

Dominguezia

Museo de Farmacobotánica
"Juan A. Domínguez"

Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires



Viscum album L. (Santalaceae)

Dominguezia

Vol. 36(1) - 2020

Director Responsable:

Dr. Marcelo Luis Wagner

Comisión Redactora:

Dr. Arnaldo L. Bandoni
Dr. Alberto A. Gurni
Dr. Marcelo L. Wagner

Comisión Científica Asesora:

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. Lionel G. Robineau (Universidad de las Antillas y de la Guyana)
Dr. Carlos Taira (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. Edda 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. Otmaro Rosés (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. María L. Tomaro (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. Etile Spegazzini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)

Editores Científicos:

Dr. Ignacio J. Agudelo
Dra. Graciela B. Bassols
Dra. Cecilia B. Dobrecky
Dr. José María Prieto-García
Dr. Rafael A. Ricco
Dra. Catalina M. van Baren
Dra. Beatriz G. Varela

Secretaría, Edición Electrónica y Webmaster:

Fernando Gabriel Ranea

Edición financiada por
el **Museo de Farmacobotánica “Juan Aníbal Domínguez”** y la **Cátedra de Farmacobotánica**,
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
Pharmaceutical Botany, Pharmacobotany or related subjects.

Lámina de Tapa:
Viscum album L. (Santalaceae)
Flora von Deutschland Österreich und der Schweiz (1885)
Otto Wilhelm Thomé

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 SISBI, BVS MTCI Americas, CABI, LIS, UBL, PKP Index, Electronic Sites of Leading Botany, Plant Biology and Science Journals.
Providing links to the world's electronic journals.

Registro de la Propiedad Intelectual N° 5353064.

Se terminó de editar en junio de 2020.

Índice de contenido

Perfiles de polifenoles en <i>Ligaria cuneifolia</i> (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae), su estudio mediante electroforesis capilar y su relación con la actividad antioxidante. Parte I: caracterización fitoquímica Cecilia B. Dobrecky	5
Caracterización micrográfica del fruto de <i>Punica granatum</i> L. y su importancia en el control de calidad botánico Leila A. Gimenez, Beatriz G. Varela, Nilda D. Vignale, Alberto A. Gurni	11
Estudio farmacobotánico, etnofarmacológico y microográfico de drogas vegetales utilizadas para las afecciones cardiovasculares y respiratorias comercializadas en la ciudad de Posadas, Misiones, Argentina. Parte I Carlos G. Altamirano, Marta E. Yajía	17
Presencia de <i>Baccharis spicata</i> (Lam.) Baill. en muestras comerciales rotuladas como “carqueja” adquiridas en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires Ignacio J. Agudelo, Beatriz G. Varela, Marcelo L. Wagner, Rafael A. Ricco	25
Valoración de la actividad de extractos acuosos de diferentes órganos vegetativos de <i>Jodina rhombifolia</i> (Santalaceae) sobre la excreción volumétrica urinaria de ratas Wistar Mauricio R. Teves, Graciela H. Wendel	31

Index

- Polyphenolic profile of *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae), through capillary electrophoresis analysis and its relationship with the antioxidant activity
Part I. Phytochemical characterization 5
Cecilia B. Dobrecky
- Micrographic characterization of *Punica granatum* L. fruit and its importance in botanical quality control 11
Leila A. Gimenez, Beatriz G. Varela, Nilda D. Vignale, Alberto A. Gurni
- Pharmacobotanical, ethnopharmacological and micrographic study of vegetable drugs used for the affections of greater index of mortality, commercialized in the City of Posadas, Misiones, Argentine. Part I. 17
Carlos G. Altamirano, Marta E. Yajía
- Presence of *Baccharis spicata* (Lam.) Baill. in commercial samples labeled as “carqueja” purchased in the City of Buenos Aires 25
Ignacio J. Agudelo, Beatriz G. Varela, Marcelo L. Wagner, Rafael A. Ricco
- Assessment of the aqueous extracts activity of different vegetative organs of *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae) on urinary volumetric excretion of Wistar rats 31
Mauricio R. Teves, Graciela H. Wendel

Variación de los perfiles de polifenoles en *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh (Loranthaceae), su estudio mediante electroforesis capilar y su relación con la actividad farmacológica.

Cecilia B. Dobrecky

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Cátedra de Farmacobotánica y Cátedra de Tecnología Farmacéutica I. Junín 956, Buenos Aires, Argentina.

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

Compendio de tesis

Lugar y fecha de aprobación de la tesis: Museo de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

Fecha: 1 de marzo de 2016.

Resumen

Ligaria cuneifolia (R. et P.) Tiegh. —Loranthaceae— es una especie hemiparásita que se desarrolla sobre diferentes hospedantes. Es conocida con el nombre vulgar de “liga” o “liguilla”. Debido a su similitud morfológica, constituye el sustituto natural del “muérdago europeo”, por lo cual es denominado “muérdago criollo”. Las drogas vegetales son matrices complejas en las cuales múltiples componentes actúan en forma sinérgica y son responsables de la acción farmacológica. Con el fin de dar sustento científico al uso folclórico de *L. cuneifolia* se estudiaron distintas formas de obtención de los extractos, se evaluaron diferentes hospedantes y regiones fitogeográficas. Se desarrolló y validó un método de electroforesis capilar para construir *fingerprints* o perfiles cromatográficos característicos que permitan evaluar los distintos componentes con el fin de estandarizar los extractos. Se efectuó la comparación con otras técnicas cromatográficas, tales como en cromatografía en capa delgada (TLC) y líquida de alta resolución (HPLC). A su vez, se procedió al aislamiento, purificación y análisis estructural de los compuestos de interés por técnicas espectroscópicas y cromatográficas. Se identificaron diez compuestos, de los cuales cuatro son reportados por primera vez en esta especie. La electroforesis capilar probó ser una técnica adecuada para el control de calidad de los extractos y una alternativa atractiva a las técnicas cromatográficas tradicionales.

Polyphenolic profile variation in *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh (Loranthaceae), capillary electrophoretic analysis and its relationship with the pharmacological activity

Summary

Ligaria cuneifolia (R. et P.) Tiegh. —Loranthaceae— is a hemiparasite plant which grows on different host trees. It is popularly referred to as “liga” or “liguilla”. Due to its morphological similarity, it is considered as the natural substitute for the European mistletoe, for which is known as the “Argentine mistletoe”. Herbal drugs are complex matrices in which multiple components acting synergistically are responsible for the pharmacological activity. In order to provide scientific support to the popular use of *L. cuneifolia*, a capillary electrophoretic method was developed and validated to build a chromatographic profile or fingerprint that allows the evaluation of different components for extract standardization. A comparison was made with other chromatographic techniques such as TLC and HPLC. Isolation, purification and structural analysis of compounds were performed by chromatographic and spectroscopic methods. Ten analytes were identified, four of which are reported for the first time in *L. cuneifolia*. Capillary electrophoresis proved to be an appropriate tool for the quality control of herbal drugs, as well as an attractive alternative to traditional chromatographic techniques.

Palabras clave: *Ligaria cuneifolia* - flavonoides - electroforesis capilar.

Key words: *Ligaria cuneifolia* - flavonoids - capillary electrophoresis.

Introducción

Ligaria cuneifolia (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae) es una especie hemiparásita vulgarmente conocida con el nombre de “muérdago criollo”, “liga” o “liguilla”. Es una especie sudamericana que se encuentra en Perú, Bolivia, Argentina, Chile, Brasil y Uruguay. En la Argentina presenta una gran dispersión; se extiende desde Salta y Jujuy, en el Norte, hasta La Pampa en el Sur, y desde Entre Ríos y al noreste de Buenos Aires hasta la precordillera andina (Varela y col., 2001).

Son plantas hemiparásitas que se desarrollan sobre vástagos leñosos, dependen del hospedante para vivir, de donde obtienen el agua y los nutrientes minerales; son organismos fotosintetizadores ya que producen sus propios carbohidratos.

Por su condición de hemiparásitas, en general están desprovistas de raíces; al germinar la semilla da lugar a un disco de adhesión en el hipocótilo que le permite aferrarse a la superficie de las ramas y de los tallos del hospedante. Luego generan un cono de penetración que crece entre los tejidos hasta llegar al xilema por donde circulan el agua y las sales (Abbiatti, 1946; Becker, 1986; Luther y col., 1987).

Esta especie es utilizada popularmente como agente hipotensor y, debido a su similitud morfológica, constituye el sustituto natural del “muérdago europeo” (*Viscum album* L. –Santalaceae–). *L. cuneifolia*, al igual que las otras especies de la familia Loranthaceae, son ricas en flavonoides, especialmente flavonoles, compuestos que podrían ser determinantes de su acción biológica.

Los flavonoles reportados en *L. cuneifolia* corresponden a derivados glicosilados de quercetina mientras que las proantocianidinas se encuentran representadas fundamentalmente, por la catequina y sus derivados poliméricos.

Tradicionalmente, la determinación del perfil de polifenoles se ha realizado por HPLC acoplado a distintos detectores. Sin embargo, la electroforesis capilar se ha posicionado como una metodología atractiva dada su gran versatilidad y el mínimo consumo de muestra y solventes utilizados, por lo cual no sólo es una opción más económica, sino que representa la alternativa “verde” a las técnicas cromatográficas convencionales. En este sentido, resulta adecuada para un sinnúmero de aplicaciones, entre ellas, la construcción de *fingerprints* característicos, el control de calidad de los extractos y la comparación de perfiles correspondientes a ejemplares de distinto estado fenológico y zonas fitogeográficas, entre otras.

Por lo anteriormente mencionado, resulta indispensable proceder a la caracterización de los extractos de *L. cuneifolia* a fin de determinar el *fingerprint* de los polifenoles y dar sustento científico al uso folclórico de esta especie (Dobrecky, 2016).

Objetivos

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivos generales

- Proceder al aislamiento, la identificación y la caracterización de los flavonoides presentes en *L. cuneifolia*.
- Estudiar la variación en el perfil de los flavonoides mediante la electroforesis capilar.

Objetivos específicos

- Efectuar la dilucidación estructural de los compuestos presentes en la fracción acetato de etilo, mediante la aplicación de cromatografía líquida acoplada a masa con posterior fragmentación de los iones moleculares de interés y RMN.
- Realizar un estudio poblacional, mediante el análisis de la variación en los perfiles de los flavonoides de la fracción acetato de etilo de acuerdo con la parte estudiada y el hospedante, por medio de distintas técnicas cromatográficas.
- Desarrollar una metodología analítica por electroforesis capilar para el estudio de los flavonoides presentes en la fracción acetato de etilo.
- Comparar los perfiles obtenidos con el método por HPLC.
- Desarrollar un método de control de calidad, mediante la construcción de *fingerprints* característicos (perfiles cromatográficos que sirven como marcas de reconocimiento específico).

Desarrollo experimental

La recolección de los ejemplares de *L. cuneifolia* se realizó en la localidad de Barreal, departamento de Calingasta, provincia de San Juan (1478 ms.n.m. 31° 28' S - 69° 25' O).

Los hospedantes fueron *Prosopis flexuosa* D.C., *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz (Leguminosae) y *Geoffroea decorticans* (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart (Leguminosae). Sobre estos ejemplares se realizaron los principales ensayos de aislamiento, identificación y caracterización de los flavonoides. También se trabajó con una muestra comercial de la provincia de San Juan.

A fines comparativos, se efectuó una recolección de ejemplares en la provincia de Catamarca en la localidad de Puerta de San José, Departamento de Belén (1450 ms.n.m. 27° 33' S - 67° 01' O). Los hospedantes analizados fueron *Olea europea* L. (Oleaceae) (“olivo”), *Bulnesia retama* (Gillies ex Hook. & Arn.) Griseb. (Zygophyllaceae) (“retamo”) y leguminosas tales como *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz (“algarrobo”), y *Geoffroea decorticans* (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart (“chañar”).

Tabla 1.- Esquema de trabajo para la obtención de los diferentes extractos

Región	San Juan					Catamarca				
Muestra	Muestra comercial	Material colectado					Material colectado			
Hospedante	-	<i>Prosopis</i> y <i>Geoffroea</i>					Chañar	Algarrobo	Olivo	Retama
Parte usada	Hoja	Hoja			Tallo		Planta entera			
Extracto	MeOH 100 %	MeOH comb.	MeOH 100 %	MeOH 80 %	MeOH 50 %	MeOH comb	MeOH 100 %	MeOH 100 %	MeOH 100 %	MeOH 100 %
Fracción		AE	AE	AE	AE	AE				

El muestreo fue representativo de las áreas de distribución natural, durante las épocas de floración y posfloración (entre octubre y noviembre), en estadios fenológicos específicos. Se recolectó material silvestre y una muestra comercial de la provincia de San Juan. Las partes analizadas incluyeron hojas y tallos herbáceos. En el caso de las muestras de Catamarca, se utilizó la planta entera.

Se evaluaron distintos procedimientos de extracción del material vegetal. Se tomó una muestra representativa debidamente desecada y molida de hojas y tallos herbáceos o de la planta entera, según el caso. Se realizó una limpieza del material para eliminar grasas y clorofilas con hexano y diclorometano. Posteriormente, el material fue sometido a extracciones sucesivas con mezclas de metanol-agua (100, 80 y 50 %), de manera de asegurar el agotamiento del material. El solvente orgánico fue eliminado mediante el evaporador rotatorio y las fracciones acuosas se reunieron para realizar particiones ulteriores con acetato de etilo y

butanol. Al finalizar el procedimiento se obtuvieron entonces 3 fracciones: acetato de etilo, butanólica y acuosa.

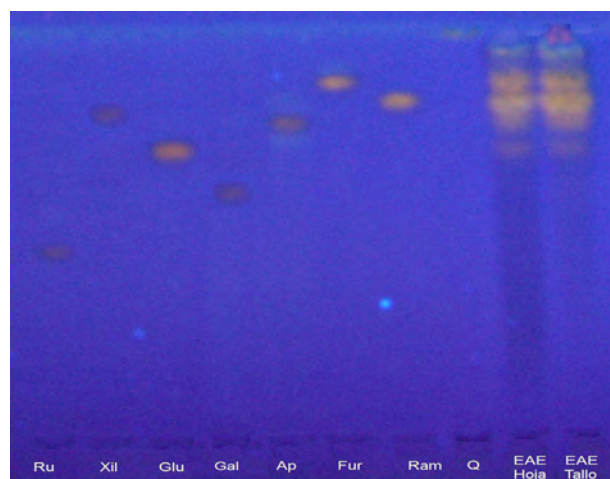
En los 3 casos se procedió a eliminar el solvente orgánico mediante evaporador rotatorio y el residuo obtenido se pesó y se conservó en recipiente adecuado y a 4 °C para futuros ensayos. Los estudios que a continuación se detallan, se centrarán sobre la fracción acetato de etilo.

A efectos comparativos en lo referente al perfil de flavonoides, también se analizaron las fracciones acetato de etilo individuales obtenidas a partir de metanol puro y de las mezclas MeOH-agua 80 % y 50 %, respectivamente (Tabla 1).

Luego de la obtención de las distintas fracciones, se procedió a la determinación del contenido de polifenoles por espectroscopía UV (Dobrecky, 2016). Para todas las determinaciones se observa que los mayores valores corresponden a la fracción acetato de etilo obtenida a partir de los ejemplares de San Juan, que representa una porción enriquecida en polifenoles y, especialmente, flavonoides.

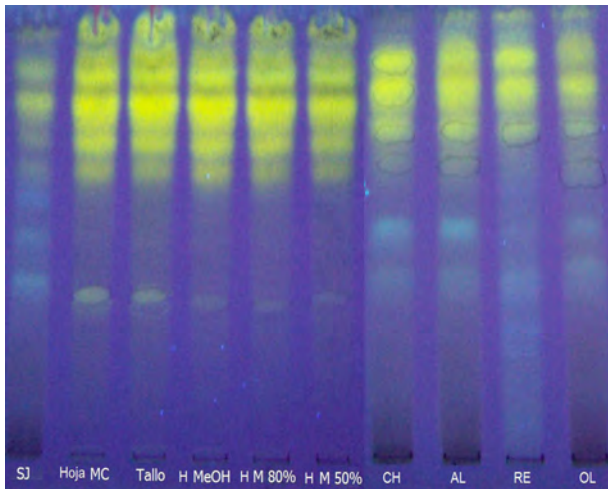
Figura 1.- Cromatografía bidimensional de la fracción acetato de etilo de San Juan

Fase estacionaria: celulosa Polygram Cel300. **Fase móvil:** butanol-AcH-agua (6:1:2) (primera dimensión); AcH 15 % (segunda dimensión). **Detección:** UV 254 y 366 nm. **Revelador:** NP y visualización UV 366 nm.

Figura 2.- Cromatograma unidireccional de la fracción "MeOH combinado AE"

Fase estacionaria: sílica gel 60 F254. **Fase móvil:** acetato de etilo-ácido fórmico-ácido acético glacial-agua (100:11:11:26). **Testigos:** Ru, rutina; Xil, quercetina-3-O-xilósido; Glu, quercetina-3-O-glucósido; Ap, quercetina-3-O-arabinopiranosido; Fur, quercetina-3-O-arabinofuranósido; Ram (quercetina-3-O-ramnósido; Q, quercetina. **Detección:** UV 254 y 366 nm. **Revelador:** NP y visualización UV 366 nm.

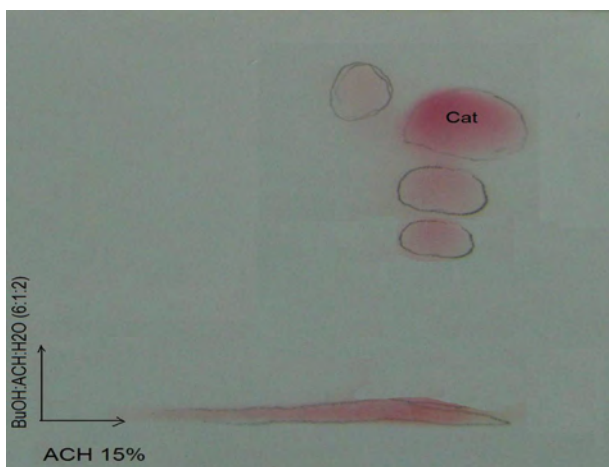
Figura 3.- Estudio comparativo de las muestras de San Juan y Catamarca



Muestras San Juan (calles 1 a 6). **SJ:** muestra comercial de San Juan; **Hoja MC:** hoja metanol combinado; **Tallo:** tallo metanol combinado; **H MeOH:** hoja metanol; **H M 80 %:** hoja metanol 80 %; **H M 50 %:** hoja metanol 50 %. Muestras de Catamarca (calles 7 a 10). Extractos metanólicos de distintos hospedantes. **CH:** chañar; **AL:** algarrobo; **RE:** retama; **OL:** olivo.

Dentro de este grupo, los valores más altos se corresponden con la fracción acetato de etilo obtenida a partir de las extracciones sucesivas con metanol y combinaciones de metanol-agua, que permiten un agotamiento eficiente del material vegetal. Además, la hoja presenta mayor contenido de polifenoles. En cuanto a las muestras de Catamarca, la mayor variabilidad se presenta en los ejemplares que se desarrollan sobre “retama”, para los cuales se obtienen valores significativamente disminuidos de taninos condensados y totales y los más altos del grupo para flavonoides totales.

Figura 4.- Cromatograma bidimensional de la fracción “MeOH combinado-AE”



Fase estacionaria: celulosa Polygram Cel300. **Fase móvil:** butanol-ácido acético-agua (6:1:2) (primera dimensión) y ACH 15 % (segunda dimensión). **Muestras:** fracción “MeOH combinado AE”. **Revelador:** vainillina/ácido clorhídrico.

También se analizaron los perfiles de polifenoles por cromatografía en capa delgada. Los distintos sistemas utilizados incluyeron cromatografías bidimensionales y unidireccionales en distintos soportes (principalmente, celulosa y sílica gel) y combinaciones de solventes. Estos permitieron evaluar la presencia de glicósidos de quercetina (Figuras 1-3) y de proantocianidinas (Figuras 4 y 5).

Uno de los objetivos principales del trabajo de tesis consistió en desarrollar y optimizar un método de electroforesis capilar que permitiera la construcción de *fingerprints* característicos de la especie.

Las condiciones del método optimizado fueron las siguientes (Dobrecky y col., 2017):

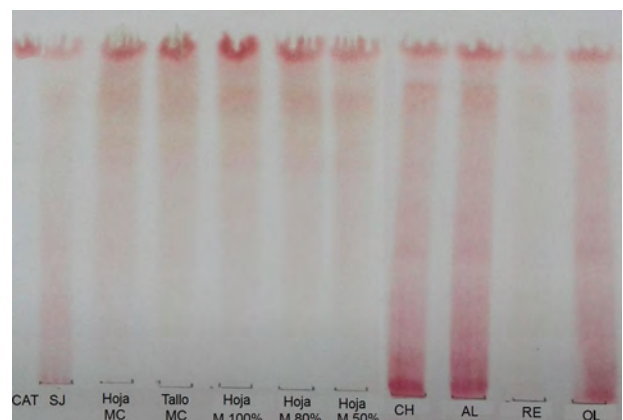
- Capilar: 60 cm (50 cm al detector) y 75 μ m de diámetro interno
- Voltaje: 20 kV
- Temperatura de corrida: 25 $^{\circ}$ C
- Temperatura del rack: 10 $^{\circ}$ C
- Inyección: hidrodinámica, 3 seg, 0,3 psi
- Detección: UV-DAD 255 y 280 nm
- BGE (electrolito): buffer borato 20 mM pH 8,3; SDS 50 mM; β -CD 5 mM; β -CD sulfatada 2 % P/V y MeOH 10 %
- Solución diluyente: buffer borato 20 mM pH 7 diluido 1/10 en agua

Se trabajó a dos longitudes de onda para la determinación de los glicósidos de flavonoles (255 nm) y los taninos condensados (280 nm) (Figuras 6 y 7).

En todos los métodos evaluados, fue posible detectar la presencia de cuatro compuestos desconocidos. A fin de determinar la identidad de estos, se procedió al aislamiento y purificación tales analitos, al análisis por espectroscopía de masa acoplada a HPLC y RMN.

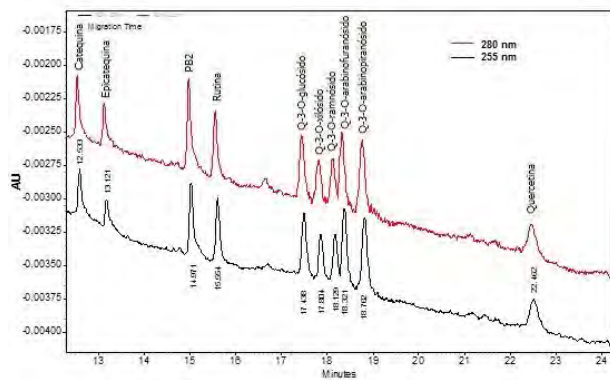
El análisis por HPLC-MS/MS (Q-TOF ESI-MS/MS)

Figura 5.- Cromatograma de las muestras estudiadas



CAT: catequina; **SJ:** San Juan comercial; **Hoja MC:** hoja metanol combinado; **Tallo MC:** tallo metanol combinado; **Hoja M 100 %:** hoja metanol 100 %; **Hoja M 80 %:** hoja metanol 80 %; **Hoja M 50 %:** Hoja metanol 50 %; **CH:** chañar; **AL:** algarrobo; **RE:** retama; **OL:** olivo. **Fase estacionaria:** sílica gel 60 F254. **Fase móvil:** acetato de etilo-ácido fórmico-ácido acético glacial-agua (100:11:1:26). **Revelador:** vainillina/ácido clorhídrico.

Figura 6.- Solución mezcla de testigos (255 y 280 nm)

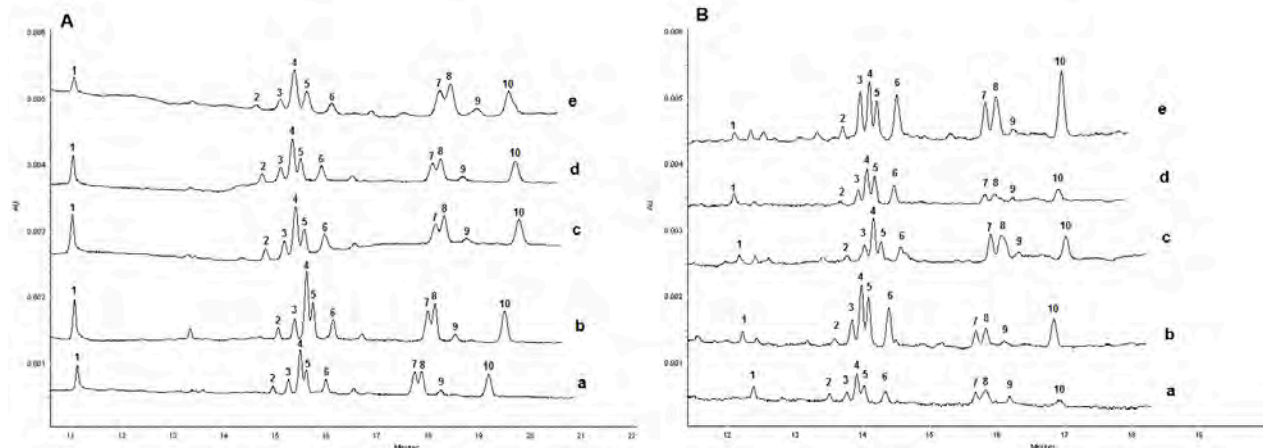


PBZ: procianidina Bz; **Q-3-O-glucósido:** quercetina-3-O-glucósido; **Q-3-O-xilósido:** quercetina-3-O-xilósido; **Q-3-O-ramnósido:** quercetina-3-O-ramnósido; **Q-3-O-arabinofuranósido:** quercetina-3-O-arabinofuranósido; **Q-3-O-arabinopiranosido:** quercetina-3-O-arabinopiranosido.

permitió comprobar la existencia de dos compuestos con $[M+H]^+601$ y otro par con $[M+H]^+587$. Luego de efectuar la fragmentación de estos iones moleculares, se detectó la presencia de un fragmento de m/z 303 consistente con la presencia de quercetina como aglicón y de un fragmento de m/z 153, correspondiente al ácido gálico. El resto de la molécula se compone de dos azúcares distintos: en el caso del ion molecular de 601, ramnosa y en el de 587, una pentosa (presumiblemente arabinofuranosa o arabinopiranososa). Por otra parte, el análisis por RMN permitió determinar la estructura definitiva, en lo que refiere a la posición de los sustituyentes, el tipo de azúcar asociado y la presencia del ácido gálico (Dobrecky, 2016).

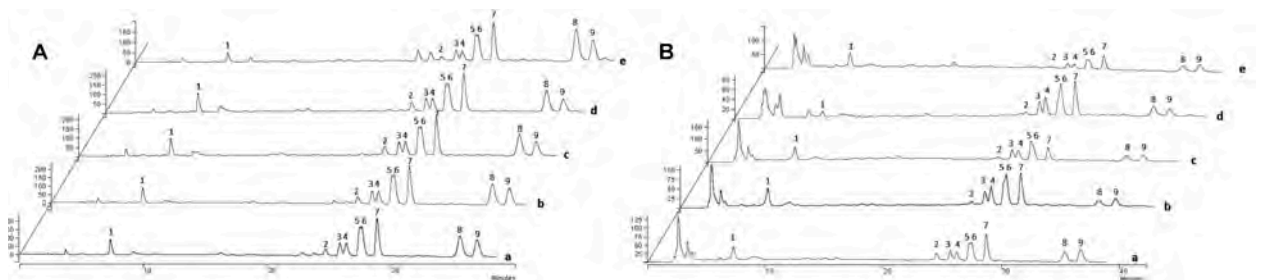
La combinación de todas las técnicas permitió la identificación de 4 compuestos que no habían sido previamente reportados en esta especie, a saber: quercetina-3-O-(2''-galoil) ramnósido, quercetina-3-O-(3''-galoil)

Figura 7.- Electroferogramas de los perfiles comparativos de las muestras de San Juan y Catamarca



A: fracción acetato de etilo de San Juan. **a-d:** hoja; **e:** tallo; **a:** extracto metanólico combinado; **b:** MeOH 100 %; **c:** MeOH 80 %; **d:** MeOH 50 %; **e:** extracto metanólico combinado. **B:** extractos metanólicos de Catamarca y muestra comercial de San Juan. **a:** muestra comercial; **b-e:** muestras de Catamarca sobre diferentes hospedantes; **b:** *Geoffroea decorticans*; **c:** *Olea europaea*; **d:** *Bulnesia retama*, **e:** *Prosopis chilensis* y *Prosopis flexuosa*. **1:** Catequina; **2:** Q-3-O-G; **3:** Q-3-O-X; **4:** Q-3-O-Rh; **5:** Q-3-O-AF; **6:** Q-3-O-AP; **7:** Q-3-O-(2''-galoil) ramnósido; **8:** Q-3-O-(3''-galoil) ramnósido; **9:** Q-3-O-(2''-galoil) arabinofuranósido; **10:** Q-3-O-(2''-galoil) arabinopiranosido.

Figura 8.- cromatograma de los perfiles comparativos de San Juan y Catamarca



A: fracción acetato de etilo de San Juan. **a-d:** hoja; **e:** tallo; **a:** extracto metanólico combinado; **b:** MeOH 100 %; **c:** MeOH 80 %; **d:** MeOH 50 %; **e:** extracto metanólico combinado. **B:** extractos metanólicos de Catamarca y muestra comercial de San Juan. **a:** muestra comercial; **b-e:** muestras de Catamarca sobre diferentes hospedantes; **b:** *Geoffroea decorticans*; **c:** *Olea europaea*; **d:** *Bulnesia retama*, **e:** *Prosopis chilensis* y *Prosopis flexuosa*. **1:** Catequina; **2:** Q-3-O-G; **3:** Q-3-O-X; **4:** Q-3-O-AP; **5:** Q-3-O-AF; **6:** Q-3-O-(2''-galoil) arabinopiranosido; **7:** Q-3-O-Rh; **8:** Q-3-O-(2''-galoil) ramnósido; **9:** Q-3-O-(3''-galoil) ramnósido.

ramnósido), quercetina-3-O-(2''-galoil) arabinofuranósido, quercetina-3-O-(2''-galoil) arabinopiranosido.

A efectos comparativos, se corrieron las muestras por HPLC. El método consistió en:

- Columna Luna Phenomenex C18 (2); 250 x 4,6 mm (5 µm)
- Flujo: 1,2 ml/min
- Temperatura: 40 °C
- Volumen de inyección: 20 µl
- Detección: UV-DAD 260 y 280 nm
- Fase móvil: AcH-Agua (2:98); AcH-MeOH (2:98) (Tabla 2)

El sistema no permitió detectar la quercetina-3-O-β-D-(2''galoil)-arabinofuranósido, que probablemente coeluye con otro pico. Esto permitió comprobar la mayor selectividad del método de electroforesis capilar, que separó efectivamente todos los compuestos en estudio (Figura 8).

Conclusiones

Ligaria cuneifolia, al igual que otras especies de la familia Loranthaceae, es rica en flavonoides, especialmente flavonoles que podrían ser determinantes de su actividad farmacológica. Posee, además, una amplia distribución geográfica y crece sobre distintos hospedantes, por lo cual un efectivo control de calidad se hace indispensable.

Se desarrolló un método por electroforesis capilar que permitió establecer marcas de reconocimiento específico o *fingerprints* para la estandarización de los extractos. Esta metodología fue comparada con otras técnicas cromatográficas. La electroforesis capilar demostró ser una alternativa atractiva por su alta eficiencia de separación, costo reducido por su bajo consumo de solvente, lo cual la hace ecológicamente amigable, además, por la mínima cantidad de muestra requerida y los tiempos de análisis reducidos. Por todo lo expuesto, la electroforesis capilar puede ser utilizada eficientemente para el control de calidad de los extractos de *Ligaria cuneifolia*.

Los flavonoides presentes en los extractos pudieron ser identificados por medio de técnicas cromatográficas y espectroscópicas (RMN y masa). Se determinó la presencia de quercetina-3-O-β-D-xilósido, quercetina-3-O-β-D-glucósido, quercetina-3-O-α-L-arabinopiranosido, quercetina-3-O-α-L-arabinofuranósido, quercetina-3-O-α-L-ramnósido y catequina. Estos coinciden con hallazgos previos (Wagner, 1993; Vattuone y col., 2014).

Por otro lado, se determinó por primera vez en esta especie la presencia de quercetina-3-O-α-L-(2''galoil)-ramnósido, querce-

Tabla 2- Condiciones del gradiente

Tiempo (m)	AcH-Agua (%)	AcH-MeOH (%)
0	85	15
25	60	40
50	60	40
60	15	85
65	0	100

tina-3-O-α-L-(3''galoil)-ramnósido, quercetina-3-O-α-L-(2''galoil)-arabinopiranosido y quercetina-3-O-α-D-(2''galoil)-arabinofuranósido.

Referencias bibliográficas

- Abbiatti, D. (1946). "Las Lorantáceas Argentinas". *Rev. Mus. La Plata* (N. S.), Sec.Bot. 7: 1-110.
- Becker, H. (1986). "Botany of European Mistletoe (*V. album* L.)". *Oncology* 43 (1): 2-7.
- Dobrecky, C.; Moreno, E.; Garcés, M.; Lucangioli, S.; Ricco, R.; Eveson, P.; Wagner, M. (2014). "Contenido de polifenoles en *Ligaria cuneifolia* y su relación con la capacidad antioxidante". *Dominguezia* 30 (2): 35-39.
- Dobrecky, C. (2016). "Variación de los perfiles de polifenoles en *Ligaria cuneifolia*, su estudio mediante electroforesis capilar y su relación con la actividad farmacológica". *Tesis Doctoral*. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. http://repositorioubas.sisbi.uba.ar/gsd/collect/posgraafa/index/assoc/HWA_1402.dir/1402.PDF
- Dobrecky, C.; Flor, S.; López, P.; Wagner, M.; Lucangioli, S. (2017). Development of a novel dual CD-MEKC system for the systematic flavonoid fingerprinting of *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh-Loranthaceae-extracts. *Electrophoresis* 38 (9-10): 1292-1300.
- Luther, P.; Becker, H. (1987) *Die Mistel-Botanik, Lektine, medizinische Anwendung*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.
- Varela, B.G.; Fernández, T.; Taira, C.; Zolezzi, P.C.; Ricco, R.A.; Caldas López, E.; Álvarez, E.; Gurni, A.A.; Hajos, S.; Wagner, M.L. (2001). "El 'muérdago criollo', *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh-Loranthaceae-. Desde el uso popular hacia el estudio de los efectos farmacológicos". *Dominguezia* 17 (1): 31-50.

Caracterización micrográfica del fruto de *Punica granatum* y su importancia en el control de calidad botánica

Leila A. Gimenez^{1*}, Beatriz G. Varela², Nilda D. Vignale¹, Alberto A. Gurni¹

1. Universidad Nacional de Jujuy. Facultad de Ciencias Agrarias. San Salvador de Jujuy, República Argentina.

2. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Cátedra de Farmacobotánica. Buenos Aires, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: gimenezleila94@gmail.com

Resumen

Punica granatum L., "granada", es una fruta tropical que se consume tanto fresca como procesada, y su cáscara en infusiones. El presente trabajo tiene por objetivo definir los caracteres micrográficos de valor diagnóstico para efectuar el control de calidad botánico de productos alimenticios y farmacobotánicos derivados de esta fruta, incorporando valor agregado. Se aplicaron las técnicas micrográficas de raspado, disociado fuerte, observación con luz polarizada y reacciones histoquímicas para la caracterización de lípidos, cristales y aleurona. Los elementos diagnósticos estuvieron representados por esclereidas isodiamétricas solitarias y agrupadas, drusas y cristales cúbicos, granos de almidón simples de formas variadas, que constituyen una referencia complementaria en ausencia de tratamiento térmico sobre la materia prima, esclereidas columnares, gotas lipídicas y granos de aleurona pertenecientes a las semillas. Se trata de caracteres indispensables para verificar el carácter genuino de productos derivados de granada.

Micrographic characterization of *Punica granatum* fruit and its importance in botanical quality control

Summary

Punica granatum L., "pomegranate", "granada", is a tropical fruit that is consumed both fresh and processed and its peel in infusions. The objective of this work is to define the micrographic characters of diagnostic value that will make it possible to carry out the botanical quality control of food and pharmacobotanical products derived from this fruit, incorporating added value. The micrographic techniques of scraping, hard dissociation, observation with polarized light and histochemical reactions to characterize lipids, crystals and aleurone were applied. The diagnostic elements were represented by solitary and grouped isodiametric sclereids, druses and cubic crystals, simple starch grains of various shapes which constitute complementary reference in the absence of thermic treatment on the raw material; and columnar sclereids, lipid drops and aleurone grains belonging to the seeds. These are essential characters to verify the genuine nature of products derived from pomegranate.

Introducción

Punica granatum L. (Punicaceae), "granada", es una fruta de zonas cálidas y áridas. Originaria de los alrededores de Irán hasta el norte del Himalaya en la India, se estableció en toda la región del Mediterráneo, incluida Armenia, por lo que es una fruta nativa de Persia cuyo origen se remonta a los primeros años del Neolítico (Hurrell y col., 2010; Pochettino, 2015).

Actualmente se encuentra cultivada en varias partes de Latinoamérica, entre ellas en el territorio argentino (López-Mejías y col., 2010; Mondragón y Juárez, 2008), donde crece sin dificultad en el centro y norte del país,

aunque hasta fines de los noventa no existían cultivos comerciales. Según la FAO (2010), a partir del período 2008/2009, se comienza a implantar a gran escala en las provincias de Catamarca, Córdoba, Salta, San Juan y San Luis (Molina, 2016). Es una planta que presenta porte arbustivo y puede crecer desde 2 a 5 metros de altura, con copa extendida; su follaje es perenne y el tronco posee la corteza escamosa, otorgándole un aspecto ornamental. Crece en lugares húmedos, en bordes o interior de selvas pero se logra adaptar a otros climas; fructifica de diciembre a marzo (Hurrell y col., 2010; Pochettino, 2015).

Palabras clave: "granada" - *Punica granatum* - micrografía - caracteres diagnósticos.

Key words: "pomegranate" - *Punica granatum* - micrography - diagnostic characters.

En varios países, la demanda del fruto ha ido incrementando tanto al estado fresco como procesado en la elaboración de zumos, jugos envasados, deshidratados, mermeladas, granadina, condimento alimentario y la cáscara para el tratamiento de la diarrea (López-Mejías y col., 2010; Hurrell y col., 2010; Pochettino, 2015).

El objetivo fundamental de la producción agrícola se encuentra dirigido a ofrecer calidad, y el sector de frutas tropicales no es ajeno a dichos requisitos.

Sustentado en la multidimensionalidad del concepto de calidad el presente trabajo contribuye en la faceta de la calidad botánica, definida como la certificación de la presencia de la especie botánica (completa o partes de ella) en el producto alimenticio derivado (Vignale y Gurni, 2003). En este producto, la especie en cuestión se utiliza como materia prima durante su elaboración, en concordancia con el texto del rótulo y con las especificaciones de la normativa vigente en cada país (Varela y col., 2009). En Argentina, el Código Alimentario Argentino (C.A.A., 2017) contiene las pautas regulatorias de todos los alimentos del territorio.

El C.A.A. también expresa la importancia del control de calidad como un servicio para la mejora de los agroproductos derivados y de sus procesos de elaboración, los cuales deben responder a los estándares respectivos establecidos, con el único fin de proteger a los consumidores a través de la fiabilidad del producto (Folgar, 1996).

Para comprender el propósito del análisis de la calidad de un alimento de origen vegetal es necesario conocer el camino que conduce a la identificación de las plantas. Se trata de una tarea que requiere disponer de un trozo de material con hojas, flores y frutos, en el que se estudian los caracteres de valor diagnóstico brindados por la exomorfoloía y se confronta la observación, a ojo desnudo o con el auxilio de la lupa, con los dilemas que integran las claves de determinación disponibles en la bibliografía (Vignale y Gurni, 2003).

Cuando una parte o un trozo o un órgano de una planta se procesa para obtener un producto destinado a la alimentación humana, generalmente experimenta acciones mecánicas o tratamientos térmicos que provocan la desaparición de dichos caracteres exomorfológicos reproductivos y vegetativos (Vignale y Gurni, 2009), tal como ocurre en la preparación de jugos, mermeladas o la cáscara trozada de frutos de "granada" (Pochettino, 2015). En dichas circunstancias especiales, la definición de calidad botánica requiere del complemento fundamental expresado por los únicos caracteres de naturaleza botánica que se mantendrán presentes. Estas son las referencias anatómicas, en cuya observación el instrumental óptico requerido será el microscopio, en sustitución de la lupa anteriormente mencionada.

La situación se supera aplicando el método micrográfico y seleccionando las técnicas apropiadas a la naturaleza del material original, concluyendo en la definición de

los caracteres de valor diagnóstico, variables en función del órgano vegetal empleado como materia prima para cada especie (Cañigual y col., 1998; Vignale y Gurni, 2009; Gurni, 2014).

Estos indicadores micrográficos constituyen la herramienta requerida para certificar la presencia de una especie en productos elaborados y, en coherencia con ello, abordar el control de calidad botánico que deriva en la definición de su carácter genuino o, eventualmente, en la detección de contaminación o adulteración (Flores y Vignale, 2010; Rivas y col., 2009; Varela y col., 2009; Vignale, 2002).

Estudios anatómicos preexistentes revelan en el fruto de la especie en estudio, esclereidas de formas variadas y granos de almidón simples y en la semilla la presencia de células esclerenquimáticas, aleurona y gotas lipídicas (Winton y Winton, 1939).

Los objetivos del presente trabajo consisten en analizar frutos de *Punica granatum* mediante la aplicación de las técnicas micrográficas de raspado, disociación fuerte y pruebas histoquímicas, para definir los caracteres de valor diagnóstico requeridos en las prácticas de control de calidad botánico de productos alimenticios y medicinales elaborados con dicha materia prima.

Materiales y Métodos

Materiales

El material (fruto) analizado procede de muestras comerciales adquiridas en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, y se comparó con material de referencia proveniente de la cátedra de Farmacobotánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires.

Método

1. Análisis exomorfológico: comparación de las características de morfología externa del fruto con la información bibliográfica de la especie en estudio (Hurrell y col., 2010).

2.- Análisis micrográfico: se fundamenta en el análisis de los caracteres anatómicos y de los productos del metabolismo celular como referencia identificatoria (D'Ambrógio de Argüeso, 1986; Gurni, 2014).

Técnicas

Raspado

Se practica sobre el material fresco usando una hoja de afeitar para raspar, y luego se coloca el raspado entre porta y cubreobjetos con unas gotas de agua para su observación al microscopio óptico.

Observación con luz polarizada

Los gránulos de almidón muestran dentro de su estructura

Figura 1.- *Punica granatum* L.**A:** frutos de granada en el mercado. **B:** corte longitudinal del fruto mostrando semillas con arilo rojo distribuidas en dos planos.

por la birrefringencia observada, la *cruz de malta*, en la parte media de los gránulos; éste es el punto de desarrollo durante la biosíntesis conocido como hilium.

Disociado fuerte (según Boodle)

Esta técnica se indica para tejidos con células de paredes gruesas. El material de estudio se calienta con solución acuosa de hidróxido de potasio al 10 %, y se mantiene a ebullición, durante 10 min, se lava repetidas veces con agua y luego se deposita en un vaso de precipitado y se cubre con una solución de ácido crómico al 25 % y se deja actuar a temperatura ambiente durante 30 a 60 min, se repite el lavado hasta que quede lo más claro posible (Gattuso y Gattuso, 1999).

Reacciones histoquímicas

Caracterización de lípidos

Se realiza con solución saturada alcohólica de Sudán III que se deja actuar durante 2-3 min; los lípidos toman una coloración roja.

Caracterización de cristales de oxalato de calcio (cristales verdaderos) y de carbonato de calcio

Se utiliza HCl 2N, en este caso ambos compuestos se disuelven, aunque las concreciones de CaCO_3 producen CO_2 observándose un desprendimiento gaseoso. Se coloca una porción del material de estudio sobre un portaobjetos, se agregan 2-3 gotas de solución, se coloca el cubreobjetos y se observa con el microscopio óptico (Gattuso y Gattuso, 1999).

Caracterización de aleurona

Se utiliza solución acuosa de ácido pícrico al 1 %, con la cual las proteínas constituyentes de la aleurona se tiñen de color amarillo. Se coloca el material en polvo con el reactivo entre porta y cubreobjetos y se observa al microscopio.

Resultados

Punica granatum Fruto

1.- Análisis exomorfológico

Conocido como balausta, dentro de la clasificación de los frutos, es una baya de color amarillo a rojo intenso, procedente de un ovario ínfero con carpelos dispuestos en dos estratos, con el pericarpo y el interior dividido en cavidades que alojan numerosas semillas con "arilo" rojo, rosa o blanco, traslúcido, pulposo, dulce y jugoso (Figura 1 A-B). Mide aproximadamente entre 5-15 cm de diámetro y su peso oscila entre 100 a 500 g (Hurrell y col., 2010; López-Mejías y col., 2010; Pochettino, 2015).

2.- Análisis micrográfico

Raspado

Se identificaron en el epicarpo, mesocarpo y endocarpo cristales cúbicos y drusas (Figura 2 A) y en el arilo de la semilla granos de almidón simples y compuestos, céntricos de forma irregular con hendidura birradiada sin estrías.

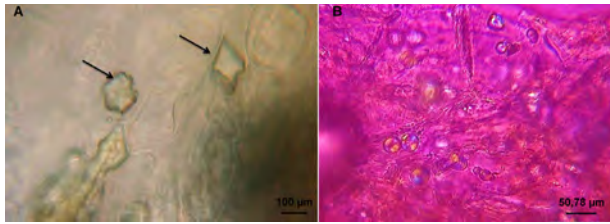
Observación con luz polarizada

Se observó en los granos de almidón la formación de la típica *cruz de malta* con los colores amarillo y azul (Figura 2 B).

Disociado fuerte

En el fruto se observaron esclereidas isodiamétricas solitarias y agrupadas, con paredes brillantes a la luz polarizada (Figura 3 A-B), y fibras largas y estrechas (Figura 3 C). En la semilla se observaron esclereidas columnares en dos estratos (Figura 3 D).

Figura 2.- Raspado



A: cristales cúbicos y drusas. **B:** granos de almidón simples de forma irregular con hendidura birradiada expuestos a la luz polarizada. A: 20x; B: 40x.

Reacciones histoquímicas

En el pericarpo se confirmó la presencia de cristales (verdaderos) de oxalato de calcio (Figura 4 A-B) y en las semillas, gotas de lípidos que se tornaron de color rojo (Figura 4 C) y granos de aleurona que obtuvieron un color amarillo pálido (Figura 4 D).

Discusión y conclusiones

Se verifica en el fruto de “granada” la presencia de esclereidas, fibras y granos de almidón simples, estos últimos pertenecientes al arilo, a diferencia de la bibliografía donde están indicadas como parte de las semillas. Se identificó para las semillas las esclereidas columnares, aleurona y gotas lipídicas (Winton y Winton, 1939). El presente estudio permitió identificar en el pericarpo cristales cúbicos y drusas, información inédita que también asume relevancia en futuros trabajos de controles de calidad.

Como algunos de los productos de esta especie que son comercializados (jugos, licuados, congelados, entre otros), no llevan un tratamiento térmico, los granos de almidón constituyen una referencia micrográfica aplicable en el análisis de calidad botánica. Cuando se necesita cocción (salsas, mermeladas, granizados, ponches, entre

otros) como parte del proceso, el calor provoca la desnaturalización del almidón impidiendo en consecuencia su visualización, instancia a partir de la cual pierden su valor diagnóstico.

Como se menciona en la introducción, el pericarpo coriáceo se utiliza para la elaboración de infusiones para tratar problemas gastrointestinales (Pochettino, 2015). Así, los resultados obtenidos aportan caracteres útiles para realizar el análisis de control de calidad en la etapa de comercialización formal e informal.

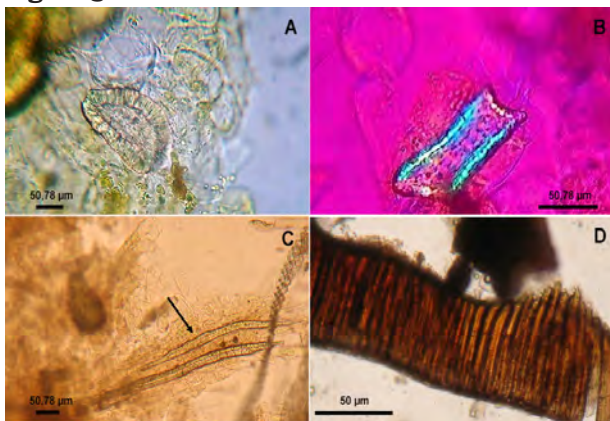
Se concluye que los siguientes caracteres micrográficos responden como elementos de valor diagnóstico:

1. en epicarpo, mesocarpo y endocarpo, las esclereidas agrupadas y solitarias isodiamétricas, las fibras alargadas de paredes gruesas y extremos aguzados y los cristales verdaderos cúbicos y en forma de drusas.
2. en semilla arilada, los granos de almidón simples y compuestos céntricos sin estrías perceptibles de formas variadas (arilo) y las esclereidas columnares, gotas lipídicas y aleurona (semillas).

La aplicabilidad de los caracteres propuestos se extiende al campo de la bromatología que está orientada al compromiso de ofrecer alimentos genuinos y seguros a la población.

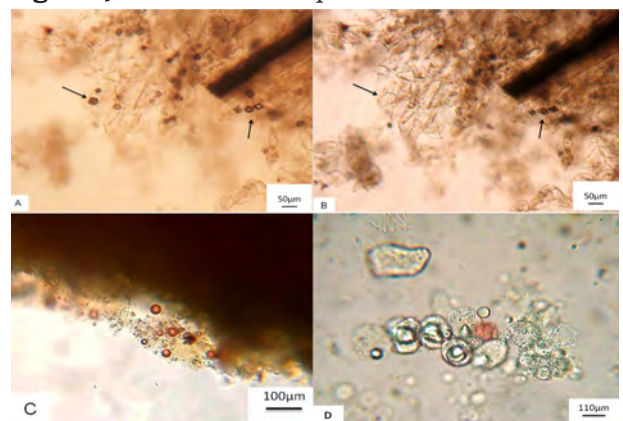
Se trata de resultados disponibles para su aplicación inmediata; la puesta en práctica de las técnicas micrográficas, las observaciones a realizar y su correcta interpretación son relativamente simples. Los elementos requeridos, a nivel de instrumental óptico y materiales, son los que, en general, integran cualquier Laboratorio de Microscopía de instituciones que pueden llevar adelante los controles enunciados, siempre y cuando estén a cargo de profesionales capacitados en la especialidad.

Figura 3.- Disociado Fuerte



A: esclereida isodiamétrica solitaria de pared gruesa. **B:** esclereidas en presencia de luz polarizada. **C:** fibras. **D:** esclereidas columnares. A: 40x; B-C: 20x; D: 10x.

Figura 4.- Reacción histoquímica



A-B: cristales en presencia de HCl. **C:** gotas lipídicas. **D:** aleuronas. A-B: 10x; C-D: 20x.

Referencias bibliográficas

- Alimentación FAO (2010). Perspectivas a plazo medio de los productos básicos agrícolas. Documentos de la FAO sobre productos básicos y Comercio. Proyecciones al año 2004: 95.
- Código Alimentario Argentino (2017) [en línea]. Disponible en http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp. [Consulta: 28 de marzo de 2017].
- Cañigual, S.; Vila, R.; Wichtl, M. (1998). Plantas Medicinales y Drogas Vegetales para infusión y tisana. 1º Ed. Española. (Traducción de ed. original: Teedrogen: ein Handbuch für die Praxis auf wissenschaftlicher Grundlage). Milán. OEMF Internacional SRL. 605.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. (1986). *Manual de técnicas en histología vegetal*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 83.
- Folgar, O.F. (1996). ISO 9000 Aseguramiento de la Calidad. Ediciones. Macchi, Bs As.
- Flores, E.N.; Vignale, N.D. (2010). "Caracterización micrográfica de órganos vegetativos y reproductivos de interés etnobotánico de *Geoffroea decorticans* (Gil. ex Hook. et Arn.) Burkart (Fabaceae)" en Pochettino, M.L.; Ladio, A.; Arenas, P.M. (eds) *Tradiciones y transformaciones en etnobotánica*. CYTED, S.S. de Jujuy: 330-335.
- Gattuso, M.A.; Gattuso, S.J. (1999). *Manual de procedimientos para el análisis de drogas en polvo*. 1º ed. Rosario. Universidad Nacional de Rosario. REUN. AUGM. UNESCO. RIPROFITO: 87.
- Gurni, A.A. (2014). "Técnicas histológicas en investigación" en Zarlavsky, G.E. *Histología vegetal. Técnicas simples y complejas*. 1º ed. Sociedad Argentina de Botánica, Buenos Aires: 13-18.
- Hurrell, J.A.; Ulibarri, E.A.; Delucchi, G.; Pochettino, M.L. (2010). *Frutas frescas, secas y preservadas*. 1º edición. LOLA, Buenos Aires: 301.
- López-Mejía O.A.; López-Malo A. y Palou E. (2010). "Granada (*Punica granatum* L.): una fuente de antioxidantes de interés actual". *Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos*, San Andrés Cholula, Puebla. México, 4 (1): 64-73.
- Molina, N.A. (2016). *La producción de frutas tropicales: panorama mundial y en Argentina*. INTA. Corrientes. 1-19 [en línea] Disponible en <http://inta.gob.ar/documentos/la-produccion-de-frutas-tropicales-panorama-mundial-y-en-argentina>. [Consulta: 15 de abril de 2017].
- Mondragón, J.C.; Juárez, C.S. (2008). *Granada Roja. Guía para su producción en Guanajuato*. INIFAP, Campo Experimental del Bajío. Celaya, Guanajuato, México.
- Pochettino, M.L. (2015). *Botánica Económica*. 1º ed. Sociedad Argentina de Botánica, Buenos Aires: 375.
- Rivas, M.A.; Gurni, A.A.; Vignale, N.D. (2009). "Caracterización micrográfica de *Solanum betaceum* Cav. (Solanaceae), un cultivo andino medicinal" en Vignale, N.D. y Pochettino, M.L. (eds) *Avances sobre plantas medicinales andinas*. CYTED, S. S. de Jujuy: 205-229.
- Varela, B.G.; Ganopol, M.J.; Bosco, P.; Agostinelli, L.; Gurni, A. A. (2009). "Presencia de salvado de cereal en "órganos" comercializados en la ciudad de Buenos Aires (Argentina)". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 8(1): 305 – 307.
- Vignale, N.D. (2002). "Relevamiento y análisis exomorfológico y micrográfico de plantas medicinales de la puna y prepuna jujeñas, con especial referencia a la Reserva de Biósfera Laguna de Pozuelos, Jujuy, Argentina. Jujuy". *Tesis Doctoral*. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires: 118.
- Vignale, N.D.; Gurni, A.A. (2003). "Micrografía de plantas medicinales andinas usadas como aditivos alimentarios en la provincia Jujuy (Argentina)". *Bol. Soc. Argent. Bot.* 38 (Supl.): 142.
- Vignale, N.D.; Gurni, A.A. (2009). "Parámetros micrográficos para identificar doce especies medicinales andinas de Asteraceae de la provincia de Jujuy Argentina" en Vignale, N.D. y Pochettino, M.L. (eds) *Avances sobre plantas medicinales andinas*. CYTED, S. S. de Jujuy: 129-204.
- Winton, A.L.; Winton, K.B. (1939). *The structure and composition of foods. vol. IV. Sugar, sirup, honey, tea, coffee, cocoa, spices, extracts, yeast, baking power*. John Wiley y sons INC., NewYork: 580.

Estudio farmacobotánico, etnofarmacológico y micrográfico de drogas vegetales utilizadas para las afecciones de mayor índice de mortalidad, comercializadas en la ciudad de Posadas, Misiones Argentina. I parte

Carlos G. Altamirano *, Marta E. Yajía

Laboratorio de Farmacobotánica "Dr. Aníbal Amat", Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Félix de Azara 1552 piso 5, Posadas, Misiones, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: carlos-altamirano@live.com

Resumen

El presente estudio corresponde a la primera entrega donde se realizó el análisis farmacobotánico, etnofarmacológico y micrográfico de drogas vegetales utilizadas en forma empírica para las afecciones con mayor tasa de mortalidad en la provincia de Misiones. En esta primera instancia (Parte I), se exponen seis (6) especies utilizadas para las afecciones cardiovasculares y respiratorias. Las mismas fueron relevadas en los diferentes puntos de comercialización de la Ciudad de Posadas. Se conservaron especímenes de resguardo en el Herbario del Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones y mediante fotografías, se identificaron por medio de procedimientos taxonómicos clásicos, y se analizó la endo- y exomorfolgia empleando técnicas de rutina para este tipo de trabajo, con la documentación fotográfica. Los objetivos fueron relevar y documentar las especies vegetales utilizadas para las afecciones cardiovasculares y respiratorias, sus usos etnofarmacológicos, las partes utilizadas y formas de administración, además de contribuir a incrementar el conocimiento de la morfo-anatomía y micrografía aplicada de dichas drogas vegetales. Los resultados obtenidos en esta instancia se corresponden con el relevamiento de *Syagrus romanzoffiana*, *Cuphea calophylla* subsp. *mesostemon*, *Hypericum connatum*, *Begonia cucullata*, *Cecropia pachystachya* y *Luehea divaricata*, especies comercializadas y utilizadas como agentes terapéuticos en el tratamiento de las afecciones cardiovasculares y respiratorias.

Pharmacobotanical, ethnopharmacological and micrographic study of vegetable drugs used for the affections of greater index of mortality, commercialized in the City of Posadas, Misiones Argentine. Part I.

Summary

The present study corresponds to the first delivery where the pharmacobotanical, ethnopharmacological and micrographic analysis of vegetable drugs used empirically for the conditions with the highest mortality rate in the province of Misiones was carried out. In this first instance (Part I), six (6) species used for cardiovascular and respiratory diseases are exposed. They were surveyed at different points of sale in the City of Posadas. Specimens were kept in the Herbarium of the Department of Pharmacy of the Faculty of Exact, Chemical and Natural Sciences of the National University of Misiones and photographed, were identified by means of classical taxonomic procedures, and the endo- and exomorphology were analyzed using routine techniques for this type of work, with photographic documentation. The objectives were to survey and document the plant species used for cardiovascular and respiratory diseases, their ethnopharmacological uses, parts used and forms of administration, in addition to contributing to increase the knowledge of the morfo-anatomy and applied micrograph of said plant drugs. The results obtained in this instance correspond to *Syagrus romanzoffiana*, *Cuphea calophylla* subsp. *mesostemon*, *Hypericum connatum*, *Begonia cucullata*, *Cecropia pachystachya* and *Luehea divaricata* survey, commercialized species and used as therapeutic agents in the treatment of cardiovascular and respiratory affections.

Introducción

El uso y comercialización de especies vegetales, como agente terapéuticos en la medicina popular, en la Provincia

de Misiones es un hecho de profunda raigambre histórica. Actualmente se halla ampliamente difundido en todos los

Palabras clave: farmacobotánica - micrografía - afecciones.

Key words: pharmacobotany - micrograph - diseases.

niveles sociales, no sólo en los sectores de menores ingresos o de menor nivel cultural, constituyendo en estos últimos el “medicamento” más accesible, sobre todo porque gran parte de esta población tiene como costumbre el consumo de especies medicinales y no tiene cobertura médica, lo cual está íntimamente relacionado con la inserción de las personas en el mercado laboral, el alto costo de las especialidades medicinales y las falencias propias del sistema de salud (Amat y Yajía, 1991).

La ciudad de Posadas es considerada el principal centro de comercialización de plantas medicinales debido a la existencia en la misma de vendedores ambulantes, colonos y aborígenes que se trasladan a esta ciudad para comercializar sus recolecciones, en herboristerías y en el Mercado Municipal, donde se centraliza el comercio de las mismas. En estos ámbitos, son exhibidas para la venta una gran variedad de especies, que en la mayoría de los casos, provienen de la recolección a partir de fuentes espontáneas y en algunos casos son ofrecidas por vendedores ambulantes provenientes de localidades limítrofes del Paraguay, por ejemplo, Encarnación.

Según la tendencia de las tasas brutas de mortalidad (expresadas por 100.000 habitantes) para la Provincia de Misiones, en los últimos diez años las principales causas fueron enfermedades cardiovasculares, tumores y enfermedades respiratorias. En 2017, las enfermedades cardiovasculares fueron responsables del 67,35 % de las muertes totales, los tumores el 18,20 %, las enfermedades respiratorias el 15,20 %, sin discriminar sexo y edad. En menor medida, muertes por causas externas (accidentes de tránsito, por ejemplo) el 9,08 %, y enfermedades infecciosas y parasitarias el 1,77 % (Dirección de Programación y Planificación, 2018).

Los objetivos fueron relevar y documentar las especies vegetales, los usos etnofarmacológicos, las partes utilizadas y las formas de administración, además de contribuir a incrementar el conocimiento de la morfo-anatomía y micrografía aplicada de dichas drogas vegetales, utilizadas en forma empírica para el tratamiento de las afecciones mencionadas.

La presente contribución es la primera parte, donde se ha centrado en el estudio etnobotánico y micrográfico de *Syagrus romanzoffiana*, *Cuphea calophylla* subsp. *mesotemon*, *Hypericum connatum*, *Begonia cucullata*, *Cecropia pachystachya* y *Luehea divaricata*, especies comercializadas y utilizadas como agentes terapéuticos en el tratamiento de las afecciones cardiovasculares y respiratorias.

Materiales y Métodos

Se determinó la incidencia de los grupos de patologías con mayor índice de mortalidad en la provincia de Misiones, a través de las publicaciones de la Dirección de Programación y Planificación, Ministerio de Salud Pública de

la Provincia de Misiones (Dirección de Programación y Planificación, 2018).

Se realizó un relevamiento y registro de los puntos de comercialización de las drogas, provenientes de especies vegetales vasculares nativas, empleadas como agentes terapéuticos en el tratamiento de las enfermedades con mayor incidencia de mortalidad.

Los registros tuvieron en cuenta los siguientes datos: nombre vulgar, utilización etnofarmacológica, parte/s utilizada/s, forma de administración, lugar de comercialización y estado o forma de presentación en la comercialización del material.

Los usos y propiedades atribuidas que se citan en el presente trabajo han sido transcritos textualmente de los enunciados por los entrevistados, sin que ello signifique la convalidación de los mismos.

Los materiales vegetales relevados (enteros o fragmentados) fueron documentados a través de la preservación de especímenes de resguardo (*vouchers*) por duplicado en el Herbario del Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones.

El análisis exo-morfológico de las drogas relevadas (plantas enteras o sus partes), se realizó sobre la base de una descripción exo-morfológica de la/las partes utilizadas, empleándose en una primera instancia la técnica botánica habitual, y utilizándose los descriptores farmacobotánico-farmacognósticos existentes (Trease y Evans, 1986).

El análisis endomorfológicos cualitativo, estructural y anatómico fue realizado empleando las técnicas analíticas anatómico-histoquímicas habituales (Wallis, 1968; Zarlavsky, 2014).

Los datos de la sistemática de las especies que comprenden el presente trabajo, fue analizada tomando como referencia el Catálogo de las Plantas Vasculares del Conosur (Catálogo de las Plantas Vasculares del Conosur, 1994).

Resultados

Patologías de mayor importancia

Las principales causas de mortalidad relevadas para la provincia de Misiones fueron enfermedades cardiovasculares en primer lugar, cáncer y enfermedades respiratorias en segundo y tercer lugar respectivamente (Dirección de Programación y Planificación, 2018).

Lugares de comercialización

Como resultado de los relevamientos efectuados, pudo comprobarse que existen al menos tres ámbitos de comercialización de especies vegetales con empleo etnofarmacológico.

En primer lugar, se destacan los mercados municipales, encabezados por el Mercado Municipal "La Placita", con dos ámbitos físicos diferentes, el correspondiente a la sede central ubicada en el centro de la ciudad (manzana formada por las calles Sarmiento, San Martín y Roque Sáenz Peña) y el ubicado en las inmediaciones del Puente Internacional San Roque González de Santa Cruz, que une la ciudad argentina de Posadas con la ciudad paraguaya de Encarnación sobre el Río Paraná.

También en el ámbito municipal, cabe incluir a las llamadas "Ferias Francas", de las cuales al menos dos de ellas -ubicadas en los barrios de Villa Cabello y Villa Urquiza-, expenden al público especies vegetales destinadas al uso etnoterapéutico. Las ferias francas no registran funcionamiento continuo, sino que el comercio se abre en ellas en determinados días de la semana, generalmente los fines de semana. Desde un punto de vista económico (Decreto N° 857 Municipalidad de Posadas), se caracterizan por ser consideradas una alternativa de acercamiento directo entre los productores y el público consumidor, evitando los intermediarios y permitiendo así precios más accesibles para los productos agrícolas y, asimismo, para los materiales vegetales con empleo terapéutico.

Una tercera instancia de comercialización la constituyen los vendedores callejeros, algunos de ellos ambulantes y otros muchos con lugares relativamente fijos en la vía pública. Esta forma de comercio es básicamente urbana, concentrándose los puestos de venta en lugares estratégicos, tales como cercanías de supermercados, bancos, plazas y comercios de concurrencia masiva. Los vendedores ambulantes pueden o no combinar la venta de plantas medicinales con otros artículos, por ejemplo, comestibles.

Resultados Etnofarmacológicos y micrográficos exo- endomorfológicos

Syagrus romanzoffiana (Cham.) Glassman (Arecaceae)

Sinónimos: *Arecastrum romanzoffianum* (Cham.) Becc., *Cocos australis* Mart., *Arecastrum romanzoffianum* (Cham.) Becc. var. *australe*.

Nombre vulgar: "palmera pindó", "yba pitá".

Distribución: América cálida. En la Argentina, es muy abundante en las selvas de Misiones, a lo largo del Paraná. En la estepa pampeana habita en el Delta, donde se observan ejemplares aislados.

Es indicada en las afecciones cardíacas. La droga vegetal está conformada principalmente por hojas. Se consume introduciendo dos o tres hojas en 1 litro de agua, dejándola hervir; en caso de su administración como agua para el mate, la misma cantidad en el agua para cebar. Se comercializa en el Mercado Municipal y en las Ferias Francas. Se vende en estado seco y fresco, en envoltorio de papel nylon.

Descripción exomorfológica

Palmera de unos 10 m de altura, monoica, con hojas pinadas; de 2,5 m de longitud, con segmentos lineares, plegados, flácidos, dispuestos sobre cada lado del raquis en grupos de 2-5, pecíolo sin espinas. Estípites desnudos, anillados. Ramas de la inflorescencia sinuosas. Flores de color amarillo-crema. Fruto drupa monosperma globoso-ovoida, de 2 cm de longitud. Espádice simple, ramificado, con ramas florales dispuestas alternadas sobre un eje leñoso, grueso. Espata leñosa, fusiforme, aguda. Flores unisexuales: las masculinas con cáliz pequeño, trifido o tripartito; pétalos 3; estambres 6 con anteras lineares, basifijas. Flores femeninas con pétalos ovado-cordados, agudos o mucronados; estilo breve o nulo; estigma trifido.

Descripción endomorfológica

En vista superficial la epidermis foliar adaxial presenta células de contorno rectangular, alargadas, con una gruesa cutícula y una densa cubierta cerosa; la epidermis inferior con células cuadrangulares, también densamente cubiertas por ceras; estomas hundidos, asociados a 2-4 células anexas.

El corte transversal del folíolo exhibe un mesófilo con estructura homogénea, hipodermis uniestratificada, haces fibrovasculares colaterales orientados hacia la cara adaxial, con un casquete de fibras sobre el floema. La nervadura media presenta surcos o depresiones en la cara adaxial, en ocasiones con grupos pequeños de fibras, con colénquima subepidérmico. El haz medio está formado por xilema hacia la cara adaxial y floema en posición abaxial, obpiriforme, completamente rodeado por un cilindro de fibras, más desarrollado hacia la cara abaxial. Se observan grupos redondeados de fibras en posición subepidérmica abaxial y es notoria la alternancia de haces menores y grupos de fibras (Figura 1).

Cuphea calophylla Cham. & Schldl. subespecie *mesostemon* (Koehne) Lourteig (Lythraceae).

Sinónimos: *Cuphea mesostemon* Koehne var. *missionera*, *Cuphea mesostemon* Koehne var. *ovalifolia*.

Nombre vulgar: "Siete sangrías".

Distribución: América templado-cálida.

Esta especie se utiliza en el tratamiento de afecciones cardíacas (como antihipertensivo), y además de las vías respiratorias (resfríos, gripe). Se utiliza la planta entera, con la que se prepara una decocción con un puñado de la planta y se toma "como agua", frío, en el mate o una taza de té tres veces al día. Se encontró comercializada en el Mercado Municipal, en las Ferias Francas y en los vendedores ambulantes. Se presenta la planta fresca o seca, sin envoltorios.

Descripción exomorfológica

Plantas herbáceas, subarborescentes, o arbustivas, a menudo viscosas. Hojas decusadas, verticiladas o raramente alternas, enteras, sésiles o pecioladas. Flores cigomorfas, hermafroditas. Receptáculo tubuloso, giboso en la base, plurinervado, provisto de 6 dientes pequeños primarios, existiendo a veces otros secundarios alternos. Pétalos 6, raramente 2, 4 o nulos, desiguales, unguiculados. Estambres normalmente 11, desiguales, insertos o exsertos. Ovario sésil, glanduloso en la base, desigualmente bilocular, pauci- o pluriovulado. Estilo filiforme; estigma simple o sub-bífido. Fruto cápsula incluida en el receptáculo, dehiscente por hendidura lateral. Flores vistosas, solitarias o en inflorescencia racimosas.

Descripción endomorfológica

En vista superficial las células de ambas epidermis foliares presentan contornos marcadamente sinuosos, estomas anomocíticos y tricomas tectores de dos tipos: a) unicelulares verrucosos, con base a menudo dilatada y extremos aguzados, y b) pluricelulares pluriseriados. En el corte transversal, la hoja presentó un mesófilo dorsiventral, con un estrato de parénquima en empalizada y varios de parénquima esponjoso. La nervadura media muestra células epidérmicas rectangulares, tejido colenquimático debajo de ambas epidermis y tejido parenquimático de relleno formado por grandes células que rodean un único haz vascular de forma semilunar, con floema intraxilar (Figura 2).

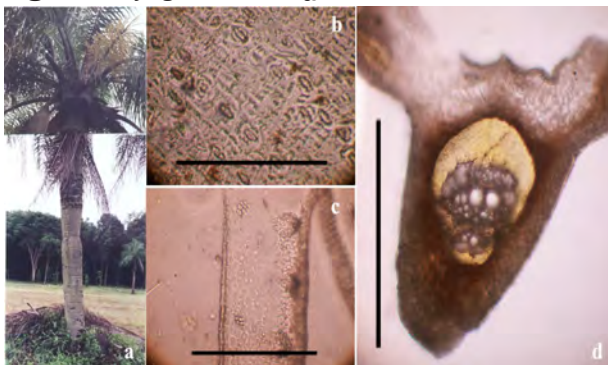
Hypericum connatum Lam. (Hypericaceae).

Sinónimos: *Hypericum connatum* Lam. var. *fiebrigii*, *Hypericum cyathifolium* Larrañaga.

Nombres vulgares: “ca avó torí”, “ca avó torí macho”, “toro ca á”, “yerba del toro”.

Distribución: frecuente en el sur del Brasil, Uruguay, Paraguay y norte y centro de la Argentina.

Figura 1.- *Syagrus romanzoffiana*



a: foto de la planta; **b:** epidermis abaxial con estomas y células de contorno rectangular; **c:** corte transversal de la hoja con mesófilo homogéneo; **d:** corte transversal de la nervadura media. Escala 100 µm.

Indicado para las afecciones cardiacas como tónico y de las vías respiratorias (resfríos, gripe). Se utiliza la planta entera, aproximadamente unos cinco o seis tallos hojosos por litro de agua en decocción, o bien las hojas en infusión. La misma preparación, pero como agua, se ingiere frío. Se lo comercializa en estado libre, en el Mercado Municipal y Ferias Francas.

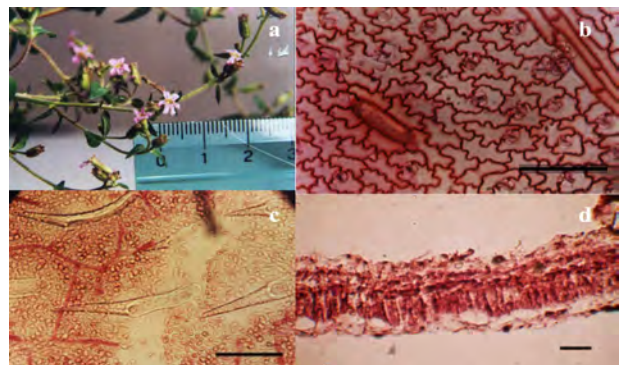
Descripción exomorfológica

Planta herbácea, erguida, de 0,30-0,60 m de altura, subleñosa en la base, hojas opuestas, connadas, aovadas o suborbiculares, enteras, glabras, agudas u obtusas, de 2,5-3,5 cm de largo. Las flores son amarillas, dispuestas en cimas paucifloras terminales, de 5-8 cm de largo, con los pétalos bilobulados en el ápice y la cápsula aovada o subglobosa, dehiscente por 5 valvas. Estilos 5.

Descripción endomorfológica

En vista superficial, las células epidérmicas de la hoja poseen contornos sinuosos o sinuoso-poligonales. Posee estomas anomocíticos y escasos anisocíticos. Se observan tricomas tectores cortos únicamente en la epidermis adaxial. En corte transversal la hoja muestra un mesófilo de estructura dorsiventral, con un único estrato de células del clorénquima en empalizada y varios de parénquima esponjoso, con cavidades secretoras y numerosas drusas. La nervadura media presenta una epidermis con células de paredes engrosadas, colénquima subepidérmico hacia ambas superficies y tejido parenquimático que rodea al haz vascular de disposición colateral, con un casquete de fibras en posición abaxial. Las nervaduras menores están rodeadas por una vaina parenquimática marcada, que presenta en ocasiones extensiones en conexión con ambas epidermis (Figura 3).

Figura 2.- *Cuphea calophylla* Cham. & Schltdl. subespecie *mesostemon*



a: planta comercializada; **b:** epidermis abaxial con estomas y tricoma unicelular verrucoso; **c:** epidermis abaxial con tricomas unicelulares verrucosos; **d:** corte transversal de la lámina. Escala 100 µm.

Begonia cucullata Willd. (Begoniaceae)

Sinónimos: *Begonia cucullata* Willd. var. *arenosicola*, *Begonia cucullata* Willd. var. *spatulata*, *Begonia cucullata* Willd. var. *hookeri*, *Begonia agrial* Rojas Acosta, *Begonia paludicola* C. DC., *Begonia spatulata* Lodd., *Begonia subcucullata* C. DC.

Nombres vulgares: "agrial", "adrial".

Distribución: frecuente en lugares sombríos. América tropical y subtropical.

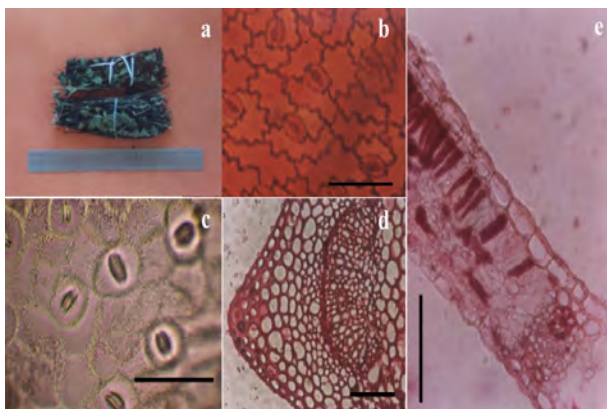
Es recomendado en el tratamiento de la irritación y el dolor de garganta. Se utilizan las hojas. El cocimiento de un puñado de hojas previamente machacadas es utilizado para hacer gárgaras, en infusión y en el mate. Se comercializa en el Mercado Municipal, por vendedores ambulantes y en las Ferias Francas. Se vende en estado fresco, libre y seco sin envoltorio.

Descripción exomorfológica

Planta subacaule, estolonífera, provista de un rizoma corto y grueso. Hojas más o menos verticales, aovadas, acuminadas, desigualmente cordadas en la base, irregularmente dentadas o aun lobuladas. De 30-60 cm de largo, variadas y vivamente coloreadas; pecíolos y cara inferior de las hojas cubiertos de largos pelos aplanados y rojos. Cimas axilares paucifloras. Cápsula trivalda con un ala triangular más grande y dos más pequeñas.

Descripción endomorfológica

En vista superficial, tanto la epidermis abaxial como la adaxial presentan células de gran tamaño, con estomas en grupos de 2-6, ubicados en criptas con 3-6 células subsidiarias. En la hoja existen tricomas glandulares sésiles, con base unicelular marcadamente delgada, sobre todo en la epidermis superior. El corte transversal de la hoja permite

Figura 3.- *Hypericum connatum*

a: planta comercializada; **b:** epidermis abaxial con estomas; **c:** epidermis adaxial con estomas; **d:** nervadura media; **e:** corte transversal de la lámina con cavidades secretoras. Escala 100 μ m.

apreciar el desarrollo marcado y predominante de las células epidérmicas, con un mesófilo homogéneo compuesto por un parénquima en empalizada de localización central. No existe una nervadura media distinguible, y los haces vasculares son pequeños y colaterales (Figura 4).

Cecropia pachystachya Trécul (Urticaceae)

Sinónimos: *Cecropia adenopus* Mart. ex. Miq.; *Cecropia adenopus* Mart. ex. Miq. var. *lyratiloba* (Miq.) Hassl.; *Cecropia adenopus* Mart. ex. Miq. var. *macrophylla* Hassl.

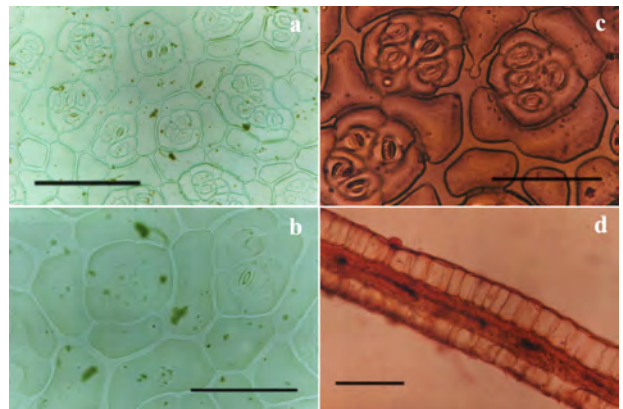
Nombres vulgares: "ambay" "ambaí", "palo lija", "ambaúba".

Distribución: Argentina, Paraguay, Uruguay y Sur del Brasil, en ambientes tropicales y subtropicales. En nuestro país crece espontáneamente en Formosa, Chaco, Misiones y el norte de Corrientes.

Se recomienda en afecciones bronquiales y pulmonares; también contra la tos y el catarro. Se utilizan las hojas en forma de tisanas previamente cosechadas y secadas bajo cubierta. En forma de jarabe, quemando azúcar con una brasa, más una hoja, se prepara una decocción que debe hacerse hervir hasta que alcance la consistencia requerida ("quemadillo"). Este jarabe puede prepararse también con miel y con la mezcla de otras hierbas como ser *Adiantum raddianum*, *Bauhinia forficata*, *Sambucus australis*, etc. Se comercializa en estado seco y fresco y sin envoltorio en el Mercado Municipal, por vendedores ambulantes y en las Ferias Francas.

Descripción exomorfológica

Árbol dioico, latescente, de unos 3-10 m de altura con las ramas fistulosas y nudosas. Hojas coriáceas, de hasta 50 cm de diámetro, verde oscuras y brillantes en el haz, tomentoso-cenicientas en el envés, palmatisectas, con 11 segmentos angostamente obovados, de ápice agudo y

Figura 4.- *Begonia cucullata*

a-b: epidermis abaxial con estomas en criptas; **c:** epidermis adaxial con estomas en cripta; **d:** corte transversal de la hoja con mesófilo homogéneo, parénquima en empalizada de localización central y tricomas glandulares sésiles. Escala 100 μ m.

borde subentero, palmatinervias, con nervios conspicuos, amarillentos. Pecíolos largos, ensanchados en la base, ésta provista en su parte inferior de una estructura pulviniforme, cubierta de tricomas glandulares que secretan sustancias proteicas.

Flores pequeñas, dispuestas en densas espigas, comúnmente fasciculadas. Frutos muy pequeños reunidos en grandes receptáculos carnosos digitados.

Descripción endomorfológica

En vista superficial, las células epidérmicas de la hoja poseen contorno sinuoso (mayormente en la cara abaxial) a poligonal (predominantemente en la cara adaxial), con: a) tricomas tectores cónicos, unicelulares, silicificados y b) tricomas glandulares ovoides o piriformes, con cabezuela 3-5-celular y contenido oleoso en la epidermis adaxial; en la epidermis abaxial, en cambio, se visualizan: c) tricomas tectores cónicos, unicelulares, silicificados y d) filiformes, de mayor longitud, unicelulares, de lumen amplio, que en general aparece comprimido. Los estomas, dispuestos únicamente en la cara abaxial, son anomocíticos. El transcorde foliar exhibe la epidermis adaxial uniestrata, con numerosos litocistos provistos de sus correspondientes listolitos y los tricomas tectores y glandulares como han sido descritos, en tanto la epidermis abaxial está conformada por células notoriamente más pequeñas, en la cual se encuentran los dos tipos de tricomas ya mencionados para ella; el mesófilo presenta estructura dorsiventral, en la cual predominan dos estratos del parénquima en empalizada, el interno formado por células isodiamétricas, generalmente provistas de drusas, y un parénquima esponjoso con grandes meatos, canales laticíferos, idioblastos mucilaginosos y células con grandes drusas de oxalato de calcio. Las nervaduras principales son prominentes hacia el envés y, por debajo de la epidermis y en conexión con ella, se encuentra colénquima angular hacia ambas superficies foliares; el tejido vascular se dispone en forma de haces colaterales, con vainas

crystalíferas cuyas células contienen pequeñas drusas de oxalato de calcio, carácter éste que se repite en los nervios de menor orden (Figura 5).

Luehea divaricata Mart. (Malvaceae)

Sinónimo: *Luehea paniculata* Auct. non Mart. *Thespesia brasiliensis* Spreng.

Nombres vulgares: "azota caballo", "sota caballo".

Se le atribuyen propiedades para las afecciones de las vías respiratorias (resfríos y catarros). Se utilizan dos o tres hojas que se preparan en infusión y se ingiere tibio las veces que se desee. El cocimiento de un puñado de hojas se utiliza en el agua para el mate o como bebida fría. Se comercializa en estado libre en el Mercado Municipal y por los Vendedores Ambulantes.

Descripción exomorfológica

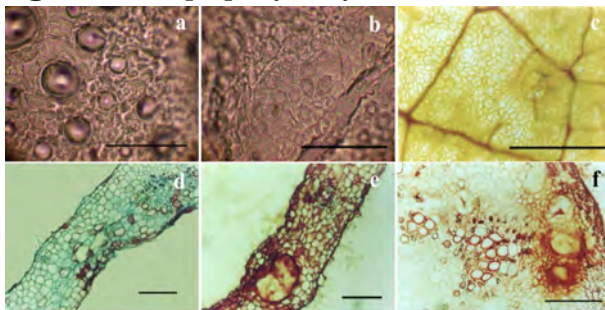
Árbol elevado, de 5-15 metros de altura, con tallos ramificados, ramas cilíndricas, castañas. Hojas alternas, brevemente pecioladas con láminas ovadas, de ápice agudo y margen serrado, glabras en el haz y densamente tomentosas en el envés. Flores en cimas axilares y terminales, con pedicelos pubescentes. Bractéolas lineales, tomentosas, cáliz con sépalos lineales, tomentosos en el dorso. Pétalos rosados más largos que los sépalos. Cápsulas ovoides pubescentes. Dehiscencia por valvas apicales.

Descripción endomorfológica

En vista superficial las células epidérmicas de la hoja poseen forma poligonal. Los estomas son anomocíticos y están presentes en la epidermis abaxial. Se observan tricomas tectores estrellados pedicelados en depresiones en la epidermis abaxial.

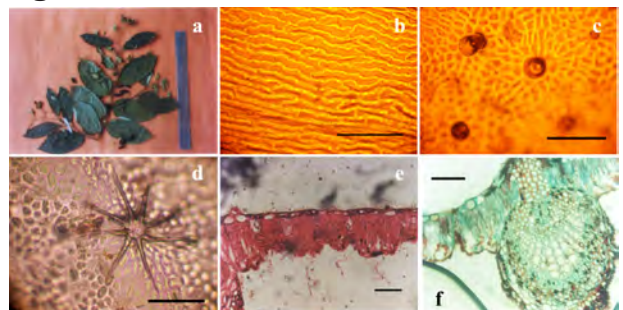
En el transcorde de la hoja, la epidermis abaxial muestra un perfil notoriamente sinuoso, y en ella se encuen-

Figura 5.- *Cecropia pachystachya*



a-b: epidermis adaxial con estomas; **c:** lámina foliar mostrando nervios y tricomas glandulares; **d-e:** corte transversal de la lámina foliar; **f:** corte transversal de pecíolo mostrando los haces vasculares y vainas cristalíferas. Escala 100 µm.

Figura 6.- *Luehea divaricata*



a: planta comercializada; **b-c:** epidermis abaxial con tricomas; **d:** tricomas estrellados; **e:** corte transversal de la lámina foliar con idioblasto; **f:** corte transversal de la nervadura media. Escala 100 µm.

tran las depresiones ya citadas, las que albergan numerosos tricomas estrellados pedicelados, formados por un pie bicelular y extremo estrellado 7-celular. En la epidermis abaxial se presentan numerosos y voluminosos idioblastos. El mesófilo posee estructura dorsiventral, con mayor desarrollo del parénquima en empalizada, en número de 2-3 estratos, con un sistema de células procumbentes transversales de aparición frecuente. En la nervadura central una columna de colénquima y parénquima une la epidermis adaxial con el haz vascular y separa las masas de clorénquima de ambos hemilimbos, y hacia la epidermis abaxial, se presenta tejido colenquimático en el cual algunas de sus células poseen cristales arracimados. El haz vascular central es subcircular, rodeado por una vaina de tejido parenquimático con contenido coloreado. Los haces vasculares menores están rodeados por células parenquimáticas que se proyectan como extensiones hacia ambas epidermis (Figura 6).

Discusión

En esta primera entrega se han abordado 6 (seis) especies vegetales vasculares, utilizadas para dos de las tres afecciones más frecuentes de la población en estudio (afecciones cardiovasculares y respiratorias), dejándose el cáncer para ser abordado por sí solo posteriormente.

Los ámbitos de comercialización descriptos de la ciudad, son variados, homogéneamente distribuidos en toda el área poblada y a su vez reflejan la importancia que aún conservan los recursos vegetales como alternativa para el tratamiento de las afecciones más recurrentes. Constituyen muchas veces la primera alternativa terapéutica de la población de escasos recursos, antes que la medicina convencional.

La Ciudad de Posadas también cabe destacar que, debido a su ubicación limítrofe y su variedad de culturas, posee características atractivas para el estudio de la farmacobotánica.

La droga vegetal de *Syagrus romanzoffiana* está compuesta por hojas, aunque también son utilizadas las raíces como anticonceptivo (Toursarkissian, 1980). Es utilizada y comercializada con similares usos también en los mercados de Asunción, Paraguay (Basualdo y col, 2004). La presencia de hipodermis, estomas tetracíticos han sido relevados como caracteres de valor diagnóstico de las hojas (Arambarri y col, 2006; 2008). *Cuphea calophylla* es utilizada en forma similar en Brasil y Paraguay (Rodrigues y col, 2013; Basualdo y col, 2004). Sus tricomas son variados y de valor diagnóstico (Amarasinghe y col, 1991; Romeo, 2015). Es considerada también una especie invasora. Los usos medicinales de *Hypericum connatum* han sido validados en estudios *in vivo* (Fusco y col, 2007) considerando la presencia de heterósidos cardiotónicos como responsables de la actividad, a su vez los caracteres morfoanatómicos

relevados nos permiten discriminar la droga de *Hypericum perforatum* L., hierba muy abundante utilizada para tratar la depresión, actualmente incluida en la Farmacopea Nacional Argentina (Farmacopea Nacional Argentina 7ma Ed, 2014). Las variedades de *B. cucullata* Willd. (*Begonia cucullata* Willd. var. *spatulata*, *Begonia cucullata* Willd. var. *cucullata*, etc.), según el criterio del Catálogo de Plantas vasculares del Conosur, son consideradas una sola especie (*Begonia cucullata* Willd) y son comercializadas bajo el nombre vulgar de "agrial" en países limítrofes como Paraguay, también para afecciones de las vías respiratorias altas (Degen y col, 2012). La comercialización de esta especie está asociada a problemáticas de nombres vulgares, situación habitual de la zona y que comparte con varias especies (Degen y col, 2005). *Cecropia pachystachya* Trécul, muy común en la zona, además de sus propiedades anti-tásmáticas y bronquiales, se han reportado actividades antimaláricas y antileishmaniásicas (Uchôa y col, 2010; De Mello Cruz y col, 2013) de las fracciones de sus extractos. El jarabe de ambay realizado por el Laboratorio de Especialidades Medicinales de la Provincia de Misiones formó parte del stock de medicamentos a base de plantas medicinales, utilizados en atención primaria de la Salud. Las características anatómicas de *Luehea divaricata* Mart. coinciden en su mayoría con descripciones anteriores (Arambarri y col., 2006; Walker y col., 2008), y además de su uso interno es utilizada en forma externa como anti-inflamatorio y antimicrobiano (De Souza y col., 2004).

Conclusiones

Tal como fuera planteado en los objetivos formulados para el presente trabajo, se han relevado y documentado en esta instancia (Parte I), seis especies comercializadas y utilizadas como agentes terapéuticos: tres en el tratamiento de las afecciones cardiovasculares (*Syagrus romanzoffiana*, *Cuphea calophylla* ssp. *mesostemon* e *Hypericum connatum*) y tres en afecciones respiratorias (*Begonia cucullata* Willd., *Cecropia pachystachya* y *Luehea divaricata*). Se han descripto los caracteres de valor diagnóstico de las seis especies relevadas, aportando al conocimiento de la morfo-anatomía y micrografía aplicada de dichas drogas vegetales, así como los usos etnofarmacológicos, las partes utilizadas y las formas de administración.

De las seis especies relevadas surge que de las tres especies utilizadas para las afecciones cardiovasculares se usa la planta entera de *Cuphea calophylla* ssp. *mesostemon* e *Hypericum connatum* y las hojas de *Syagrus romanzoffiana*, y de las especies utilizadas para las afecciones respiratorias se usa la planta entera de *Begonia cucullata* Willd., y las hojas de *Cecropia pachystachya* y *Luehea divaricata*. La forma de administración en todos los casos es en infusión, mate y agua. El estado de comercialización en todos los casos es libre, seco y fresco.

Los ámbitos de comercialización fueron vendedores ambulantes, puestos en el Mercado municipal y las ferias francas.

Como resultado del estudio referente al empleo etnofarmacológico de dichas especies nativas, según las coincidencias entre las propiedades etnoterapéuticas atribuidas por los vendedores y los usuarios, el porcentaje de las especies relevadas para cada afección, cardiovascular, respiratorias y cáncer, se realizará en la discusión de la parte V del presente trabajo, que concluirá con el análisis general realizado para las especies utilizadas específicamente para las afecciones cardiovasculares y respiratorias (Parte I), para el grupo de especies utilizadas para ambas afecciones en conjunto (Parte II), para el cáncer (Parte III) y las especies relevadas y consideradas como polivalentes (conjunto de afecciones) (partes IV y V).

Los usos y propiedades atribuidas que se citan en el presente trabajo han sido transcritos textualmente de los enunciados por los entrevistados, sin que ello signifique la convalidación de los mismos.

Referencias bibliográficas

- Amarasinghe, V.; Graham, S.A.; Graham, A. (1991). "Trichome morphology in the genus *Cuphea* (Lythraceae)". *Botanical Gazette* 152 (1): 77-90.
- Amat, A.G.; Yajía, M.E. (1991). "Plantas Medicinales y Etnofarmacología en la Provincia de Misiones (Argentina)". *Acta Farm. Bonaerense* 10: 153-159.
- Arambarri, A.M.; Freire, S.E.; Colares, M.N.; Bayón, N.D.; Novoa, M.C.; Monti, C.; Stenglein, S. A. (2006). "Leaf anatomy of medicinal shrubs and trees from Gallery forests of the Paranaense Province (Argentina). Part 1". *Bol. Soc. Argent. Bot.* 41 (3-4): 233-268.
- Arambarri, A.M.; Freire, S.E.; Colares, M. N.; Bayón, N. D.; Novoa, M. C.; Monti, C.; Stenglein, S. A. (2008). "Leaf anatomy of medicinal shrubs and trees from Misiones forest of the Paranaense Province (Argentina). Part 2". *Bol. Soc. Argent. Bot.* 43 (1-2): 31-60.
- Basualdo, I.; Soria, N.; Ortiz, M.; Degen, R. (2004). "Plantas medicinales comercializadas en los mercados de Asunción y Gran Asunción: Parte I". *Rojasiana*, 6 (1): 95-114.
- Catálogo de las Plantas Vasculares del Conosur (1994). Instituto de Botánica Darwinion. Buenos Aires, Argentina [en línea] <http://www.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/fa.htm>.
- De Mello Cruz, E.; da Silva, E.R.; do Carmo Maquiaveli, C.; Alves, E.S.S.; Lucon Jr, J. F.; dos Reis, M. B. G.; Mendes de T., C. E.; Guaré C., F.; Vannier-Santos, M. A. (2013). "Leishmanicidal activity of *Cecropia pachystachya* flavonoids: Arginase inhibition and altered mitochondrial DNA arrangement". *Phytochemistry*, 89: 71-77.
- De Souza, G.C.; Haas, A.P.S.; Von Poser, G.L.; Schapoval, E.E.S.; Elisabetsky, E. (2004). "Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil". *Journal of ethnopharmacology*, 90 (1): 135-143.
- Degen, R.; Mercado, M.I.; Coll, A.; Ruiz, A.I.; Ponessa, G.I. (2012). "Morphology and anatomy of two varieties of *Begonia cucullata* (Begoniaceae), marketed as 'agrial' in Paraguay". *Lilloa*, 49 (1/2): 87-97.
- Degen, R.; Soria, N.; Ortiz, M.; Basualdo, I. (2005). "Problemática de nombres comunes de plantas medicinales comercializadas en Paraguay". *Dominiquezia*, 21 (1): 11-16.
- Dirección de Programación y Planificación. Mortalidad General por causas seleccionadas de la Clasificación Internacional de Enfermedades año 2017. Ministerio de salud pública, Provincia de Misiones, 2018.
- Farmacopea Argentina, 7ª Edición compilada (2014), Volumen IV, p. 487-490. Ministerio de Salud de la Nación; Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos; ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica) e INAME (Instituto Nacional de Medicamentos). Buenos Aires, Argentina [en línea] <https://www.argentina.gob.ar/anmat/farmacopea-argentina/libro>.
- Fusco, M.D.R.; Sosa, A.; Petenatti M.E.; Juárez, A.; Del Vitto, L.A.; Petenatti, E.M. (2007). "Medicamentos Herbarios en el Centro-oeste Argentino. VII. Caracterización Farmacognóstica y Actividad Cardiotónica de *Hypericum connatum* (Clusiaceae)". *Latin American Journal of Pharmacy*, 26 (2): 208-13.
- Rodrigues, D.T.; Matias, D.B.; de Oliveira, M.R.; Ceretta, L.B.; Becker, I.R.T.; Zanete, V.C.; Rossato, A.E. (2013). "Avaliação do uso de plantas medicinais por um grupo de hipertensos em uma unidade ESF de um bairro no município de Criciúma". *Inova Saúde*, 2 (1).
- Romeo, R. (2015). "Plantas empleadas en medicina popular en la provincia de Jujuy. Departamento Capital y alrededores". *Dominiquezia*, 31 (2): 5-10.
- Toursarkissian, M. (1980). *Plantas medicinales de la Argentina: sus nombres botánicos, vulgares, usos y distribución geográfica*. Ed. Hemisferio Sur S.A., Argentina: 95.
- Trease G.E.; Evans, W.C. (1991). *Farmacognosia*. 13a. Ed. Interamericana-McGraw-Hill, México, pp. 866-870.
- Uchôa, V.T.; de Paula, R.C.; Krettli, L.G.; Santana, A.E.G.; Krettli, A.U. (2010). "Antimalarial activity of compounds and mixed fractions of *Cecropia pachystachya*". *Drug Development Research*, 71 (1): 82-91.
- Walker, C.I.; Zanetti, G.D.; Ceron, C.S.; Manfron, M.P. (2008). "Morfoanatomía e Histoquímica das folhas de *Luehea divaricata* Mart". *Latin American Journal of Pharmacy*, 27 (2): 203.
- Wallis, T.E. (1968). *Microscopía Analítica*. Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 254-257.
- Zarlavsky, G.E. (2014). *Histología Vegetal: técnicas simples y complejas*. Sociedad Argentina de Botánica: Buenos Aires, pp 13-46.

Presencia de *Baccharis spicata* (Lam.) Baill. en muestras comerciales rotuladas como “carqueja” adquiridas en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Ignacio J. Agudelo*, Beatriz G. Varela, Marcelo L. Wagner, Rafael A. Ricco

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Farmacología, Cátedra de Farmacobotánica.

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

Resumen

El género *Baccharis*, perteneciente a la familia Asteraceae, es un género de plantas perennes, dioicas, de hábitos arbustivos o herbáceos, con hojas enteras o tallos alados. Este género se ha estudiado ampliamente desde el punto de vista etnobotánico, farmacobotánico y farmacognóstico. En la medicina popular argentina, se utilizan principalmente *Baccharis articulata* (Lam.) Pers., *Baccharis trimera* (Less.) DC. y *Baccharis crispa* Spreng. como digestivas y hepatoprotectoras en infusiones. *Baccharis spicata* (Lam.) Baill. es empleada como sustituyente de las especies antes mencionadas. Con el fin de conocer el grado de dicha sustitución se realizó un análisis prospectivo de muestras rotuladas como “carqueja” en herboristerías de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires en los años 2017 y 2018 y se compararon sus caracteres morfológicos y micrográficos contra bibliografía especializada. Se determinó que cerca de la mitad de las muestras comercializadas corresponden a *B. spicata* y el resto a *B. articulata*, *B. trimera* y *B. crispa*.

Presence of *Baccharis spicata* (Lam.) Baill. in commercial samples labeled as “carqueja” purchased in the City of Buenos Aires

Summary

The genus *Baccharis* belongs to the Asteraceae family and it is characterized for its perennial, dioecious species with either leaves or winged stems. These plants have been widely studied regarding its ethnobotanical, pharmacobotanical and phytochemical aspects. *Baccharis articulata* (Lam.) Pers., *Baccharis trimera* (Less.) DC. and *Baccharis crispa* Spreng. are known as “carqueja”, and are used in the of Argentinian folk medicine as hepatoprotective and digestive agents in infusions. *Baccharis spicata* (Lam.) Baill. has been cited in several investigations as a substitute of the above mentioned species. The aim of this article is to know the degree of this substitution by the prospection and the pharmacobotanical analysis of commercial samples labeled as “carqueja”. Macroscopical and microscopical characters were obtained and compared to specialized bibliography. It was determined that near half of the obtained samples belonged to *B. spicata* y and the rest to *B. articulata*, *B. trimera* and *B. crispa*.

Introducción

Las plantas del género *Baccharis* son empleadas en la medicina popular debido a diversas propiedades terapéuticas. Las más importantes en este aspecto son *Baccharis trimera*, *Baccharis articulata* y *Baccharis crispa*; se emplean sus tallos alados y las tres fueron droga oficial de la Farmacopea Nacional Argentina 6° edición (1978). Por otro lado, *B. trimera* se encuentra incluida en la Farmacopea Brasileña (2010).

Alonso (2007) menciona su empleo como digestivo, hepatoprotector, colagogo, diurético, antidiarreico, febrífugo, cardiotónico, anticonceptivo y afrodisíaco, en infusiones o decocciones; esta última forma se emplea también de forma externa como antirreumático y antiséptico en heridas

y úlceras. Es empleada por la población de Paraguay como hipocolesterolemia e hipoglucemiantes. En Perú se emplea su decocción para el tratamiento de la gota, litiasis biliares y enfermedades venéreas además del uso ya conocido como digestivo, en tanto que en Brasil se emplea fundamentalmente como aperitivo, digestivo y hepatoprotector. Se ha documentado también su uso como antimalárico, tónico, antidiabético, diurético, antifebril, antirreumático, antihelmíntico, abortivo y afrodisíaco menos frecuentemente. En Uruguay se emplea también como antihelmíntico, febrífugo, tónico y contra la gastritis.

Algunos trabajos han reportado el empleo de *B. spicata*

Palabras clave: *Baccharis* - control de calidad - micrografía.

Key words: *Baccharis* - quality control - micrography.

como sustituyente de las tres especies oficiales (Barboza y col., 2001; Retta y col., 2009). Es una especie propia de pajonales húmedos del sur de Brasil, Paraguay, Uruguay y centro de Argentina, y forma parte del paisaje característico del Delta del Paraná, la ribera del Río de la Plata y de campos con poca modificación antropogénica (Cabrera y Zardini, 1978). Se la conoce en la Argentina con los nombres vulgares de “carqueja” (Camarero, 2000) al igual que las especies medicinales y “*pi is í mop*” en la etnia vilela (Zardini, 1984), aunque en Brasil forma parte de las plantas conocidas como “*vassouras*” (escobas) junto con *B. curitybensis*, *B. brevifolia*, *B. microdonta*, *B. pauciflosculosa* y *B. trilobata* (Bobek y col., 2016).

Es interesante resaltar que *B. spicata* morfológicamente es muy distinta a las tres especies del género antes mencionadas debido a la presencia de hojas opuestas y tallos no alados. Se ha documentado su actividad insecticida (Gallardo y col., 1996), antioxidante (Vieira y col., 2011) y tripanocida (Sulsen, 2005), aunque no existen datos de seguridad para su uso en humanos.

El objetivo de este trabajo es realizar un control de calidad farmacobotánico con el fin de identificar las especies rotuladas como “carqueja” que se dispensan en herboristerías y farmacias de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Materiales y métodos

Se adquirieron muestras trozadas, molidas y plantas enteras expandidas en herboristerías y farmacias especializadas. Para los estudios anatómicos de las muestras y del material de referencia se empleó la técnica del cuarteo para obtener una muestra representativa de la muestra comercial y la técnica de disociación leve (Zarlavsky, 2014) para observar los caracteres micrográficos. Brevemente, se trató el material por aproximadamente 5 minutos con NaOH 5 % p/v a temperatura de ebullición. Para el análisis de los caracteres micrográficos de estas muestras se realizó una comparación con datos extraídos del Atlas histo-morfológico de plantas de interés medicinal de uso corriente en Argentina (Barboza y col., 2001) y de trabajos científicos publicados en revistas reconocidas por investigadores con experiencia en el género (Cortadi y col., 1999; Rodríguez y col., 2010).

Resultados

B. spicata fue identificada de acuerdo con los caracteres micrográficos reportados por Bobek y col. (2016). Esta especie posee hojas enteras con bordes paucidentados (Figura 1 A) y nidos de tricomas flageliformes y tricomas glandulares pluricelulares (Figuras 1 B-D).

En cuanto a las especies oficiales, *B. articulata* y *B. crispa* fueron identificadas con los caracteres reportados por Cortadi (Cortadi y col., 1999).

En las muestras 1, 6, 9 y 10 se observaron caracteres ma-

croscópicos y micrográficos correspondientes a *B. articulata*, más específicamente la presencia de trozos de tallos bialados (Figura 2 A) y tricomas glandulares biseriados con base 2-celular y cuerpo con dos series de 4 células cada uno (Figura 2 B) y tricomas filiformes pluricelulares (Figura 2 C).

Las muestras 2, 3, 4 y 5 corresponden a *B. spicata*, debido a la presencia de trozos de hojas enteras con bordes paucidentados y nidos de tricomas flageliformes y tricomas glandulares pluricelulares, como se ha mencionado anteriormente.

La muestra 7, rotulada como *B. crispa*, presentó una mezcla de hojas enteras serradas de *B. spicata* y tallos trialados (Figura 3 A). En el análisis de estos tallos se observaron tricomas armados, simples, con 2 células basales de las cuales la subterminal es aproximadamente un 50 % más ancha y célula terminal con cutícula gruesa (Figura 3 B) en nidos junto con los tricomas glandulares biseriados antes mencionados, lo que indica que el otro componente de la mezcla es *B. crispa*. Estos caracteres también fueron observados en la muestra 12 en trozos.

Las muestras 8 y 9 correspondieron a un polvo en saquitos, por lo que fue imposible realizar una identificación macroscópica. El análisis micrográfico de la muestra 8 indicó la presencia de nidos de tricomas glandulares y tricomas flageliformes afines a *B. spicata*. En la muestra 8 también se pudo determinar la presencia de esclereidas irregulares y pelos tectores simples de *Camellia sinensis* L. Kuntze (Theaceae) (Figuras 3 C y D). La presencia de este ingrediente no figura en ninguna parte del rótulo. Por otro lado, en la muestra 9 se observaron los caracteres micrográficos correspondientes a *B. articulata*.

En la muestra 11 se determinó la presencia de una mezcla de *B. articulata* y *B. spicata*, mientras que la muestra 12 correspondió a *B. crispa*. Estas muestras se encontraban en trozos.

La muestra 13 consistió en una planta entera en maceta (Figura 4 A). Macroscópicamente correspondía a *B. trimera*, y al realizar el análisis micrográfico se observaron caracteres compatibles con esta especie: un tricoma tector con base pluricelular cuya célula subterminal es del mismo ancho que el del extremo proximal de la célula terminal (tricoma clavado) (Figura 4 B). Además, se observaron tricomas glandulares pluricelulares y tricomas pluricelulares biseriados similares a los de *B. articulata*.

La tabla 1 presenta los resultados de las identificaciones de muestras comerciales.

Discusión y conclusiones

Se realizó un análisis prospectivo de muestras rotuladas como “carqueja”. Los resultados demuestran que, de 13 muestras comercializadas, 7 corresponden a *B. spicata* o a mezclas que la incluyen. Esta especie es morfológica y anatómicamente distinta a las especies empleadas en la medicina tradicional.

B. spicata tiene como caracteres morfológicos la pre-

sencia de hojas enteras lineal lanceoladas, de borde paucidentado y de un ancho de 2 a 7 mm (Cabrera y Zardini, 1978). Sus caracteres micrográficos principales son los tricomas flageliformes y nidos de tricomas glandulares. El primer carácter sería el más representativo de la especie dado que los tricomas glandulares en nidos son frecuentes en el género (Freire y col., 2007; Rodríguez y col. 2010).

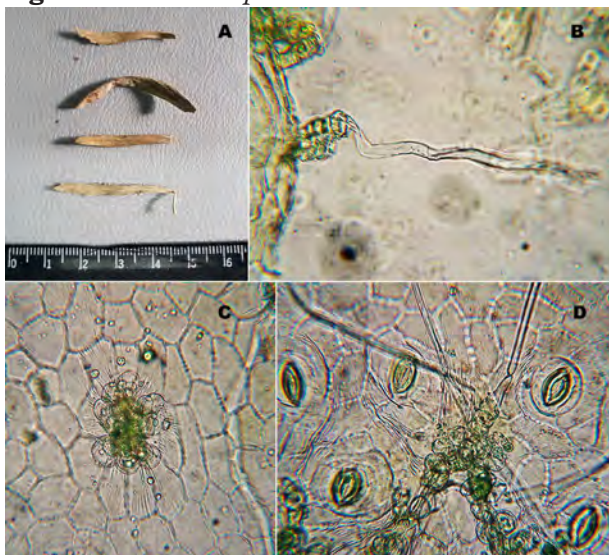
De encontrarse en trozos, *B. spicata* es una especie sumamente conspicua debido a las hojas enteras paucidentadas previamente mencionadas, a diferencia de las especies medicinales *B. articulata*, *B. trimera* y *B. crispa* que

poseen tallos alados.

Las 6 muestras restantes correspondieron a *B. articulata*, *B. trimera* y *B. crispa*. Estas especies figuran en la Farmacopea Nacional Argentina 6ª edición como droga oficial.

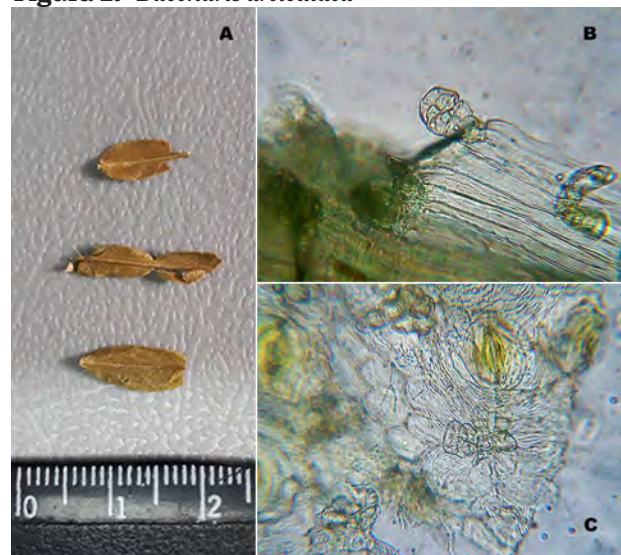
La muestra 8 tiene como ingrediente no declarado *C. sinensis* identificado por la presencia de esclereidas y tricomas tectores típicos de esta especie. La adición de este ingrediente podría deberse a la necesidad de mejorar el sabor de las infusiones de *Baccharis*, generalmente amargas.

Figura 1.- *Baccharis spicata*



A: en trozos; **B:** tricoma flageliforme (400x); **C:** nidos de tricomas glandulares capitados (400x); **D:** nidos de tricomas glandulares capitados y tricomas flageliformes (400x)

Figura 2.- *Baccharis articulata*



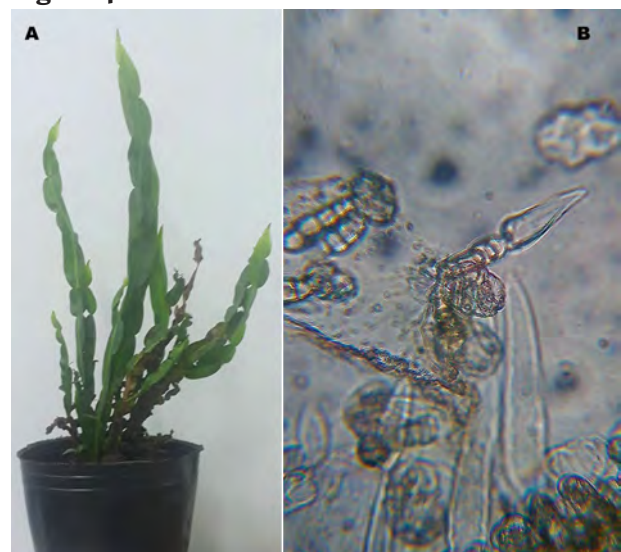
A: en trozos; **B:** tricoma biseriado con dos células basales y cuerpo con dos series de 4 células cada una, a la derecha (fuera de foco) un tricoma filiforme pluricelular aislado (400x); **C:** nidos de tricomas filiformes pluricelulares con tricoma biseriado (400x)

Figura 3.- *Baccharis trialada*, *B. crispa*, *Camelia sinensis*



A: restos en trozos de *Baccharis trialada*; **B:** tricoma armado de *B. crispa* (400x); **C:** esclereida irregular de *C. sinensis* (400x); **D:** tricoma tector de *C. sinensis* (400x)

Figura 4.- *Baccharis trimera*



A: en maceta; **B:** tricomas armado

Tabla 1.- Especies identificadas en el análisis farmacobotánico de muestras rotuladas como "carqueja"

Muestra	Presentación	Especie declarada	Especie propuesta (caracteres macroscópicos)	Especie propuesta (caracteres microscópicos)
1	Trozos	"carqueja"	<i>B. articulata</i>	<i>B. articulata</i>
2	Trozos	"carqueja"	<i>B. spicata</i>	<i>B. spicata</i>
3	Trozos	"carqueja"	<i>B. spicata</i>	<i>B. spicata</i>
4	Trozos	<i>B. crispa</i>	<i>B. spicata</i>	<i>B. spicata</i>
5	Trozos	"carqueja"	<i>B. spicata</i>	<i>B. spicata</i>
6	Trozos	<i>B. articulata</i>	<i>B. articulata</i>	<i>B. articulata</i>
7	Trozos	<i>B. crispa</i>	<i>B. spicata</i> y especie trialada	<i>B. spicata</i> (mayoritario) <i>B. crispa</i> (minoritario)
8	Saquitos	"carqueja"	Muestra molida	<i>B. spicata</i> y <i>Camelia sinensis</i>
9	Saquitos	"carqueja"	Muestra molida	<i>B. articulata</i>
10	Trozos	"carqueja"	<i>B. articulata</i>	<i>B. articulata</i>
11	Trozos	"carqueja"	<i>B. articulata</i> y <i>B. spicata</i>	<i>B. articulata</i> y <i>B. spicata</i>
12	Trozos	"carqueja"	<i>Baccharis crispa</i>	<i>Baccharis crispa</i>
13	Planta entera en maceta	"carqueja"	<i>Baccharis trimera</i>	<i>Baccharis trimera</i>

La evidencia demuestra que prácticamente un tercio de las muestras son de *B. articulata*, otro tercio pertenece a *B. spicata*, una sexta parte de las muestras son de *B. crispa* y la sexta parte restante corresponde mezclas de *B. spicata* y *B. crispa*. *B. spicata* se encuentra presente en el 55 % de las muestras comerciales analizadas como monodroga o en mezclas.

Esta sustitución se debería a que *B. spicata* es una especie más frecuente que las oficiales, y dado su hábito arbustivo y su gran tamaño, es mucho más conveniente para recolectar gran cantidad de material. Este estudio tiene una limitación: la investigación prospectiva fue realizada en comercios minoristas. Sería interesante recorrer toda la cadena de valor para encontrar el agente que toma la decisión de reemplazar una especie por otra y conocer las razones de esta sustitución.

Este estudio permite dar una idea del grado de sustitución de las especies vegetales vendidas bajo el rótulo de "carqueja" en la Ciudad de Buenos Aires.

Hay muy poca evidencia disponible de la eficacia y seguridad de *B. spicata* en ensayos *in vitro* e *in vivo*; tampoco hay evidencia de uso ancestral. Dada la existencia de especies tóxicas como *Baccharis coridifolia* DC, y la indicación de uso que poseen las especies medicinales del género, son necesarios estudios de seguridad toxicológica y de actividad hepatoprotectora, colagoga y colerética entre otras.

En conclusión, *Baccharis spicata* se encuentra presente en más de la mitad de las muestras rotuladas como "carqueja" comercializadas durante el año 2017/2018 en herboristerías y dietéticas de la Ciudad de Buenos Aires, República Argentina. Esta sustitución podría afectar a la salud de la población dado que se desconoce no sólo la seguridad de *B. spicata*, sino también su eficacia frente a las patologías para las que es empleada.

Referencias bibliográficas

- Alonso, J.R. (2007). *Tratado de fitofármacos y nutracéuticos*. Corpus, Buenos Aires.
- Barboza, G.E.; Bonzani, N.; Filippa, E.M.; Luján, M.C.; Morero, R.; Bugatti, M.; Decolatti, N.; Ariza Espinar, L. (2011). *Atlas histórico-morfológico de plantas de interés medicinal de uso corriente en Argentina*. Museo Botánico Córdoba, Córdoba.
- Bobek, V.B.; Heiden, G.; Oliveira, C.F.D.; Almeida, V.P.D.; Paula, J.P. D.; Farago, P.V.; Nakashima, T. (2016). "Comparative analytical micrographs of 'vassouras' (*Baccharis*, Asteraceae)". *Revista Brasileira de Farmacognosia* 26 (6): 665–672.
- Cabrera, A.L.; Zardini, E.M. (1978). *Manual de la flora de los alrededores de Buenos Aires*. Editorial ACME, Buenos Aires.
- Camarero, P.L.C. (2000). "Nombres vulgares de Asteraceae del herbario del Museo 'Juan A. Domínguez' (Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA)". *Domínguezia* 16 (1): 15–46.
- Cortadi, A.; Sapio, O.D.; Cargo, J.M.; Scandizzi, A.; Gattuso, S.; Gattuso, M. (1999). "Anatomical studies of *Baccharis articulata*, *Baccharis crispa* and *Baccharis trimera*, 'Carquejas' used in folk medicine". *Pharmaceutical Biology* 37 (5): 357–365.
- Farmacopea Brasileña (2010). V edición.
- Farmacopea Nacional Argentina (1978). VI edición.
- Freire, S.; Urtubey, E.; Giuliano, D.A. (2007). "Epidermal characters of *Baccharis* (Asteraceae) species used in traditional medicine". *Caldasia*, 29 (1), 23–38.
- Gallardo, O.V.; Tonn, C.; Nieto, M.; Morales, G.B.; Giordano, O.S. (1996). "Bioactiveneo-Clerodane diterpenoids toward *Tenebrio Molitor* larvae from *Teucrium nudicaule* H. and *Baccharis spicata* (Lam.) Baill". *Natural Product Letters* 8 (3): 189–197.
- Retta, D.; Gattuso, M.; Gattuso, S.; Lira, P.D.L.; Baren, C.V.; Bandoni, A. (2009). "Volatile constituents of five *Baccharis* species from Northeastern Argentina". *Journal of the Brazilian*

Chemical Society 20 (7): 1379–1384.

- Rodríguez, M.V.; Martínez, M.L.; Cortadi, A.A.; Bandoni, A.; Giuliano, D.A.; Gattuso, S.J.; Gattuso, M.A. (2010). "Characterization of three sect. Caulopterae species (*Baccharis*-Asteraceae) inferred from morphoanatomy, polypeptide profiles and spectrophotometry data". *Plant Systematics and Evolution* 286 (3-4): 175–190.
- Sülsen, V.; Güida, C.; Coussio, J.; Paveto, C.; Muschietti, L.; Martino, V. (2005). "In vitro evaluation of trypanocidal activity in plants used in Argentine traditional medicine". *Parasitology Research* 98 (4): 370–374.
- Vieira, T.O.; Seifriz, I.; Charão, C.C.T.; Oliveira, S.Q.D.; Creczynski-Pasa, T. B. (2011). "Antioxidant effects of crude extracts from *Baccharis* species: inhibition of myeloperoxidase activity, protection against lipid peroxidation, and action as oxidative species scavenger". *Revista Brasileira de Farmacognosia* 21 (4): 601–607.
- Zardini, E.M. (1984). "Etnobotánica de Compuestas Argentinas con especial referencia a su uso farmacológico". *Acta Farm. Bonaerense* 3 (1): 77-99.
- Zarlavsky, G.E. (2014). *Histología Vegetal: técnicas simples y complejas*. Sociedad Argentina de Botánica, Buenos Aires.

Valoración de la actividad de extractos acuosos de diferentes órganos vegetativos de *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae) sobre la excreción volumétrica urinaria de ratas Wistar

Mauricio R. Teves*, Graciela H. Wendel

Farmacología, Departamento de Farmacia. Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis. Chacabuco y Pedernera, D5700BWS San Luis, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: maurote@unsl.edu.ar

Resumen

En la medicina popular de Argentina, Brasil y Uruguay se referencia el uso de diferentes partes vegetativas de *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae) para el tratamiento de variadas afecciones del sistema renal. El objetivo de nuestro trabajo fue valorar el efecto diurético de extractos acuosos de distintos órganos vegetativos de *J. rhombifolia* en ratas Wistar. Se empleó el método propuesto por Lipschitz y col. (con modificaciones), para ensayar y valorar la actividad diurética. Comparativamente, se estableció un grupo control negativo (vehículo) y un grupo control positivo (Furosemida: 10 mg/kg). La excreción urinaria se cuantificó cada 15 minutos y durante un período de 3 horas de experimentación. Hubo un incremento, estadísticamente significativo, en el volumen de orina recolectado como consecuencia de la administración de los diferentes extractos. Los extractos de hojas y floema mostraron la mayor actividad diurética; la decocción de raíces resultó el extracto menos activo. Con los extractos de ramas jóvenes, floema y hojas se registró una mayor rapidez de comienzo de acción. Ninguno de los extractos ensayados logró equiparar la potencia del fármaco diurético utilizado como referencia (Furosemida). La administración de los extractos no modificó significativamente el pH y la densidad urinaria. Estos resultados indican que la administración oral de una dosis única de cada uno de los extractos desencadenó un aumento significativo en la actividad diurética según el modelo experimental utilizado, y permiten el aporte de bases científicas que acreditan el uso y forma de utilización en la medicina popular y tradicional de Sudamérica.

Assessment of the aqueous extracts activity of different vegetative organs of *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae) on urinary volumetric excretion of Wistar rats

Summary

In Argentina, Brazil and Uruguay folk medicine the use of different vegetative parts of *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae) for the treatment of various renal system diseases is referenced. The aim of this work was to evaluate the diuretic effect of aqueous extracts from different *J. rhombifolia* vegetative organs on Wistar rats. The method proposed by Lipschitz *et al.* (with modifications), was used to test and assess diuretic activity. Comparatively, a negative (vehicle) and a positive control group (Furosemide: 10 mg/kg) were established. Urinary excretion was quantified every 15 minutes for a period of 3 hours of experimentation. There was a statistically significant increase in the urine volume collected as result of the administration of all extracts. Leaf and phloem extracts showed the highest diuretic activity; root decoction was the least active extract. With the young branches, phloem and leaves extracts there was a greater rapidity of onset of action. None of the extracts tested were able to match the potency of the diuretic drug used as reference (Furosemide). The vegetal extracts administration did not significantly modified the values of pH and urinary density. These results indicate that oral administration of a single dose of each of the extracts triggered a significant increase in diuretic activity according to the experimental model used, and allow the contribution of scientific bases that accredit the popular use and utilization form in the South America popular and traditional medicine.

Palabras clave: extractos acuosos - órganos vegetativos - *Jodina rhombifolia* - actividad diurética.

Key words: aqueous extracts - vegetative parts - *Jodina rhombifolia* - diuretic activity.

Introducción

Los agentes diuréticos desencadenan una alteración de la función renal, con aumento en la excreción de agua e iones Na^+ , e incremento concomitante en el volumen total de orina eliminada (Rang y col., 2012); por tal motivo, representan un grupo de agentes frecuentemente utilizados en el tratamiento de la hipertensión, los desbalances electrolíticos, la insuficiencia cardíaca y en estados hipervolémicos (Roush y col., 2014). Los efectos adversos consecuencia del uso de estos fármacos son relativamente numerosos y de distinta clasificación, teniendo en cuenta su gravedad y su frecuencia, lo cual permite determinar el impacto sanitario de estos efectos indeseables (Delgado y Portolés, 2008; Flórez y Armijo, 2014; Katzung y Trevor, 2015; Laporte y Capellá, 1993; Rang y col., 2012; Roush y col., 2014).

Los agentes diuréticos se encuentran incorporados dentro del grupo de fármacos considerados como de primera línea para el tratamiento de la hipertensión arterial (Gijón-Conde y col., 2018). Muchas de las plantas que en la medicina popular y tradicional se utilizan como diuréticas, ofrecen una alternativa terapéutica para el control de la presión arterial. Por lo tanto, aportar desde el campo científico estudios que permitan validar tal utilización por medio de ensayos farmacológicos preclínicos, resulta muy valioso.

En la medicina popular de Argentina, Brasil y Uruguay existen registros bibliográficos etnobotánicos que manifiestan el uso de preparaciones caseras a base de diferentes partes vegetativas de *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae) para el tratamiento de diversas afecciones del sistema renal (Baptista y col., 2013; Barboza y col., 2009; Castiñeira Latorre y col., 2018; Dluzniewski y Gheller Müller, 2018; Hurrell y col., 2011; Oliveira y col., 2012; Romeo, 2015); sin embargo, el uso específico como diurético solamente se referencia en prácticas médicas tradicionales y populares de Brasil (Baptista y col., 2013; Dluzniewski y Gheller Müller, 2018). Por otra parte, en la medicina veterinaria tradicional de la Argentina se referencia el uso de partes aéreas para trastornos urinarios y dificultad para orinar (Martínez y Luján, 2011), y de las hojas como diurético (Martínez y Jiménez-Escobar, 2017).

El objetivo del presente trabajo de investigación radicó en evaluar, valorar y analizar los efectos de la administración oral de diferentes extractos de *J. rhombifolia* obtenidos a partir de distintos órganos sobre el volumen de excreción urinaria de ratas Wistar.

Materiales y Métodos

Recolección, identificación y conservación del material vegetal

Las partes aéreas y raíces de *J. rhombifolia* se recolectaron en el establecimiento "Los Chañares" de la localidad "Fraga",

Departamento "Coronel Pringles", provincia de San Luis, siguiendo las directrices emanadas de la Organización Mundial de la Salud (Organización Mundial de la Salud, 2003). Para la recolección del material vegetal fueron seleccionados aquellos ejemplares que se encontraran distantes de sembradíos, zanjas de drenaje, zonas de pastoreo y carreteras. La recolección de las raíces y las cortezas se realizó durante mayo-junio, de las hojas entre junio y mediados de julio, y de las ramas jóvenes y de los floema durante octubre-noviembre; siempre procurando de realizar la recolección en horas cercanas al mediodía. La corteza se obtuvo decortizando el tallo principal, las raíces laterales de ejemplares adultos en etapa de reposo vegetativo, las hojas en etapas previas a la floración y las ramas jóvenes y el floema en el momento de máxima actividad fotosintética de la planta. Para obtención del floema, se removió una parte de la corteza externa de las ramas secundarias (en secciones longitudinales y de las zonas con baja exposición solar), recolectándose las capas celulares vivas inmediatas de la corteza interna.

La recolección del material vegetal desde su hábitat natural fue aprobada por el Jefe del Programa "Biodiversidad", Ministerio de Medio Ambiente del Gobierno de la provincia de San Luis (Resolución N° 588-PBD-2014).

Para futura referenciación, fueron recolectadas muestras de la especie vegetal por triplicado; preparadas y acondicionadas para su conservación y posteriormente depositadas en el Herbario de la Universidad Nacional de San Luis (Acrónimo: UNSL), República Argentina, bajo el registro No. 517. La identidad botánica de la especie se determinó por medio de la aplicación de los métodos taxonómicos clásicos y subsiguientemente certificada por la Dra. Marta Elena Petenatti (Herbario UNSL).

Animales experimentales

Se utilizaron ratas Wistar de ambos sexos con un peso comprendido entre 180 y 200 g, suministradas por el Bioterio Central de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la UNSL (Argentina), según protocolos de experimentación aprobados por Resolución N° 1782/15 del Consejo Directivo de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la UNSL.

Los animales se aclimataron al nuevo ambiente durante tres días; la manipulación de las ratas y la administración de las soluciones extractivas siempre fueron ejecutadas por el mismo operador.

Los animales experimentales estuvieron alojados a una temperatura constante de 22 ± 3 °C (con períodos de cambios de aire), humedad relativa del 50-60 % y con un ciclo día/noche de 12 horas (luces encendidas de 07:00 a 19:00); con libre acceso a la comida (alimento para ratas de laboratorio estándar) y bebida (agua de canilla en un bebedero adecuado).

El cuidado, la atención y los procedimientos efectuados con los animales de experimentación estuvieron en conformidad con la Disposición N° 6344/96 de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT, 1996).

Obtención de los extractos vegetales

Los diferentes órganos vegetativos de *J. rhombifolia* fueron seleccionados minuciosamente; se secaron al aire hasta obtener un peso constante y posteriormente se redujeron y molieron a polvo con una trituradora adecuada.

Por separado, los extractos acuosos de las hojas y del floema se obtuvieron por infusión del material vegetal en proporción 1:10 en agua destilada, siguiendo la metodología expuesta en la Farmacopea Argentina (Farmacopea Argentina, 2013). Por otra parte, los extractos de la corteza, las raíces y las ramas jóvenes fueron obtenidos por decocción del ingrediente vegetal en proporción 1:10 en agua (Farmacopea Argentina, 2013). Cada una de las infusiones y decocciones fueron preparadas el mismo día del ensayo, según planificación de la experimentación.

En el extracto acuoso del floema se practicó el test de la espuma para evidenciar presencia de saponinas (dilución de 5 ml de filtrado + 20 ml de agua y agitación vigorosa) (Kumar y Patra, 2017).

Ensayo de la actividad diurética

Se empleó el método propuesto por Lipschitz y col. (1943), con modificaciones, para ensayar y valorar la actividad diurética. Los animales fueron divididos en siete grupos de seis ratas cada uno; un grupo control negativo [administrado con vehículo (solución salina): 1 ml/100 g peso; vía oral], un grupo control positivo (Furosemida: 10 mg/kg peso; vía intraperitoneal) y un grupo experimental por cada extracto acuoso vegetal a ensayar (1 ml/100 g peso; vía oral).

Los animales fueron expuestos a un ayuno de 18 horas en forma previa al comienzo de la experimentación, con libre acceso a un bebedero con agua de la canilla y alojados en jaulas adecuadas. La administración oral de las muestras se realizó mediante el uso de un catéter gástrico y la administración intraperitoneal de furosemida a través de aguja 25/8.

Sucedida la administración correspondiente según el lote de pertenencia, los animales recibieron una sobrecarga hídrica (a razón de 10 ml de agua de la canilla por cada 200 g de peso del animal) y fueron colocados individualmente en jaulas metabólicas especialmente diseñadas para separar la orina de las heces, y adecuadas para la recolección de orina en cilindros graduados de medición.

Posteriormente, la excreción urinaria de cada animal se controló y cuantificó cada 15 minutos durante un período de 3 horas de experimentación. Para cada registro de recolección de orina, se calculó la Excreción Volumétrica Urinaria (UVE) mediante el uso de la siguiente fórmula:

$$UVE = \frac{\text{volumen recolectado}}{\text{volumen administrado}} * 100$$

Además, para cada grupo, se calculó el Índice Diurético (Volumen del grupo experimental/Volumen del grupo control negativo) y la Actividad Diurética (Índice diurético del grupo experimental/Índice diurético del grupo control positivo) (Hailu y Engidawork, 2014).

Durante las tres horas de duración del ensayo, los animales no tuvieron acceso ni a la comida ni al agua. Culminado el procedimiento experimental, los animales fueron eutanizados por inhalación de dióxido de carbono en una cámara diseñada a tal fin.

En las muestras de orina fresca de cada grupo experimental y control se determinó: pH, densidad y presencia de urobilinógeno, glucosa, cetonas, bilirrubina, proteínas, nitritos, sangre, leucocitos y ácido ascórbico, mediante el uso de tiras reactivas para orina Urine strip 10 (Wiener Laboratorios S.A.I.C).

Análisis estadístico de los resultados

El análisis se realizó mediante la utilización de los programas estadísticos GraphPad Prism versión 6.01 para Windows y GraphPad InStat versión 3.00 para Windows (GraphPad Software, San Diego, California, EE. UU., www.graphpad.com). Los datos fueron expresados como la Media \pm S.E.M. (Error estándar de la media). En todos los casos, una probabilidad de $p < 0,05$ fue considerada estadísticamente significativa. Los gráficos se crearon con los programas GraphPad Prism 6.01 y Microsoft Office Excel 2013 (Microsoft, USA).

La UVE total de cada grupo experimental fue comparada con la UVE correspondiente al control negativo y al positivo mediante el análisis de varianza de una vía (1-way ANOVA) con aplicación del test de comparaciones múltiples de Bonferroni. El examen estadístico de los valores de la UVE para cada periodo de 15 minutos fue evaluado separadamente por el análisis de varianza de dos vías (2-way ANOVA) [tratamiento; tiempo (período 15 min)] con medidas repetidas en el factor "tiempo", seguido de la prueba posterior de Sidak's para comparar, a cada periodo de tiempo, los valores de la media de cada Grupo experimental vs. Grupo control negativo y el Grupo control positivo.

Los registros de pH y densidad urinaria de cada grupo fueron examinados por el análisis de varianza de una vía (1-way ANOVA) con aplicación de la prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni.

Resultados

La administración de los diferentes decoctados e infusiones demostró experimentalmente un incremento, estadísticamente significativo, en el volumen de orina

Tabla 1. - Efecto de los extractos acuosos de partes de *J. rhombifolia* sobre la excreción total de orina en ratas y su comparación estadística frente al grupo control negativo

Grupo	UVE \pm SEM	<i>p</i> vs. control negativo	Índice diurético	Actividad diurética
Control negativo	41,16 \pm 6,75	-	1,00	0,38
Raíz	60,82 \pm 2,74	<i>p</i> < 0,05	1,48	0,57
Ramas jóvenes	63,31 \pm 3,32	<i>p</i> < 0,01	1,54	0,59
Corteza	64,50 \pm 3,70	<i>p</i> < 0,01	1,57	0,60
Floema	67,04 \pm 4,62	<i>p</i> < 0,001	1,63	0,63
Hojas	68,60 \pm 1,72	<i>p</i> < 0,001	1,67	0,64
Control positivo	107,13 \pm 4,90	<i>p</i> < 0,001	2,60	1,00

Índice diurético: volumen del grupo experimental / volumen del grupo control negativo.

Actividad diurética: índice diurético del grupo experimental / índice diurético del grupo control positivo.

en comparación con el establecido grupo de control negativo. Los valores totales de la UVE, índice diurético y actividad diurética para cada grupo experimental y su respectiva significancia versus el grupo control negativo son referidos en la tabla 1.

Teniendo en cuenta los intervalos de registro de la actividad diurética para cada uno de los extractos vegetales, se observó que con la decocción de las ramas jóvenes al 10 % y con la infusión de las hojas al 10 %, el incremento en el volumen de orina registrado fue significativamente mayor que el grupo control negativo a partir de los 60 minutos de comenzada la experimentación y hasta el final (Figuras 1 y 2). La infusión del floema al 10 %, mostró un incremento estadísticamente significativo a partir de los 75 minutos (Figura 3) y la decocción de la corteza al 10 % a partir de los 135 minutos (Figura 4). La decocción de raíces al 10 % resultó el extracto menos activo de los ensayados; un aumento significativo del volumen de orina solamente fue registrado a las 3 horas de administrado a los animales (Figura 5). El análisis comparativo del efecto de los diferentes extractos acuosos, a cada intervalo de registro de la actividad diurética, muestra un cierto grado de paralelismo y de mayor rapidez de comienzo de acción en los extractos de ramas jóvenes, floema y hojas (Figura 6).

Los resultados por separado de cada extracto vegetal frente al grupo control negativo, mediante el análisis de varianza de dos vías (2-way ANOVA) [tratamiento (dosis de extracto); tiempo (período 15 min)] con medidas repetidas en el factor "tiempo" y posterior prueba de Sidak's, demostró que:

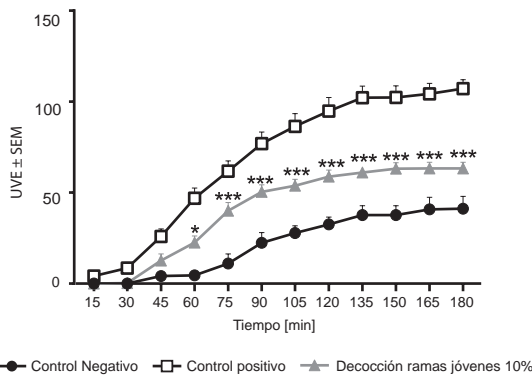
- **Corteza vs. Control negativo.** El ANOVA indicó que no hubo una modificación significativa por el tratamiento [$F_{(1,10)} = 3,952$; $p=0,0683$]. Sin embargo, el análisis demostró un significativo efecto del tiempo [$F_{(11,110)} = 122,30$; $p < 0,0001$], y una significativa interacción tiempo-tratamiento [$F_{(11,110)} = 7,354$; $p < 0,0001$] sobre la actividad diurética. El test fue considerado extremadamen-

te significativo [$F_{(10,110)} = 12,29$; $p < 0,0001$].

- **Ramas jóvenes vs. Control negativo.** El ANOVA indicó un significativo efecto del tratamiento [$F_{(1,10)} = 24,92$; $p < 0,001$], y del tiempo [$F_{(11,110)} = 107,20$; $p < 0,0001$], y una significativa interacción tiempo-tratamiento [$F_{(11,110)} = 6,779$; $p < 0,0001$] sobre la actividad diurética. El test fue considerado extremadamente significativo [$F_{(10,110)} = 11,05$; $p < 0,0001$].
- **Raíz vs. Control negativo.** El ANOVA indicó que a consecuencia del tratamiento con la decocción de raíces al 10 % no hubo una modificación estadísticamente significativa en la excreción volumétrica urinaria [$F_{(1,10)} = 3,775$; $p = 0,0759$]. Sin embargo, hubo un significativo efecto del tiempo [$F_{(11,110)} = 93,78$; $p < 0,0001$], y una significativa interacción tiempo-tratamiento [$F_{(11,110)} = 3,333$; $p < 0,001$]. El test es considerado extremadamente significativo [$F_{(10,110)} = 15,78$; $p < 0,0001$].
- **Floema vs. Control negativo.** El ANOVA indicó un significativo efecto del tratamiento [$F_{(1,10)} = 25,05$; $p < 0,001$], y del tiempo [$F_{(11,110)} = 74,45$; $p < 0,0001$], y una significativa interacción tiempo-tratamiento [$F_{(11,110)} = 4,98$; $p < 0,0001$] sobre la actividad diurética. El test fue considerado extremadamente significativo [$F_{(10,110)} = 7,531$; $p < 0,0001$].
- **Hojas vs. Control negativo.** El ANOVA indicó un significativo efecto del tratamiento [$F_{(1,10)} = 24,77$; $p < 0,001$], y del tiempo [$F_{(11,110)} = 90,17$; $p < 0,0001$], y una significativa interacción tiempo-tratamiento [$F_{(11,110)} = 6,766$; $p < 0,0001$] sobre la actividad diurética. El test fue considerado extremadamente significativo [$F_{(10,110)} = 9,838$; $p < 0,0001$].

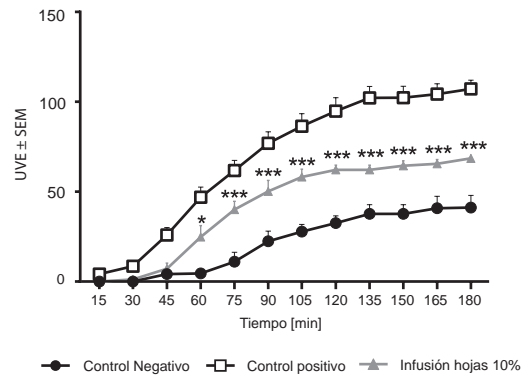
El análisis de las muestras frescas de orina de los cinco grupos experimentales, administrados con los distintos extractos acuosos de corteza, raíz, ramas jóvenes, hojas y floema, no acusó presencia de urobilinógeno, glucosa, cetonas, bilirrubina, proteínas, nitritos, sangre, leucocitos y ácido ascórbico en la orina recogida. Las variaciones en los valores de pH y densidad urinaria no fueron estadísticamente significativos en su comparación frente al grupo de control negativo.

Figura 1.- Efecto de la administración oral de la decocción al 10 % de las ramas jóvenes de *Jodina rhombifolia* sobre la UVE



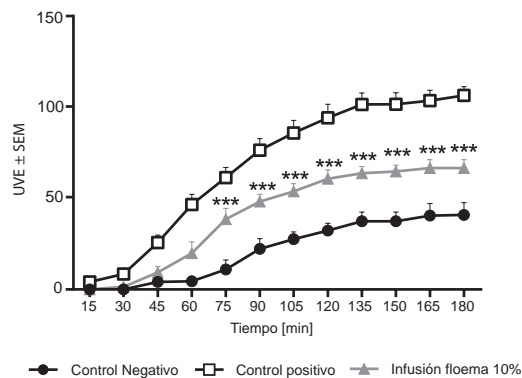
Excreción volumétrica urinaria (UVE) de ratas Wistar y su comparación con el grupo control negativo (vehículo) y el grupo control positivo (Furosemida: 10 mg/kg). Significancia vs. control negativo: * (p < 0,05); *** (p < 0,001).

Figura 2.- Efecto de la administración oral de la infusión al 10 % de las hojas de *Jodina rhombifolia* sobre la UVE



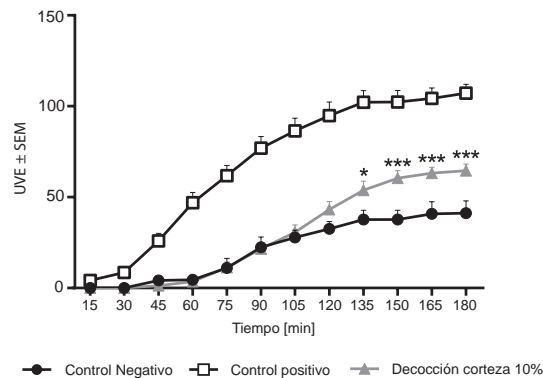
Excreción volumétrica urinaria (UVE) de ratas Wistar y su comparación con el grupo control negativo (vehículo) y el grupo control positivo (Furosemida: 10 mg/kg). Significancia vs. control negativo: * (p < 0,05); *** (p < 0,001).

Figura 3.- Efecto de la administración oral de la infusión al 10 % del floema de *Jodina rhombifolia* sobre la UVE



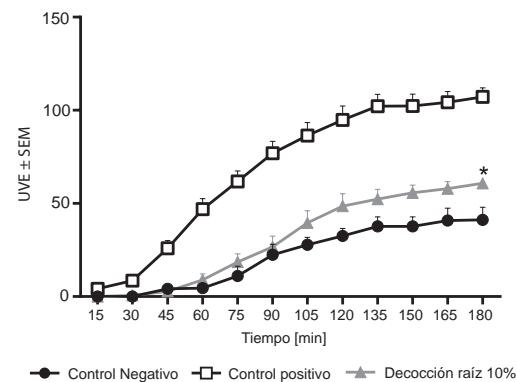
Excreción volumétrica urinaria (UVE) de ratas Wistar y su comparación con el grupo control negativo (vehículo) y el grupo control positivo (Furosemida: 10 mg/kg). Significancia vs. control negativo: *** (p < 0,001).

Figura 4.- Efecto de la administración oral de la decocción al 10 % de la corteza de *Jodina rhombifolia* sobre la UVE



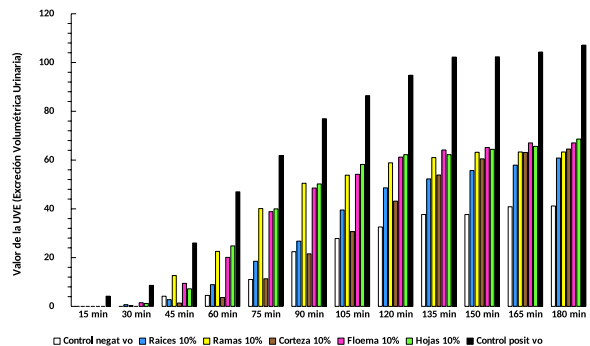
Excreción volumétrica urinaria (UVE) de ratas Wistar y su comparación con el grupo control negativo (vehículo) y el grupo control positivo (Furosemida: 10 mg/kg). Significancia vs. control negativo: * (p < 0,05); *** (p < 0,001).

Figura 5.- Efecto de la administración oral de la decocción al 10 % de la raíz de *Jodina rhombifolia* sobre la UVE



Excreción volumétrica urinaria (UVE) de ratas Wistar, comparación con el grupo control negativo (vehículo) y el grupo control positivo (Furosemida: 10 mg/kg). Significancia vs. control negativo: * (p < 0,05).

Figura 6.- Efecto de los diferentes extractos acuosos de órganos vegetativos de *Jodina rhombifolia* sobre la UVE



Excreción volumétrica urinaria (UVE) de ratas Wistar en cada período de tiempo, comparación con el grupo control negativo (vehículo) y el grupo control positivo (Furosemida: 10 mg/kg). En el eje de las ordenadas se representa el valor de la UVE para cada extracto vegetal y para cada período de tiempo de experimentación.

Discusión y conclusiones

Los estudios realizados con base en la práctica de la experimentación farmacológica preclínica de productos obtenidos por extracción acuosa de plantas medicinales enteras o de sus partes y cuyo uso en la medicina popular es manifiesto, resultan, en primera línea, de gran importancia para lograr la validación del uso folklórico y permitir el aporte de un sustento científico a su forma de utilización en la práctica.

El ensayo de la actividad diurética de los diferentes extractos acuosos de *J. rhombifolia* nos ha permitido aportar, desde el campo científico, un sustento para la utilización como tal en la medicina casera o popular, ya que en base al modelo experimental aplicado, hemos podido demostrar que los extractos de ramas las jóvenes, los floema y las hojas motivaron un incremento estadísticamente significativo de la excreción volumétrica urinaria en ratas Wistar en su comparación con un establecido grupo control negativo, en el cual los animales fueron administrados con vehículo. La administración oral de las decocciones de las raíces, ramas jóvenes y corteza motivaron un incremento de la eliminación de orina en un 48, 54 y 57 %, respectivamente. Por su parte, las infusiones de floema y de hojas ocasionaron un incremento mayor, de un 63 y 67 % respectivamente (siempre en comparación con el grupo control negativo).

La furosemida es un diurético del asa ampliamente seleccionado como fármaco de referencia en modelos farmacológicos experimentales (Agunu y col., 2005; Aissaoui y col., 2008; Mekonnen y col., 2010; Montejano Rodríguez y col., 2013), debido a su eficacia y producción de una diuresis copiosa (Flórez y Armijo, 2014; Rang y col., 2012). Tras una administración oral, el efecto diurético de la furosemida comienza aproximadamente luego de 60 minutos (Hanson, 2003), pero, por otra parte, la biodisponibilidad por esta vía resulta fluctuante, en un rango de 10-100 % (Wargo y Banta, 2009). Con base en tales características farmacocinéticas y en la duración de la prueba para ensayar la actividad diurética de los extractos, es que se seleccionó la vía intraperitoneal para administración de la furosemida; registrándose trabajos de investigación que la emplean como referencia diurética ante extractos vegetales administrados por vía oral (Bose y col., 2007; Montejano Rodríguez y col., 2013). En nuestro trabajo, ninguno de los extractos acuosos ensayados logró equiparar la potencia del fármaco diurético utilizado como referencia (Furosemida) en el grupo control positivo.

Los principios activos vegetales presentes en los distintos órganos o en las partes de las plantas, son extraídos mediante el uso de diferentes alternativas que permiten su aplicación en las prácticas de la medicina humana. Estos extractos resultan en mezclas complejas de componentes químicos, por tanto, la actividad biológica que exhiba puede ser debida a la presencia de uno o va-

rios constituyentes activos. El agua resultó ser el primer elemento y más utilizado por el hombre, como solvente extractivo, para lograr "sacar" tales ingredientes farmacológicamente activos mediante preparaciones en frío o en caliente (López Villar y col., 1997). La presente evaluación de la actividad diurética de las diferentes infusiones y decocciones de los órganos de *J. rhombifolia*, nos permite lograr un acercamiento científico a su forma de utilización en la medicina popular. En nuestro trabajo y acorde al modelo utilizado, la infusión de las hojas al 10 % y la infusión del floema al 10 % exhibieron la mayor actividad diurética, sin embargo, son requeridos posteriores estudios destinados a evaluar cuál/es es/son el/los componente/s químico/s activo/s responsable/s de la actividad observada y, además, profundizar en el conocimiento del mecanismo por el cual ejerce/n su acción.

A pesar de tratarse de una especie vegetal de amplio uso en la medicina tradicional de diferentes regiones del Brasil y la Argentina, las investigaciones destinadas a la dilucidación de los constituyentes químicos son relativamente escasas. En las hojas, fueron identificados como principales grupos químicos: compuestos fenólicos, ácidos orgánicos, taninos, flavonoides, esteroides, gomas y mucilagos; en sus partes aéreas: esteroides, triterpenoides, alcaloides, cumarinas, saponinas (Barboza y col., 2009). A su vez, también se demostró la presencia de esteroides y triterpenos en gran cantidad, y de alcaloides, cumarinas y saponinas en bajas proporciones en el extracto etanólico de las hojas (Alice y col., 1991). Además, fueron identificados los siguientes C- glicosilflavonoides en las hojas: 2-vicenina, vitexina, orientina, swertisina (Montanha y col., 2009) e isovitexina (Caraballo de la Peña, 2015).

Basados en la escasez de estudios fitoquímicos de la especie, es que resulta difícil atribuir el efecto diurético a determinados grupos químicos. Dentro de esta escasez de datos químicos, podemos descartar la participación de los C-glicosilflavonoides en la actividad diurética observada con el extracto acuoso de las hojas, ya que la tasa de absorción a nivel del tracto digestivo de este grupo de metabolitos es muy escasa, requiriéndose de prolongados tiempos de contacto con la mucosa para su absorción y que puedan ejercer su acción farmacológica (Talhi y Silva, 2012; Zeng y col., 2013).

Varias investigaciones denotan que las saponinas estimulan la actividad diurética (Pengelly, 2004), por lo cual, el elevado registro de actividad observado con la infusión del floema sobre la excreción urinaria puede ser atribuido al alto contenido de saponinas, visualizable durante el proceso de extracción y comprobado mediante el test de la espuma.

La mayor rapidez registrada en el comienzo de acción diurética de los extractos acuosos de ramas las jóvenes, del floema y de las hojas puede ser atribuida, en una pri-

mera instancia, a factores farmacocinéticos y/o farmacodinámicos de los principios activos contenidos en ellos.

Este estudio nos permite aportar datos científicos para la validación de la actividad diurética de *J. rhombifolia* y, además, considerar su posible empleo en la medicina popular (o medicina tradicional) de la Argentina como agente antihidrópico, hipotensor, depurativo de la sangre e hipouricosúrico (Arias Toledo y col., 2007; Barboza y col., 2009; Carosio y col., 2008; Carrizo y col., 2005; Demaio y col., 2015; Hurrell y col., 2011; Karlin y col., 2017; Lahitte y col., 1998; Martínez, 2007; 2015). Pese a ello, el grado de participación del efecto diurético en la mencionada acción antihidrópica, hipotensora, depurativa de la sangre e hipouricosúrica deberá ser dilucidado mediante otros ensayos farmacológicos experimentales, ya que tal intervención puede ser debida a una acción aditiva o potenciadora motivada por la variedad de metabolitos secundarios presentes en la droga vegetal.

En conclusión, hemos podido evaluar, valorar y analizar el efecto de diversos extractos acuosos de *J. rhombifolia* [corteza (decocción al 10 %), ramas jóvenes (decocción al 10 %), floema (infusión al 10 %), raíces (decocción al 10 %) y hojas (infusión al 10 %)] sobre la excreción volumétrica urinaria de ratas Wistar, demostrando que la administración oral de una dosis única de cada uno de los extractos produjo un aumento significativo de la actividad diurética según el modelo experimental utilizado, aportando bases científicas que acreditan el uso y la forma de utilización en la medicina popular y tradicional de Sudamérica.

Referencias bibliográficas

- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica; ANMAT (1996). "Disposición no. 6344/96". Buenos Aires, Argentina: Official Bulletin of the Nation N° 28567. 1st Section January 20, 1997.
- Agunu, A.; Abdurahman, E.M.; Andrew, G.O.; Muhammed, Z. (2005). "Diuretic activity of the stem-bark extracts of *Steganothenia araliacea* Hochst [Apiaceae]". *Journal of Ethnopharmacology* 96 (3): 471-475.
- Aissaoui, A.; El-Hilaly, J.; Israili, Z.H.; Lyoussi, B. (2008). "Acute diuretic effect of continuous intravenous infusion of an aqueous extract of *Coriandrum sativum* L. in anesthetized rats". *Journal of Ethnopharmacology* 115 (1): 89-95.
- Alice, C.B.; Vargas, V.M.F.; Silva, G.A.A.B.; de Siqueira, N.C.S.; Schapoval, E.E.S.; Gleye, J.; Henriques, J.A.P.; Henriques, A.T. (1991). "Screening of plants used in south Brazilian folk medicine". *Journal of Ethnopharmacology* 35: 165-171.
- Arias Toledo, B.; Galetto, L.; Colantonio, S. (2007). "Uso de plantas medicinales y alimenticias según características socioculturales en Villa Los Aromos (Córdoba, Argentina)". *Kurtziana* 33 (1) Volumen especial de Etnobotánica: 79-88.
- Baptista, M.M.; Alves Ramos, M.; Albuquerque, U.P.; Coelho-de-Souza, G.; Ritter, M.R. (2013). "Traditional botanical knowledge of artisanal fishers in southern Brazil". *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 9, 54.
- Barboza, G.E.; Cantero, J.J.; Núñez, C.; Pacciaroni, A.; Ariza Espinar, L. (2009). "Medicinal plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora". *Kurtziana* 34 (1-2): 7-365.
- Bose, A.; Gupta, J.K.; Dash, G.K.; Ghosh, T.; Si, S.; Panda, D.S. (2007). "Diuretic and antibacterial activity of aqueous extract of *Cleome rutidosperma* D.C.". *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 69 (2): 292-294.
- Caraballo de la Peña, D. (2015). *Cultivo de callos in vitro a partir de las hojas de *Jodina rhombifolia* Hook. & Arn. (Reissek) para obtención de C-glicosilflavonas*. (PhD thesis). Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de la Plata, Argentina.
- Carosio, M.C.; Junqueras, M.J.; Andersen, A.; Abad, S.M. (2008). *Árboles y arbustos nativos de la provincia de San Luis*. San Luis Libro, Argentina.
- Carrizo, E. del V.; Palacio, M.O.; Roic, L.D. (2005). "Uso medicinal de algunas especies nativas en Santiago del Estero (República Argentina)". *Dominguezia* 21 (1): 25-32.
- Castiñeira Latorre, E.; Canavero, A.; Pochettino, M.L. (2018). "Comparison of medicinal plant knowledge between rural and urban people living in the Biosphere Reserve "Bioma Pampa Quebradas del Norte", Uruguay: an opportunity for biocultural conservation". *Ethnobiology and Conservation* 7 (4): 1-34.
- Delgado, C.; Portolés, J. (2008). "Fármacos diuréticos" en Lorenzo, P.; Moreno, A.; Lizasoain, I.; Leza, J.C.; Moro, M.A.; Portolés, A. (colaboradores) *Farmacología básica y clínica/Velázquez* Cap. 24. Médica Panamericana, Madrid. (18° ed.): 405-417.
- Demaio, P.; Karlin, U.O.; Medina, M. (2015). *Árboles nativos de Argentina*. Tomo 1: Centro y Cuyo. Ecoval, Córdoba, Argentina.
- Dluzniewski, F.S.; Gheller Müller, N.T. (2018). "Estudo etnobotánico de plantas medicinais utilizadas no município de Sete de Setembro, Rio Grande do Sul, Brasil". *PERSPECTIVA, Erechim* 42 (157): 49-61.
- Farmacopea Argentina (2013). *Farmacopea Argentina*, 1er Vol. Ministerio de Salud de la Nación; Secretaria de Políticas, Regulación e Institutos; Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), Instituto Nacional de Medicamentos (INAME), Buenos Aires, Argentina (8° ed.).
- Flórez, J.; Armijo, J.A. (2014). "Fármacos diuréticos" en: Flórez, J. (dir.) *Farmacología humana* Cap. 47. Elsevier Masson, Barcelona, España (6° ed.): 756-768.
- Gijón-Conde, T.; Gorostidi, M.; Camafort, M.; Abad-Cardiel, M.; Martín-Rioboo, E.; Morales-Olivas, F.; Vinyoles, E.; Armario, P.; Bane-gas, J.R.; Coca, A.; de la Sierra, A.; Martell-Claros, N.; Redón, J.; Rui-lope, L.M.; Segura, J. (2018). "Documento de la Sociedad Española de Hipertensión-Liga Española para la Lucha contra la Hipertensión Arterial (SEH-LELHA) sobre las guías ACC/AHA 2017 de hipertensión arterial". *Hipertensión y Riesgo Vascular* 35 (3): 119-129.
- Hailu, W.; Engidawork, E. (2014). "Evaluation of the diuretic activity of the aqueous and 80% methanol extracts of *Ajuja remota* Benth (Lamiaceae) leaves in mice". *BMC Complementary and Alternative Medicine* 14: 135.

- Hanson, G.R. (2003). "Drogas diuréticas" en: Gennaro, A.R. (dir.) *Remington Farmacia* Cap. 75. Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina (20° ed.): 1588-1600.
- Hurrell, J.A.; Ulibarri, E.A.; Arenas, P.M.; Pochettino, M.L. (2011). *Plantas de herboristería: plantas medicinales que se comercializan en herboristerías de la ciudad de Buenos Aires*. L.O.L.A., Buenos Aires, Argentina.
- Karlin, M.S.; Arnulphi, S.A.; Karlin, U.O.; Bernasconi Salazar, J.R.; Accietto, R.H., Cora, A. (2017). *Plantas del centro de Argentina*. Ecoval Editorial, Córdoba, Argentina.
- Katzung, B.G.; Trevor, A.J. (2015). *Basic & Clinical Pharmacology*. 13° Ed., McGraw-Hill Education, United States.
- Kumar, A.; Patra, S. (2017). "Qualitative and quantitative analysis of secondary phytochemical in *Gymnema sylvestre*". *Indian Journal of Scientific Research* 12 (2): 150-156.
- Lahitte, H.B.; Hurrell, J.A.; Belgrano, M.J.; Jankowski, L.S.; Haloua, M.P.; Mehlreter, K. (1998). *Plantas medicinales rioplatenses*. L.O.L.A., Buenos Aires, Argentina.
- Laporte, J.R.; Capellá, D. (1993). "Mecanismos de producción y diagnóstico clínico de los efectos indeseables producidos por medicamentos" en: Laporte, J.R., Tognoni, G. (Dir.) *Principios de epidemiología del medicamento* Cap. 5. Masson-Salvat, Barcelona, España (2° ed.): 95-110.
- Lipschitz, W.L.; Hadidian, Z.; Kerpcsar, A. (1943). "Bioassay of diuretics". *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 79 (2): 97-110.
- López Villar, A.; Coussio, J.D.; Rondina, R.V.D. (1997). "Ensayo Crítico de un Método Rápido de Extracción de Material Vegetal Basado en el Pasaje Ininterrumpido de una Serie de Solventes". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 16 (3): 179-191.
- Martínez, G.J. (2007). "Medicinal plants used by the criollos of Calamuchita to treat blood, cardiovascular and neuroendocrinous diseases". *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* 13 (3): 55-82.
- Martínez, G.J. (2015). *Las plantas en la medicina tradicional de las sierras de Córdoba*. Detodoslosmares, Córdoba, Argentina.
- Martínez, G.J.; Jiménez-Escobar, N.D. (2017). "Plantas de interés veterinario en la cultura campesina de la Sierra de Ancasti (Catamarca, Argentina)". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 16 (4): 329-346.
- Martínez, G.J.; Luján, M.C. (2011). "Medicinal plants used for traditional veterinary in the Sierras de Córdoba (Argentina): An ethnobotanical comparison with human medicinal uses". *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 7: 23.
- Mekonnen, T.; Uрга, K.; Engidawork, E. (2010). "Evaluation of the diuretic and analgesic activities of the rhizomes of *Rumex abyssinicus* Jacq. in mice". *Journal of Ethnopharmacology* 127 (2): 433-439.
- Montanha, J.A.; Schenkel, E.P.; Cardoso-Taketa, A.T.; Dresch, A.P.; Langeloh, A.; Dallegrove, E. (2009). "Chemical and anti-ulcer evaluation of *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek extracts". *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 19 (1A): 29-32.
- Montejano Rodríguez, J.R.; Almaguer Vargas, G.; Gayosso De Lucio, J.A.; Ocharan Hernández, M.E.; Moreno Martínez, R.E.; Hernández Caballero, M.E.; Torres Valencia, J.J.M.; Sierra Ramírez, J.A. (2013). "Evaluation of the diuretic activity of the ethanolic extract of *Geranium seemanii* Peyr. in Wistar rats". *Journal of Pharmacy Research* 6 (7): 709-713
- Oliveira, S.G.; de Moura, F.R.; Demarco, F.F.; Nascente, P. da S.; Pino, F.A.; Lund, R.G. (2012). "An ethnomedicinal survey on phytotherapy with professionals and patients from Basic Care Units in the Brazilian Unified Health System". *Journal of Ethnopharmacology* 140: 428-437.
- Organización Mundial de la Salud (2003). *Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales*. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza: 1-87.
- Pengelly, A. (2004). *Constituents of medicinal plants: an introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine*. CABI Publishing, Wallingford, Reino Unido (2° ed): 74-79.
- Rang, H.P.; Dale, M.M.; Ritter, J.M.; Flower, R.J.; Henderson, G. (2012). *Rang y Dale Farmacología*. Elsevier, Barcelona, España (7° ed): 1-777.
- Resolución N° 588-PBD-2014 (2014). "Autorización a coleccionar partes vegetales de las especies *Jodina rhombifolia* y *Aristolochia argentina*". Área Biodiversidad, Ministerio de Medio Ambiente, Gobierno de la provincia de San Luis.
- Romeo, R.A. (2015). "Plantas empleadas en medicina popular en la provincia de Jujuy. Departamento Capital y alrededores". *Dominguezia* 31 (2): 5-10.
- Roush, G.C.; Kaur, R.; Ernst, M. (2014). "Diuretics: A Review and Update". *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics* 19 (1): 5-13.
- Talhi, O.; Silva, A.M.S. (2012). "Advances in C-glycosylflavonoid research". *Current Organic Chemistry* 16: 859-896.
- Wargo, K.A.; Banta, W.M. (2009). "A Comprehensive Review of the Loop Diuretics: Should Furosemide Be First Line?" *The Annals of Pharmacotherapy* 43 (11): 1836-1847.
- Zeng, P.; Zhang, Y.; Pan, C.; Jia, Q.; Guo, F.; Li, Y.; Zhu, W.; Chen, K. (2013). "Advances in studying of the pharmacological activities and structure-activity relationships of natural C-glycosylflavonoids". *Acta Pharmaceutica Sinica B* 3 (3): 154-162.

Dominguezia

Índice acumulado

Dominguezia 35(1) 2019

Plantas medicinales utilizadas en la salud reproductiva de las mujeres del Perú

Brenda L. Araujo Salas, Gloria E. Vanesa Ramos-Abensur, Mercedes Flores Pimentel

Rizomas y almidón de plantas palustres medicinales y alimenticias de los humedales del Río de la Plata

Marcelo P. Hernández, Ana M. Arambarri

Métodos alternativos para disminuir los daños de *Armadillidium vulgare* (Crustacea: Isopoda) en lotes bajo siembra directa

Carolina Sánchez Chopa, Lilian R. Descamps

Caracterización fitoquímica y actividad antioxidante de las especies *Sapium haemospermum* Müll. Arg. y *Baillonia amabilis* Bocq.

Ariadna S. Soro, Gabriela M. Valenzuela, María B. Nuñez

Actividad repelente del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill (Myrtaceae) y *Mentha x piperita* L. (Lamiaceae) en *Acyrtosiphon pisum* Harris (Hemiptera: Aphididae)

Lilian R. Descamps, Jorge A. J. Bizet Turovsky, Carlos M. Brustle, Carolina Sánchez Chopa

Evaluación de la actividad del aceite esencial de *Geranium maculatum* (Geraniaceae) en el áfido *Brevycorine brassicae* (Hemiptera: Aphididae)

Carolina Sánchez Chopa, Carlos M. Brustle, Jorge A. J. Bizet Turovsky, Lilian R. Descamps

Dominguezia 35(2) 2019

Evaluación del efecto insecticida de *Picrasma crenata* Engl. in Engl. & Prantl —Simaroubaceae— sobre coleópteros plaga de granos almacenados

Silvia M. Rodríguez

Calidad botánica de seis plantas andinas, condimenticias y medicinales, comercializadas en la ciudad de San Salvador de Jujuy, Argentina

Leila A. Giménez, Nilda D. Vignale, Alberto A. Gurni

Evaluación de la genotoxicidad y toxicidad general de extractos acuosos de *Acanthospermum australe* Loefl. Kuntze (Asteraceae) por medio del test de *Allium cepa*

Carlos G. Altamirano

Diseño de una base de datos de Plantas Medicinales de Entre Ríos, República Argentina

Daniel M. Heissenberg, Gerardo N. Guerrero-Flores, Renan Lima de Araujo, Nelson Saldaña Baptista, Giovanna Barbalho Leal, Sonia Brandt, Melina A. Delgado

Evaluación de la acción insecticida de aceites esenciales en larvas de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)

Lilian R. Descamps, Carolina Sánchez Chopa