

Medicamentos Herbarios en el Centro-Oeste Argentino. II. "Carquejas": Control de Calidad de las Drogas Oficiales y Sustituyentes

José C. GIANELLO ¹, Juan P. CEÑAL ¹, Oscar S. GIORDANO ^{1*}, Carlos E. TONN ¹
Marta E. PETENATTI ², Elisa M. PETENATTI ² y Luis A. DEL VITTO ^{2*}

¹ INTEQUI-CONICET-Facultad de Química

Bioquímica y Farmacia-Chacabuco y Pedernera, 5700 San Luis, Argentina.

² Herbario de la Universidad Nacional de San Luis, Ej. de los Andes 950, 5700 San Luis, Argentina

RESUMEN. Se llevó a cabo la medición de los parámetros micrográficos (número e índice de estomas, número de terminales de nerviación y número de islotes) de las especies de *Baccharis* utilizadas como hepáticas y diuréticas en la medicina popular de la región de Cuyo, Argentina, bajo el nombre vernáculo de "carquejas" y el estudio fitoquímico de *B. trimera*, *B. crispa* y *B. articulata* son drogas oficiales, mientras que *B. trimera* es empleada en evidente sustitución de *B. crispa*. Los resultados obtenidos conjuntamente con los caracteres anatómicos ya conocidos permitirían ejercer un efectivo control de calidad de las muestras, aún cuando éstas se encuentren reducidas a partículas muy pequeñas o a polvo.

SUMMARY. "Phytomedicines in Central-Western Argentina. II. "Carquejas": Quality Control of the Official Drugs and their Substitutes". Study of the micrographic parameters on three entities of Argentinean *Baccharis* known under vernacular name "carqueja" and phytochemical analysis of *B. trimera*, were carried out. These species are used in folk medicine as hepatic and diuretic herbal remedies. *B. crispa* and *B. articulata* are official drugs, while *B. trimera* is used in substitution of *B. crispa*. These results, together with the previous reported anatomical studies, are useful for an effective quality control of the involved drugs, even if reduced to small particles in the form of a powder.

INTRODUCCION

El género *Baccharis* L. (*Asteraceae*, *Asteroideae*, *Astereae*) comprende cerca de 400 especies americanas, de las cuales aproximadamente 100 habitan el territorio argentino. En la revisión del género para la región Central de Argentina, Ariza Espinar ¹ cita 39 entidades (36 especies y 3 variedades), algunas de las cuales son empleadas como medicinales.

Entre las de amplia difusión con fines terapéuticos se hallan algunas especies de la *Sect. Alatae* Less., dos de las cuales son codificadas a partir de la Va. Edición de la Farmacopea Argentina ²: *Baccharis articulata* (Lam.) Persoon y *B. crispa* Sprengel. Las mismas son empleadas, en uso interno, en infusión o decocción como hepáticas, colagogas y diuréticas y en uso externo como antisépticas y secantes de úlceras ³⁻⁸. Por otra parte, se les ha atribuido propiedades

antihelmínticas, afrodisíacas, febrífugas, tónicas y estimulantes gástricas ⁹ y son utilizadas principalmente en Brasil, Paraguay, Uruguay y Argentina. La primera de ellas es conocida bajo los nombres vernáculos de "carqueja" y "carquejilla". Se trata de un arbusto hasta de 1 m de alto, ramoso, áfilo o con pequeñas hojas tempranamente caducas y tallos fotosintetizadores bialados. La segunda es denominada vulgarmente "carqueja", "carqueja ancha" o "carqueja crespas" y se caracteriza por sus tallos trialados, con márgenes crespos u ondulados.

Se han examinado químicamente ca. 100 especies, y se ha informado sobre el aislamiento de metabolitos secundarios de naturaleza terpénica y flavonoides. Probablemente el grupo de compuestos más estudiado sea el de los diterpenos, dentro del cual han sido aislados productos con esqueleto del tipo *ent-labdano* y *neo-clero-*

PALABRAS CLAVES: Argentina, *Baccharis articulata*, *B. crispa*, *B. trimera*. "Carquejas", Fitomedicinas.

KEY WORDS: Argentina, *Baccharis articulata*, *B. crispa*, *B. trimera*. "Carquejas", Phytomedicines.

La Parte I de esta serie fue publicada en *Acta Farm. Bonaerense* 17: 197-212 (1998).

* Autor a quien dirigir la correspondencia.

danos¹⁰. Mediante el ensayo del edema agudo en pata de ratón, inducido por carragenina, se ha estudiado la actividad antiinflamatoria de las especies oficiales y de *B. trimera* (Less.) DC.¹¹, así como de las flavonas aisladas de *B. calliprinos* Griseb. y *B. rhetinodes* Meyen & Walp.¹². Por otra parte, también ha sido observada la actividad antiparasitaria de los extractos de *B. trimera*^{13,14} contra la cercaria del trematode *Schistosoma mansoni*, agente etiológico de la bilharzias intestinal y la actividad antimicrobiana de extractos de *B. crispa* sobre *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* y *Staphylococcus aureus*¹⁵.

Debido a la importancia que ha adquirido su uso como integrante de diversas fórmulas farmacéuticas y medicamento herbario (simple y/o en mezclas), se ha realizado este estudio con el objeto de contribuir al control de calidad de las "carquejas" empleadas en la medicina popular. Sólo se ha abordado el análisis químico y la medición de parámetros micrográficos, teniendo en cuenta que el estudio anatómico de las 2 entidades oficiales fue realizado con anterioridad por Ariza Espinar¹. Este autor realizó una detallada descripción de ambas especies oficiales, las que pueden ser fácilmente reconocibles por caracteres morfoanatómicos cuando el material se presenta trozado o groseramente molturado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Los materiales, que proceden de localidades serranas de la provincia de San Luis, Argentina, han sido documentados mediante los siguientes exsiccata, que al igual que las preparaciones histológicas permanentes son conservados en el Herbario de la Universidad Nacional de San Luis (UNSL).

***Baccharis articulata*:** Prov. San Luis, Dpto. Pringles: Río Grande, camino a La Carolina, L.A. Del Vitto & E.M. Petenatti no 7366, 20.I. 1993 (UNSL).

***Baccharis crispa*:** Prov. San Luis, Dpto. Pringles: Río Grande, E. Petenatti no 376, 1.XI.1988 (UNSL).

***Baccharis trimera*:** Prov. San Luis, Dpto. San Martín: Dique La Huertita, roquedales de cerros aledaños al Club de Pesca, 32° 27' S; 65° 36' W, L.A. Del Vitto & E.M. Petenatti no 6709, 13-14.II.92 (UNSL).

Métodos Botánicos

Muestras al estado fresco y conservadas en formalina aceto-alcohólica (FAA) y especímenes de herbario fueron sometidos a la técnica "peeling"¹⁶ para el análisis epidérmico, así como a tratamiento con hidróxido de potasio. Habida cuenta del carácter áfilo de las entidades involucradas en este estudio y de la presencia de ex-

pansiones caulinares aliformes, fueron aplicadas las técnicas de micrografía cuantitativa (previa diafanización por la técnica de Dizeo¹⁷), por analogía a lo que comúnmente se lleva a cabo con estructuras foliares. Sobre 20 muestras para cada especie, fueron determinados los siguientes parámetros: NE = número de estomas e IE = índice de estomas, NI = número de islotes y NT = número de terminales nerviosos¹⁸. El NE y el IE fueron medidos con objetivo de 40x, mientras que los otros parámetros lo fueron con objetivo 20x. Las mediciones fueron realizadas en un microscopio Leitz DMRB.

Métodos Químicos

El estudio fitoquímico estuvo centrado en el aislamiento de los diferentes compuestos flavonoides y diterpénicos. Para los análisis correspondientes a la fracción no volátil se usaron partes aéreas desecadas de las dos entidades oficiales, las que fueron agotadas con MeOH en caliente por 2 h a reflujo. El extracto metanólico resultante fue adicionado de agua hasta una relación MeOH- H₂O (9:1) y extraído con *n*-hexano (X 3) para eliminar ceras y materiales grasos de baja polaridad. La mezcla hidroalcohólica remanente se llevó a una proporción MeOH- H₂O (7:3) y se sometió a extracción con Cl₃CH y secado con Na₂SO₄ anhidro. El residuo obtenido luego de la evaporación al vacío del extracto clorofórmico fue cromatografiado en columna Silicagel 60 y Kiesegel 60 H. Las diferentes fracciones fueron analizadas por cromatografía en capa fina sobre silicagel 60 F₂₅₄ (0,2 mm espesor) usando benceno-dioxano-ácido acético (30:5:1) como solvente de desarrollo y revelando con una mezcla de ácido sulfúrico-ácido acético-agua (4:20:1) y posterior calentamiento en estufa a 110 °C.

Los espectros de ¹H RMN y ¹³C RMN, que permitieron la identificación y la dilucidación estructural, fueron obtenidos empleando un espectrómetro Bruker AC-200 o Bruker AMX-500 (Universidad de Santiago de Compostela, España), usando Cl₃CD como solvente y TMS como referencia. Los experimentos COSY, HMQC, HMBC, NOESY, HETCOR y COLOC se determinaron usando secuencias de pulso estándar. Los espectros de masa por impacto electrónico se registraron a 70 eV en un VG Trio-2 y los de alta resolución en un espectrómetro VG-ZAB-BEQ (LANAIS-EMAR-CONICET, Universidad de Buenos Aires). La determinación de los volátiles se realizó utilizando un cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas FINNIGAN-MAT GCQ-Plus. Las

condiciones operativas tipo utilizadas fueron: columna DB5, capilar de 25 mm x 30.0 m; T1 = 50 °C, ti = 2 min. Vel. 10 °C/min; T2 = 275 °C; hold = 2-5 min. Temp. Inyector °C = 250-170 °C, Temp. Línea de Transferencia: 275 °C; Temperatura fuente de iones: 200 °C; Potencial de ionización: 1200-1500 v, Energía de impacto electrónico: 70 eV; microscan: 5 como mínimo, start-time: 2-3 min., Límite de masas: 20-400 uma. La identificación de los componentes se realizó usando los archivos provistos por el instrumento (FINNIGAN-MAT NIST-Library for GCQ/ICIS).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los comercios locales de expendio de hierbas medicinales, así como en encuestas semiestructuradas e información obtenida de la

población en general, se ha podido determinar que se hace uso de estas entidades simplemente como "carquejas", sin reconocimiento de la especie utilizada. Las partes empleadas son las aéreas, aunque la mayoría de los ejemplares expendidos en la vía pública constan de raíces, lo que contribuye aún más al deterioro de la población silvestre. Por otra parte, la sobreexplotación de las poblaciones naturales ha generado sobre estas especies una gran presión, por lo que requieren urgente protección para que este importante recurso natural pueda ser conservado a perpetuidad.

Tanto *Baccharis articulata* como *B. crispa* y *B. trimera* son expendidas con un alto grado de molienda, por lo que debieron ser medidos los parámetros micrográficos de las tres entidades, cuyo resultado está reflejado en la Tabla 1.

	<i>Baccharis crispa</i>	<i>Baccharis trimera</i>	<i>Baccharis articulata</i>
N° de estomas.mm⁻²	6.50±1.50	4.90±1.10	3.10±0.30
Índice de estomas	10.70-14.30	8.00-11.00	4.20-5.40
N° de islotes.mm⁻²	1.65±0.30	0.25±0.15	1.30±0.25
N° de terminales de nerviación. mm⁻²	3.60±0.30	0.95±0.40	2.80±0.40
Flavonas	Genkwanina 7,4'-di-O-metilapigenina	Genkwanina 7,4'-di-O-metilapigenina	Genkwanina, Acacetina 7,4'-di-O-metilapigenina Circimaritina, Salvigenina
Diterpenos	Ac. Hawtriwaico Lactona ac. hawtriwaico 1-desoxibacrispina, Bacrispina, Butenólidos	Ac. Hawtriwaico Lactona ac. hawtriwaico 1-desoxibacrispina Bacrispina	Malonato de baticulidiol Bacchotricuneatina A
Terpenos volátiles	α-pineno, β-cariofileno, α-cariofileno, β-cubebeno, α-elemeno γ-elemeno	α-pineno, β-cariofileno, α-cariofileno, β-cubebeno, α-elemeno γ-elemeno	α-pineno, β-cariofileno β-guaieno, γ-elemeno, δ-cadineno, aromadendreno

Tabla 1. Parámetros micrográficos y componentes químicos de las especies de *Baccharis* expendidas como "carquejas" en la Región de Cuyo.

Las tres entidades se diferencian en el valor de los parámetros estudiados. Así, el número de estomas en *B. crispa* varía entre 5-8 y en *B. trimera* entre 4-6; ambas se diferencian de *B. articulata* en que esta última presenta un número estable (generalmente 3/mm²). Por su parte, el número de estomas está en relación directa con el tamaño de las células estomáticas; así en *B. articulata* miden 65 µm, mientras en *B. crispa* varía entre 35-38 µm y en *B. trimera* entre 37-45 µm. No se ha hecho alusión en este caso a dife-

rencias entre ambas epidermis, ya que el número permanece invariable en ambas caras. En cuanto al número de islotes, *B. trimera* es la que presenta menor cantidad de ellos (0,25 ± 0,15), al igual que el de los terminales de nerviación (0,95 ± 0,40). *B. articulata* presenta un valor intermedio de 1,30 ± 0,25 islotes / mm² y de 2,80 ± 0,40 terminales / mm². Por último, *B. crispa* es la que presenta el mayor valor: 1,65 ± 0,30 islotes y 3,60 ± 0,30 terminales. Como puede apreciarse, los parámetros difieren notable-

mente entre las entidades, por lo que pueden resultar de valor al momento de llevar a cabo el control de calidad de muestras que estén reducidas a partículas pequeñas o a polvo. La relación de empalizada no fue tomada en cuenta en virtud de las diferencias existentes entre los parénquimas clorofilianos de las estructuras foliares y caulinares, siendo bifacial en la primera y simétrico en la segunda¹; fueron medidos aunque no mostraron una significativa diferencia entre las entidades (relación de empalizada = 4-6).

En los estudios fitoquímicos realizados sobre

extractos de *B. articulata* fueron identificadas las flavonas genkwanina, acacetina; 7,4'-dimetilapigenina, circimaritina y salvigenina¹⁹ (Figura 1). Como componentes diterpénicos constantes en todas las muestras evaluadas de esta especie, se aislaron los neo-clerodanos malonato de barticulidiol (1) y bacchotricuneatina A (2)²⁰⁻²¹. Como constituyentes del aceite esencial se identificaron α -pineno (4.6%), α -cariofileno (17.7%), β -guaieno (23%), γ -elemeno (24.3%), δ -cadineno (8.5%) y aromadendreno (2.2%)²².

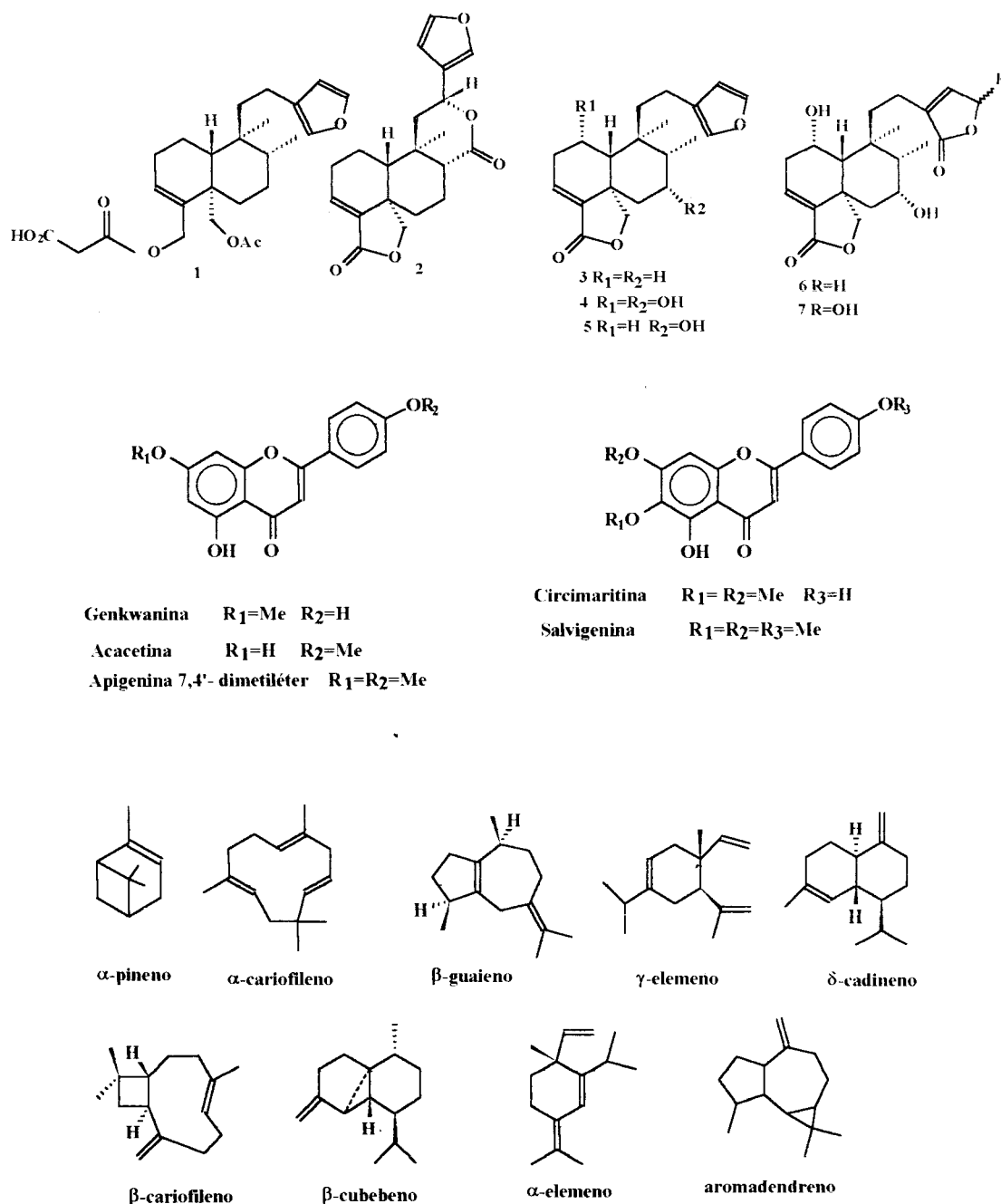


Figura 1. Componentes químicos presentes en las especies de *Baccharis* expendidas como “carquejas” en la Región de Cuyo.

El análisis de los metabolitos secundarios de *B. crispa* permitió el aislamiento e identificación de los flavonoides genkwana y 7,4'-di-O-metilapigenina¹⁹. Como componentes diterpénicos fueron aislados furanoditerpenos de núcleo *neo-clerodanos* como el ácido hawtriwaico y su correspondiente lactona (3)²³, 1-desoxibacrispina (4)²⁴, bacrispina (5)²³ y dos diterpenos relacionados con los anteriores pero con funcionalización butenólido (6-7)²⁵ en la cadena lateral. En todos los casos fueron realizados estudios que permitieron asignar inequívocamente la estereoquímica de cada uno de los centros quirales. En cuanto a la fracción volátil para *B. crispa*, los terpenos identificados fueron α -pineno (0,6%), β -cariofileno (30,6%), α -cariofileno (2,3%), β -cubeneno (20,8%), α -elemeno (8,6%) y γ -elemeno (20,8%)²². Finalmente, del estudio fitoquímico de *B. trimera* se aislaron las flavonas genkwana y 7,4'-di-O-metilapigenina, los diterpenos ácido hawtriwaico y su correspondiente lactona (3), 1-desoxibacrispina (4) y bacrispina (5). Como hecho destacable para esta especie, no se observó la presencia de butenólidos de núcleo clerodano. La composición determinada para su

aceite esencial fue similar a la de *B. crispa*; difirió sólo en las proporciones relativas de algunos componentes: α -pineno (1%), β -cariofileno (35,5%), α -cariofileno (3,9%), β -cubeneno (21,7%), α -elemeno (12,0%) y γ -elemeno (22,8%); el porcentaje restante correspondió a componentes no identificados. Todos los compuestos diterpénicos hallados en el curso de estos estudios sistemáticos resultaron nuevas estructuras, a excepción de bacchotricuneatina A, ácido hawtriwaico y su lactona.

En conclusión, los métodos micrográficos aplicados resultarían útiles para la diferenciación de las especies oficiales cuando el análisis anatómico no es posible. Por otra parte, al análisis químico permite establecer diferencias entre *B. articulata* y las dos especies restantes, no siendo posible identificar inequívocamente las especies *B. crispa* y *B. trimera* utilizando solamente los datos fitoquímicos.

Agradecimientos. Este trabajo ha sido realizado gracias a subsidios de CONICET (PID 5030) y UNSL (Proyectos 7301 y 8702).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ariza Espinar, L. (1974) Las especies de *Baccharis* (Compositae) de Argentina Central. *Boln. Acad. Nac. Ci.* **50**: 175-305, 39, f.2
2. *Farmacopea* Nacional Argentina, 5ta.Ed., Buenos Aires, 1966, pág. 183
3. Martínez Crovetto, R. (1981) "Plantas utilizadas en Medicina en el NO de Corrientes", Fund. Miguel Lillo, Tucumán, Miscelánea 69
4. Petenatti, E.M., M.E. Petenatti & L.A. Del Vitto (1997) *Ser. Técn. Herbario UNSL* **5**: 1-37, 9 lám.
5. Petenatti, E.M.; M.E. Petenatti & L.A. Del Vitto (1997) *Mullequina* **6**: 49-66
6. Ratera, E.L. & M. O. Ratera (1980) "Plantas de la flora argentina empleadas en medicina popular". Hemisferio Sur, Buenos Aires
7. Sorarú, S.B. & A.L. Bandoni (1978) "Plantas de la Medicina Popular Argentina". Albatros, Buenos Aires
8. Toursarkissian, M. (1980) "Plantas Medicinales de la Argentina". Hemisferio Sur, Buenos Aires
9. Dai, J. R. Suttisri, E. Bordas, D.D. Soejarto & A.D. Kinghorn (1993) *Phytochemistry* **34**: 1087-90
10. Merrit, A.T. & S.V. Ley (1992) *Nat. Prod. Reports* **9**: 243-87
11. Gene, R.M., E. Marín & T. Adzet (1992) *Planta Medica* **58**: 565-6
12. Gianello, J.C., D.A. Cifuentes, O.S. Giordano & C.E. Tonn (1999) *Acta Farm. Bonaerense* **18**: 99-102
13. Do Santos Filho, D., S.J. Sarti, W. Vichnewski, M.S. Bulhoes & H. Freitas Leitao Filho, (1980) *Revista Fac. Farm. Odont. Ribeirao Preto* **17**: 43-5
14. Herz, W., A.M. Pilotti, A.C. Soderholm, I.K. Shuhama & W. Vichnewski (1977) *J. Org. Chem.* **42**: 3913-7
15. Palacios, P., G. Gutkind, R. Rondina, R. de Torres & J. Coussio (1983) *Acta Farm. Bonaerense* **2**: 5-10
16. D'Ambrogio, A. (1986) "Manual de técnicas en histología vegetal". Hemisferio Sur, Buenos Aires
17. Dizeo de Strittmater, C. (1973) *Bol. Soc. Argent. Bot.* **15**: 126-9
18. Trease, G.E. & W. Ch. Evans (1991) "Farmacognosia", 13ª. Ed. Interamericana-McGraw-Hill, México
19. Gianello, J.C. & O.S. Giordano (1984) *Revista Latinoamer. Química* **15**: 84-6
20. Wagner, H., R. Seitz, H. Lotter & W. Herz (1978) *J. Org. Chem.* **43**: 3339-45
21. Gianello, J.C. & O.S. Giordano (1982) *Revista Latinoamer. Química* **13**: 76-8
22. Tonn, C.E., J.C. Gianello & F.H. Guidugli (1987) *Anales Asoc. Quím. Argentina* **75**: 5-3
23. Tonn, C.E., J.C. Gianello & O.S. Giordano (1979) *Anales Asoc. Quím. Argentina* **67**: 1-8
24. Tonn, C.E. & O.S. Giordano (1980) *Anales Asoc. Quím. Argentina* **68**: 237-41
25. Ceñal, J.P., O.S. Giordano, P.C. Rossomando & C.E. Tonn (1997) *J. Nat. Prod.* **60**: 490-2