición fue determinada por GC/FID/MS. Se identificaron 55 componentes (79,0-95,2 % del total). La gran mayoría son monoterpenos (oxigenados 27,7-87,2 % e hidrocarburos 4,4-35,4 %). Entre los principales, con una gran variabilidad cuantitativa en todos ellos, se destacan: 5,6-dehidroalcanfor (1,1-56,5 %), *p*-cimen-8-ol (2,3-16,0 %), linalol (0,9-14,5 %), *p*-cimeno (1,6-10,9 %) y 2,4(10)-tuyadieno (0,1-10,0 %). Los 10 componentes principales, así como el subtotal de ellos, y el total identificado en cada muestra, están indicados en la tabla 1. La única población donde se efectuaron dos colectas fue Tres Cruces, ruta 68 hacia Cafayate, en noviembre de 2006 y abril de 2008; destaca el aumento en los contenidos de 5,6-dehidroalcanfor (12,3 a 33,0 %), *p*-cimen-8-ol (5,7 a 16,0 %) y linalol (2,7 a 8,0 %) con significativas disminuciones en los restantes compuestos. Las composiciones de Paganzo y Cuesta de las Vacas responden a un quimiotipo definido “5,6-dehidroalcanfor-linalol” (58,8-71,0 %), no confirmado en las otras muestras. Dada la diversidad cuantitativa detectada se continuarán evaluando poblaciones, para definir los parámetros más útiles en la composición y la calidad de sus aceites esenciales.

ENSAYOS DE CULTIVO DE PLANTINES DE *LIPPIA ALBA* PROVENIENTES DE 5 ORÍGENES EN LA CIUDAD DE LA PLATA. Marcos Blanco¹, Catalina M. van Baren², Jorge Ringuelet^{1*} y Arnaldo L. Bandoni² ¹Cátedra de Bioquímica y Fitoquímica. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. UNLP. 60 y 119 (1900) La Plata. ²Cátedra de Farmacognosia, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. Junín 956, 2° P. (C1113AAD) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. *Autores a quien dirigir la correspondencia: ringuel@gmail.com; cbaren@ffyb.uba.ar La “salvia morada” (*Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, Verbenaceae), es una planta aromática ampliamente distribuida en América y utilizada con distintos objetivos en muchos países de la región, fundamentalmente como medicinal o para la preparación de infusiones. Desde el año 2004 se está ensayando en los alrededores de la ciudad de La Plata el cultivo en escala experimental de esta especie, utilizando estacas provenientes de los siguientes orígenes: Costa Rica (quimiotipo carvona), Uruguay (quimiotipo linalol) (UY), Iquitos (selva tropical de Perú, quimiotipo carvona) (PE) y Argentina (La Plata, quimiotipo citral; Santa Fe, quimiotipo dihidrocarvona) (AR). La elección de los orígenes se basó en los antecedentes

Tabla 1.-

Muestra n.º	1	2	3	4	5	6	7	8
Componentes	%	%	%	%	%	%	%	%
2,4(10)-tuyadieno	5,3	5,3	0,1	0,5	4,4	10,0	0,8	0,4
<i>p</i> -cimeno	6,8	4,5	2,4	6,9	3,8	10,9	8,0	1,6
1,3,5-trimetilbenceno	4,9	4,6	2,0	3,6	1,8	8,7	6,0	0,4
<i>p</i> -cimeneno	4,6	6,0	1,2	1,4	1,6	4,6	4,3	0,6
linalol	5,9	2,7	8,0	10,1	6,7	0,9	1,9	14,5
5,6-dehidroalcanfor	1,1	12,3	33,0	48,7	18,1	4,0	44,2	56,5
neo-iso-tuyanól	3,9	3,4	T	0,5	3,9	0,6	0,9	0,7
<i>p</i> -menta-1,5-dien-8-ol	9,6	7,6	T	0,7	5,5	0,1	0,5	1,8
<i>p</i> -cimen-8-ol	5,1	5,7	16,0	2,3	6,4	11,9	4,5	3,2
2,4,6-trimetilbenzaldehído	6,8	5,0	2,0	3,4	3,2	4,9	4,3	1,1
Subtotal	54,0	57,1	64,7	78,1	55,4	56,6	75,4	80,8
Total identificado	79,8	80,0	85,3	95,2	83,1	79,0	89,5	94,5

existentes sobre la composición química de su aceite esencial que difieren notoriamente entre los quimiotipos. El objetivo de esta investigación es evaluar el comportamiento de los distintos materiales en la zona, para sugerir su posible producción en escala industrial. Se utilizó para esto la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata. Para evaluar la calidad de los aceites esenciales, se colectaron las partes aéreas en marzo de 2012, y se destilaron en trampa Clevenger y un destilador de 100 litros, por arrastre con vapor. Los aceites esenciales fueron analizados por GC/FID/MS. Cabe consignar que el material de Costa Rica se perdió totalmente en 2007, debido a las fuertes heladas de ese invierno, al no adaptarse a los climas y suelos de la ciudad de La Plata (Argentina). En la tabla 1 se presentan los datos obtenidos y los principales compuestos detectados de cada uno de los materiales. En general, los cuatro materiales han mantenido su perfil químico de aceite esencial, salvo el originario de La Plata, donde se observa una reducción en el contenido de citral (neral + geranial) y un incremento significativo de carvona. Se seguirán ensayando los 4 materiales existentes, para evaluar no solo su calidad, sino también su rinde por hectárea en biomasa y aceite esencial.

QUIMIOTIPOS EN LOS ACEITES ESENCIALES DE POBLACIONES NATURALES DE *ALOYSIA CITRIODORA*, *ALOYSIA POLYSTACHYA* Y *CLINOPODIUM GILLIESII*. Miguel A. Juárez^{1*}, Carmen I. Viturro^{2*}, Miguel A. Elechosa¹, Cecilia I. Heit², Ana C. Molina², Alejandro J. Martínez¹ y Ana M. Molina¹. ¹Instituto de Recursos Biológicos, CIRN-INTA, De Los Reseros y Nicolás Repetto s/n.º (1686) Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. ²Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Jujuy. I. Palanca 10. (4600) San Salvador de Jujuy, Jujuy, Argentina. *Autores a quien dirigir la correspondencia: civiturro@fi.unju.edu.ar; mijuarez@cni.inta.gov.ar Este trabajo forma parte del Proyecto INTA PNHFA 064641 sobre caracterización de poblaciones de plantas aromáticas nativas y la introducción al cultivo de los quimiotipos seleccionados por sus aceites esenciales. Se evaluaron 10 poblaciones de *Aloysia citriodora* Palau (“cedrón”), en Salta, Jujuy, Catamarca y Tucumán; 8 poblaciones de *Aloysia polystachya* (Griseb.) Mold. (“burrito”), en Salta, La Rioja, San Luis y Córdoba y 14 poblaciones de *Clinopodium gilliesii* (Benth.) Kuntze (syn. *Satureja parvifolia*), (“muña muña”), en Salta, Jujuy, Tucumán, San Luis, Córdoba y Mendoza, con varias repeticiones en épocas y años distintos. En cada población de “cedrón” se detectaron *in situ* una gran diversidad de aromas, por lo cual se colectó planta

Tabla 1.-

Categoría/origen	Brujas, UY	Santa Fe, AR	La Plata, AR	Iquitos, PE
Peso seco tallos cosechados (g)	374	175,3	190,2	37,6
Peso seco hojas cosechadas (g)	304,4	213,9	404,3	59,1
% de tallo	55,1	45	32	38,8
% de hojas	44,9	55	68	61,2
Rinde de esencia en hojas (% v/p)	1,2	1,7	0,7	1,5
Principales compuestos				
limoneno	0,2	6,7	8,2	26,0
1,8-cineol	6,0	-	-	-
linalol	64,2	0,5	0,8	1,3
carvona	-	0,4	16,7	45,9
beta cariofileno	2,7	3,6	3,8	1,1
cis dihidrocarvona	0,2	32,8	0,2	0,2
trans dihidrocarvona	0,5	37,5	0,2	0,3
neral	0,1	0,3	11,5	tr
germacreno D	3,0	2,9	4,6	7,3
geranial	0,1	0,2	19,5	0,2
Total identificado	90,6	95,6	90,8	93,6

por planta, las ramas terminales en floración, identificándolas según su característica olfativa. En las de “burrito” y “muña muña” se colectaron muestras de la parte aérea en floración de varias plantas, separadas según los aromas *in situ*. Los aceites esenciales se obtuvieron por hidrodestilación –Clevenger– del material oreado con rendimientos variables, en “cedrón” (0,16-1,93 %); “burrito” (0,56-2,52 %) y “muña muña” (0,23-1,93 %). La composición de los aceites esenciales fue determinada por GC/FID/MS. Los valores obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante el Análisis de Agrupamiento con el programa *InfoStat* (www.infostat.com.ar, 2011), utilizando el coeficiente de distancia euclídea y ligamiento Ward, se determinaron los dendrogramas según los principales componentes hallados en cada aceite esencial. Los resultados indican la existencia de 10 quimiotipos en “cedrón”, 7 de ellos en dos poblaciones de Jujuy, según la fuerte predominancia de los componentes principales: *cis* y *trans*-tuyona; citronelal; carvona; *trans*-sabinol; citral y carveol. En las poblaciones de Salta, Catamarca y Tucumán se confirmaron varios y, además, se obtuvieron otros 3 quimiotipos con linalol, *cis* y *trans*-dihidrocarvona y limoneno. En conclusión, de las 36 muestras, solo se determinaron 2 con el quimiotipo citral –muy usado comercialmente–, en cambio, se destacan varios muy interesantes por su composición y posible utilización en la industria aromática, como tuyona (86,2-86,5 %) en San Roque, Jujuy; linalol (82,3-85,1 %) en Mutquín y Colana, Catamarca; carvona (70,9 %) en Chilcayo, Jujuy y citronellal (66,7 %) en Chorrillos, Salta. Los rendimientos de aceite esencial obtenidos en “burrito” destacan la población de Punta de los Llanos, La Rioja (2,52 %). Sobre la base de la composición de los aceites esenciales se confirmó el quimiotipo *cis*-tuyona en las poblaciones de La Rioja (65,4-80,8 %), indicado en otros trabajos, además en las restantes provincias se determinaron otros 3 quimiotipos, carvona (61,0-74,3 %) en Salta; limoneno (41,3 %) en Córdoba y tuyona (41,3 %)-carvona (32,1 %), en San Luis. La composición de las muestras de “muña muña” destaca 5 quimiotipos. Uno de ellos –óxido de piperitenona-piperitenona (46,3-87,2 %)– corresponde a las poblaciones de San Luis (Valle de Pancanta, Carolina, Piedra Bola e Inti Huasi); Jujuy (Tres Cruces) y Mendoza (Los Hornillos). En San Luis los valores obtenidos confirman el quimiotipo de un estudio

anterior. En Salta las 3 poblaciones destacan el quimiotipo terpinen-4-ol (33,8-58,0 %). En Córdoba las poblaciones de Altas Cumbres (pampa de Achala, El Cóndor, Tres Cruces) son tipo pulegona (48,8-72,5 %); mientras que en Tucumán se hallaron 2 quimiotipos, uno en Tafi del Valle con isocitral (38,7 %) y otro, en El infiernillo, con acetato de carvacrilo-carvacrol (74,1 %). Los resultados obtenidos –19 quimiotipos en 32 poblaciones de 3 especies– nos indican la importancia de la preservación del recurso aromático nativo por medio de la conservación, caracterización y utilización sustentables.

ENSAYOS PRELIMINARES DE EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES EMPLEANDO CO₂ SUPERCÁRICO SATURADO CON ETANOL. Noelia Palacios, Rodrigo Rodríguez, Roxana del C. Cabana, José Luis Zacur* y Carmen I. Viturro*. Laboratorio PRONOA, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Jujuy, San Salvador de Jujuy (4600) Argentina. *Autores a quien dirigir la correspondencia: jlzacur@fi.unju.edu.ar, civiturro@fi.unju.edu.ar

Especies aromáticas nativas de zonas áridas y semiáridas del NOA, como *Mutisia friesiana* Cabrera (Asteraceae) y *Clinopodium gilliesii* (Benth.) Kuntze (Lamiaceae), fueron evaluadas en su capacidad antioxidante (Viturro y col., 1999; Cabana y col., 2012). Se aislaron (Viturro y col., 1999) e identificaron (Díaz-Reinoso y col., 2006) compuestos polifenólicos responsables de la actividad, especialmente flavonoles glicosidados y sus agliconas. Resulta de interés indagar sobre las condiciones del proceso supercrítico para la obtención de estos principios antioxidantes, dado que es una área de activa investigación (Díaz-Reinoso y col., 2006). Los metabolitos secundarios en las matrices naturales se presentan en mezclas complejas, que frecuentemente se utilizan como modelos experimentales de comportamiento para simplificar el diseño y la evaluación de la experiencia (Reverchon y De Marco, 2006). En este trabajo se utiliza una mezcla sintética de quercetina y su glicósido, rutina, como caso de estudio. Debido a la baja polaridad del ScCO₂, la obtención de compuestos flavonoides complejos, altamente hidroxilados como la rutina, debe ser efectuada utilizando un cosolvente polar, como el etanol (Chafer y col., 2004). El manejo de las variables de proceso permitiría determinar las condiciones para

lograr rendimiento y selectividad. Se informan los resultados preliminares de ensayos efectuados para extraer una mezcla sintética de rutina y de su aglicona quercetina, empleando una mezcla supercrítica de CO₂ saturado con etanol. El objetivo es determinar si es factible la extracción de ambos compuestos, (como caso de estudio de principios flavonoides) empleando un diseño de proceso particular (acondicionamiento de flujo) como parte de un desarrollo más extenso en este tema. El sistema de extracción consta de un recipiente vertical en el que se deposita la mezcla de flavonoides sólidos, sobre un lecho de algodón a través del cual fluye el fluido supercrítico (FSc). Por encima del depósito, también se rellena la celda de extracción con algodón. Se efectuaron dos tipos de experiencias: una, con el lecho inferior embebido en etanol absoluto. El solvente supercrítico fue una mezcla de ScCO₂ saturado con etanol. La velocidad de flujo de CO₂ permite esa saturación; otra, con el lecho sin embeber si el solvente es solo ScCO₂. Las condiciones del proceso fueron: temperatura: 40 °C, presión: 120 bar, caudal: 0,002 moles ScCO₂/min. La mezcla fue recogida luego de la expansión del FSc, en viales que contenían etanol absoluto en ambos tipos de experiencias. Se determinó cualitativamente la presencia de quercetina y rutina mediante TLC. En las placas desarrolladas se observa que con las condiciones propuestas es factible la obtención de distintas cantidades del glucósido y su aglicona a partir de una mezcla sintética (1:1) de quercetina y rutina, que se solubilizan en el solvente supercrítico modificado en las condiciones de operación definidas. Futuros trabajos en el área estarán orientados a la determinación de las condiciones óptimas de proceso, a la cuantificación de rendimientos y selectividad y a su aplicación a matrices vegetales naturales.

Referencias bibliográficas

- Cabana, R.; Viturro, C.; Salinas, R.; Molina, A. (2010). *Encuentros Binacionales de Jóvenes Investigadores Argentino-Chileno*: 289-292.
- Cabana, R.; Silva, L.; Valentão, P.; Viturro, C.; Andrade, P. (2012). *Phenolic and volatile compounds and biological activity of *Satureja parvifolia* extracts* (en preparación).
- Díaz-Reinoso, B.; Moure, A.; Domínguez, H.; Parajó, J.C. (2006). *J. Agric. Food Chem.* 54: 2441-2469.
- Reverchon, E.; De Marco, I. (2006). *Journal of Supercritical Fluids* 38: 146-166.
- Chafer, A.; Fornari, T.; Berna, A.; Stateva, R.P. (2004). *J. of Supercritical Fluids* 32: 89-96.
- Viturro, C.I.; Molina, A.C.; Schmeda-Hirschmann, G. (1999). *Phytother. Res.* 13: 422-424.

CARACTERÍSTICAS FENOLÓGICAS COMO INDICADORES PRELIMINARES DE ADAPTABILIDAD DE ESPECIES AROMÁTICAS NATIVAS DE REGIONES SEMIÁRIDAS Y ÁRIDAS DE JUJUY. Elizabeth del Valle García^{1*}, Silvia M. Zampini¹, Carmen I. Viturro^{2*} y Ana C. Molina². ¹Facultad de Ciencias Agrarias, UNJu, San Salvador de Jujuy (4600) Jujuy, Argentina. ²PRNOA, Facultad de Ingeniería, UNJu, San Salvador de Jujuy (4600) Jujuy, Argentina. *Autores a quien dirigir la correspondencia: lizgarciasoria@gmail.com; civiturro@fi.unju.edu.ar

El manejo y la preservación de los recursos naturales, en particular la conservación de las especies vegetales y su variabilidad, demanda el estudio de su comportamiento en el ecosistema donde se desarrollan las etapas fenológicas de los vegetales durante su ciclo biológico, a fin de establecer las pautas de multiplicación de la especie. Las especies nativas como *Satureja parvifolia* (Phil.) Epling syn *Clinopodium gilliesii* (Benth.) Kuntze (Lamiaceae) y *Aphyllocladus spartioides* Wedd. (Asteraceae) (Cabrera, 1993), con uso local para antiinflamatorios, antimicrobianos, analgésicos (Viturro y col., 2000), constituyen un importante recurso de materias primas que podrían ser utilizadas en diferentes industrias. El manejo en sistemas de cultivo garantizaría la homogeneidad, la trazabilidad de sus productos y la disponibilidad de biomasa necesaria. Los registros de los diferentes muestreos de material vegetal para las especies en estudio se iniciaron a partir del año 2004 en forma sistemática en diferentes localidades de la quebrada y la puna de la provincia de Jujuy, y en distintas épocas del año. Se procedió en todos los casos a herborizar los ejemplares recolectados. A partir de 2011 se procedió a la multiplicación agámica de especies en estudio seleccionadas en fases de floración y fructificación. Se realizó en el invernáculo de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNJu. Se partió de estacas de 10 cm de longitud y el diámetro de un lápiz, en macetas individuales utilizando como sustrato una mezcla de arena cernida, tierra vegetal, turba y perlita. Las estacas fueron

sumergidas, en su parte basal, en alfa-naftalen acético al 0,3 %. Se registró el comportamiento fenológico de las especies durante el ciclo biológico. Las etapas fenológicas registradas para las dos especies fueron brotación, crecimiento vegetativo, reposo invernal, inicio de floración, floración y fructificación (Moreira y Arnáez, 1995). Para *Satureja parvifolia* en estado silvestre se observa en una misma localidad, en distintos años, diferencia en la cronología de la manifestación de la etapa reproductiva probablemente debidas a causas climáticas. Se observa diferencias en las fechas de manifestación de las etapas de brotación y floración en las poblaciones en estado silvestre respecto a las de ambiente controlado, y un adelanto para ambas etapas en las plantas en adaptación, lo que indicaría un incremento de la biomasa durante el ciclo estudiado.

Para *Aphyllocladus spartioides* en estado silvestre se observa un adelanto de la etapa reproductiva en las zonas de menos altura. En condiciones controladas durante 2 ciclos anuales no se manifiesta la etapa reproductiva y se observa siempre escasa producción de biomasa. Es importante el estudio del comportamiento químico de las especies en adaptación por medio de la cuantificación de las variables correspondientes y la medición de la actividad biológica, que efectuaremos en cuanto se disponga de suficiente biomasa.

Referencias bibliográficas

- Cabrera, A L. (1993). *Flora de la provincia de Jujuy*, tomo XIII, parte IX: 147-149.
- Vituro, C.I. y col. (2000). *XXIV Congreso Latinoamericano de Química*. P N: 14.
- Moreira, I.; Arnáez, E. (1995). *Simposio Latinoamericano de semillas*. 123-130.

Dominguezia

Índice acumulado

Dominguezia 27(1) 2011

Anatomía foliar de arbustos y árboles medicinales de la región chaqueña semiárida de la Argentina (ANA M. ARAMBARRI, MARÍA C. NOVOA, NÉSTOR D. BAYÓN, MARCELO P. HERNÁNDEZ, MARTA N. COLARES Y CLAUDIA MONTI)

Digestión ruminal *in vitro* y análisis micrográfico de la planta tóxica *Wedelia glauca* (Ort.) Hoffm. ex Hicken (Asteraceae) (PEDRO A. ZEINSTEGER, ALBERTO A. GURNI Y ALEJANDRO PALACIOS)

El aceite esencial de tallos y hojas de *Schinus patagonicus* (Phil.) Johnst. en el ecotono de la Patagonia, Argentina (SILVIA B. GONZÁLEZ, PEDRO E. GUERRA, CATALINA M. VAN BAREN, PAOLA DI LEO LIRA Y ARNALDO L. BANDONI)

A *garrafada* na medicina popular: uma revisão historiográfica (MARIA THEREZA LEMOS DE ARRUDA CAMARGO)

Bell, Stephen (2010). *Life in shadow. Aimé Bonpland in Southern South America, 1817-1858* (GUSTAVO C. GIBERTI)

Dominguezia 27(2) 2011

Etnobotánica médica de las “ligas” (Loranthaceae *sensu lato*) entre indígenas y criollos de Argentina (GUSTAVO F. SCARPA Y MARÍA C. MONTANI)

Caracterización de harinas de chía (*Salvia hispanica* L.) comercializadas en Rosario (Santa Fe, Argentina) (CARLOS PÉRIGO, MARCOS CASES, MIRIAN BUENO, OSVALDO DI SAPIO, HÉCTOR BUSILACCHI Y CECILIA SEVERIN)

Smilax campestris Griseb. –Smilacaceae–: variaciones en la producción de polifenoles en hojas sanas y atacadas por la oruga de la mariposa *Agraulis vanillae* L. –Heliconidae– (ANA Z. RUGNA, RAFAEL A. RICCO, ALBERTO A. GURNI Y MARCELO L. WAGNER)

Evaluación farmacopeica de la calidad de drogas vegetales y productos relacionados. Estado actual en las farmacopeas argentina y brasilera (ARNALDO L. BANDONI)

Herbario de plantas usuales del Paraguay y nordeste argentino atribuido a Domingo Parodi Museo de Farmacobotánica “Juan A. Domínguez” (GUSTAVO C. GIBERTI)

Dominguezia 28(1) 2012

Acerca del “quintral” (ALBERTO A. GURNI)

Aspectos anatómicos del leño y composición de los aceites esenciales de especies arbustivo-leñosas del ecotono y la estepa del noroeste de la Provincia del Chubut (PEDRO E. GUERRA, SILVIA B. GONZÁLEZ, HELGA J. KIRNER, DAIANA S. RETTA, PAOLA DI LEO LIRA Y MARIANO F. GÓMEZ)

El baile de máscaras de los significados (ALICIA M. ZORRILLA)