

ESTUDIO FITOQUÍMICO Y ESPECTROSCÓPICO PRELIMINAR DE CINCO PLANTAS MEDICINALES DE CARMEN PAMPA (COROICO) BOLIVIA

Ángela J. San Martín¹, Esther Villanueva¹, Arnold Tito Cruz¹, Desiderio Flores², Ruben D. Gomez², Giovanna R. Almanza¹, Yonny R. Flores*¹

¹Laboratorio de Bio-orgánica, Instituto de Investigaciones Químicas, Universidad Mayor de San Andrés, Edificio FCPN, campus universitario calle 27 Cota Cota. ²Universidad Católica Boliviana, Unidad Académica Campesina de Carmen Pampa, La Paz-Bolivia

Accepted: 21/09/12

Published: 09/12/12

Keywords: Estudio fitoquímico preliminar, absorbancia UVB/UVA, *Rubus boliviensis* (khari-khari), *Castilleja arvensis* (vira-vira), *Baccharis genistelloides ssp crispa* (charara), *Liabum hastifolium* (toco-toco) y *Acmella ciliata* (laili-laili).

ABSTRACT

Five plant species widely distributed and with traditional medicinal use in the community of Carmen Pampa, *Rubus boliviensis* (khari-khari), *Castilleja arvensis* (vira-vira), *Baccharis genistelloides ssp crispa* (charara), *Liabum hastifolium* (toco-toco) and *Acmella ciliata* (laili-laili), were subjected to a preliminary phytochemical and spectroscopic study in order to select promising plant species for further studies. In the preliminary phytochemical study it was determined that the plant species studied have mainly phenolic compounds, tannins, triterpenes or steroids. Additionally the species *B. genistelloides* presents flavonoids and *A. ciliata* presents coumarins plus some alkaloids in the flowers. The spectroscopic study shows that all the extracts have a certain absorbance in the UVB and UVA region, but this is not comparable to the photoprotective known compounds as oxybenzone, or plant species studied for their photoprotective effect as *Baccharis papillosa*. However, the extract of major interest from this point of view is the extract of *L. hastifolium* (toco-toco). To complete the information, a deep literature review was done showing that *R. boliviensis* (khari-khari) and *C. arvensis* (vira-vira) have no previous chemical and biological studies, while *B. genistelloides* shows many bibliographic antecedents being currently used in commercial products in countries such as Brazil and Peru. Moreover *L. hastifolium* (toco-toco) has studies showing leishmanicidal activity which correlates with its traditional use for the treatment of wounds and has no chemical background so it was selected for further studies. The species *B. genistelloides* also shows interesting traditional and scientific background, but it was full studied and it is advisable to use the existing studies in the promotion of sustainable products with economic potential. Finally we also recommend develop studies on *R. boliviensis* because there are important chemical and pharmacological results in other species of genus *Rubus*.

*Corresponding author: flores.yonny@gmail.com

RESUMEN

Cinco especies vegetales de amplia distribución y uso medicinal tradicional en la comunidad de Carmen Pampa, *Rubus boliviensis* (khari-khari), *Castilleja arvensis* (vira-vira), *Baccharis genistelloides ssp crispa* (charara), *Liabum hastifolium* (toco-toco) y *Acmella ciliata* (laili-laili), fueron sometidas a un estudio fitoquímico y espectroscópico preliminar con el objetivo de seleccionar especies vegetales promisorias para estudios más profundos. En el estudio fitoquímico preliminar se pudo determinar que las especies tienen, principalmente, compuestos fenólicos, taninos, triterpenos o esteroides. Adicionalmente la especie *B. genistelloides* presenta flavonoides y *A. ciliata* presenta cumarinas además de alcaloides en las flores. El estudio espectroscópico muestra que todos los extractos evaluados presentan cierta absorbancia en la región UVB y UVA, pero ésta no es comparable a la de compuestos fotoprotectores conocidos, como la oxibenzona, o especies vegetales estudiadas por su efecto fotoprotector, como *Baccharis papillosa*. Sin embargo, el extracto de mayor interés desde el punto de vista espectroscópico es el de *L. hastifolium* (toco-toco).

Para completar esta información se hizo una revisión bibliográfica profunda que muestra que *R. boliviensis* (khari-khari) y *C. arvensis* (vira-vira) no tienen estudios químicos y biológicos previos, mientras que *B. genistelloides* muestra muchos antecedentes bibliográficos siendo actualmente utilizada en productos comerciales en países como Brasil y Perú. Por otra parte, en *L. hastifolium* (toco-toco) tiene estudios que muestran su actividad leishmanicida lo que correlaciona con su uso tradicional para el tratamiento de heridas y no tiene antecedentes químicos por lo que fue seleccionada para estudios posteriores. La especie *B. genistelloides* también resulta interesante por sus diversos antecedentes tradicionales y científicos, pero ya fue muy estudiada y lo recomendable es solo utilizar los estudios ya realizados para promover su utilización sostenible en productos con potencial económico. Finalmente, también se recomienda el estudio químico y farmacológico de *R. boliviensis* al existir antecedentes importantes de otras especies del género *Rubus*.

INTRODUCCION

El uso de plantas en el mercado de productos de consumo masivo (alimentos, medicamentos y/o cosméticos) ha crecido considerablemente, generado un aumento en la producción y comercialización de los insumos necesarios para su fabricación, tales como las plantas medicinales frescas o deshidratadas, pulpas, aceites de frutas, extractos herbales, aceites vegetales, aceites esenciales y colorantes naturales, entre otros [1]. Particularmente en el área de la medicina el uso de plantas es reconocido en todo el mundo. Así la historia de la medicina marca el uso de las plantas como recurso terapéutico, utilizado principalmente por shamanes, sacerdotes, curanderos, herbolarios y otros [2], uso que ha inspirado investigaciones científicas que han dado como resultado la identificación de diversos principios activos a partir de plantas actualmente utilizados a nivel industrial. En Bolivia, tenemos una gran biodiversidad vegetal y adicionalmente un gran número de etnias, las cuales, sobre la base de sus tradiciones milenarias, nos proporcionan un gran conocimiento de las plantas que usan en forma directa o indirecta [3]. En este marco, nuestro grupo de investigación está desarrollando el proyecto "Transferencia tecnológica al Municipio de Coroico" que tiene como objetivo la identificación de recursos vegetales con potencial económico en la región de Nor Yungas, Municipio de Coroico del Departamento de La Paz, una de las regiones de Bolivia con una amplia y característica biodiversidad vegetal, difícil de encontrar en otros lugares del mundo, debido a sus condiciones ecológicas particulares. En este trabajo se presenta concretamente el estudio fitoquímico y espectroscópico preliminar de 5 especies vegetales medicinales de la comunidad de Carmen Pampa, perteneciente al municipio de Coroico, la cual cuenta con una gran variedad de recursos biológicos existentes en el cerro Uchumachi y sus alrededores. Estas especies vegetales fueron seleccionadas en base a la información obtenida de libros [4-9], tesis [11-16] y encuestas a pobladores de la región. Así, particularmente en base a su mayor uso y abundancia en la región se llegó a la selección de las siguientes especies: *Rubus boliviensis* (khari-khari), *Castilleja arvensis* (vira-vira), *Baccharis genistelloides* ssp *crispa* (charara), *Liabum hastifolium* (toco-toco) y *Acmella ciliata* (laili-laili).

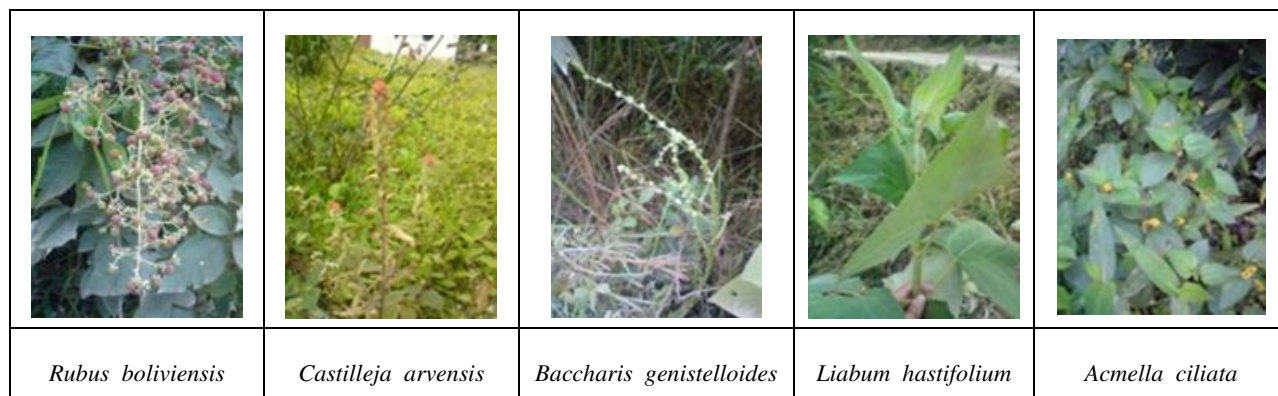


Figura 1. Fotos de las especies seleccionadas

Las especies seleccionadas fueron sometidas a un estudio fitoquímico preliminar, con el objetivo de determinar los grupos de compuestos presentes y su cuantificación relativa; así como a un estudio de absorbancia espectroscópica en la región UVB (280-320 nm) y UVA (320-400 nm), por dos motivos: primero, porque estas regiones del UV son parte de la radiación solar que llega a la tierra, siendo los rayos UVA y UVB dañinos para los seres vivos de nuestro planeta, pues por su alta energía pueden causar una serie de reacciones biológicas negativas en nuestro organismo

[17], por tanto, se busca extractos con una alta absorbancia en el UVB-UVA que puedan tener un potencial efecto fotoprotector y puedan ser utilizados en la formulación de productos de protección solar; segundo, porque en la región UVB-UVA solo presentan absorbancia los compuestos aromáticos o de alta conjugación, por lo que una absorbancia en esta región implica la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, cumarinas u otros metabolitos aromáticos de alta importancia biológica según estudios previos [18]. Ambos estudios se hicieron con el objetivo de seleccionar, en base a estos datos y otros complementarios (uso tradicional, estudio bibliográfico, estudio espectroscópico), las especies vegetales más promisorias para estudios más profundos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio se inició con una búsqueda de información sobre el uso tradicional de plantas del lugar, a partir del cual se seleccionaron las cinco especies vegetales, ya mencionadas, que fueron colectadas en la comunidad de Carmen Pampa. Una vez colectadas fueron secadas en dos herborizadores, procediéndose a separar tres ejemplares de cada especie, para su identificación botánica en el Herbario Nacional de Bolivia, quedando el resto para el estudio fitoquímico y espectroscópico. A partir de esto se realizó una revisión bibliográfica de los estudios químicos y biológicos de estas especies o en su defecto de especies del mismo género y paralelamente se inició el estudio fitoquímico preliminar. Así, la materia vegetal, seca y molida, fue sometida a una extracción por maceración con etanol al 96% por 24 h, luego de la cual fue filtrada a vacío y concentrada en un rota-evaporador hasta sequedad, obteniéndose los extractos secos a partir de los cuales se determinó su rendimiento respecto a la masa de planta seca (Tabla 2). Una vez obtenidos los extractos etanólicos secos, estos fueron sometidos a un análisis cromatográfico por TLC, para determinar la complejidad de los extractos, revelando las placas con H_2SO_4 y $FeCl_3$, el segundo revelador fue utilizado para identificar la presencia de compuestos fenólicos los cuales son de interés para el estudio espectroscópico (Tabla 1). Los resultados de la identificación botánica, la información sobre el uso tradicional, la revisión bibliográfica y el análisis cromatográfico de las cinco especies se muestran en la Tabla 1, donde se puede observar que *R. boliviensis* (khari-khari) y *C. arvensis* (vira-vira) no tienen estudios químicos y biológicos previos, existiendo solo estudios de otras especies del género. La especie con más antecedentes bibliográficos es *B. genistelloides* (charara) la cual inclusive ya es utilizada en productos comerciales con el nombre de “carqueja” [19]. En cuanto a su uso tradicional *R. boliviensis* (khari-khari) y la *B. genistelloides* (charara) tienen un amplio uso, siendo utilizadas para diversos males, mientras que *C. arvensis* (vira-vira), *L. hastifolium* (toco-toco) y *A. ciliata* (laili-laili) tiene un uso tradicional más específico. Finalmente el análisis cromatográfico revela una composición compleja en todos los extractos, observándose una presencia de compuestos fenólicos (revelado con $FeCl_3$) principalmente en *R. boliviensis*, *B. genistelloides* y *A. ciliata*. A continuación se muestra algunos compuestos aislados previamente de las especies en estudio. Así, de la especie *B. genistelloides* se aislaron flavonas como la nepetina, hispidulina, quercetina, luteolina entre otras [53] y diterpenos, como el mostrado a continuación, utilizado por su actividad de relajante vascular [49]. Para el caso de la especie *A. ciliata* se aislaron amidas como el Espilantol [(2E,6Z,8E)-N-Isobutil-2,6,8-decatrienamida], compuestos fenólicos como la 6,7-dihidroxicumarina (esculetina) o glucosilados como la isoquercitrina [63].

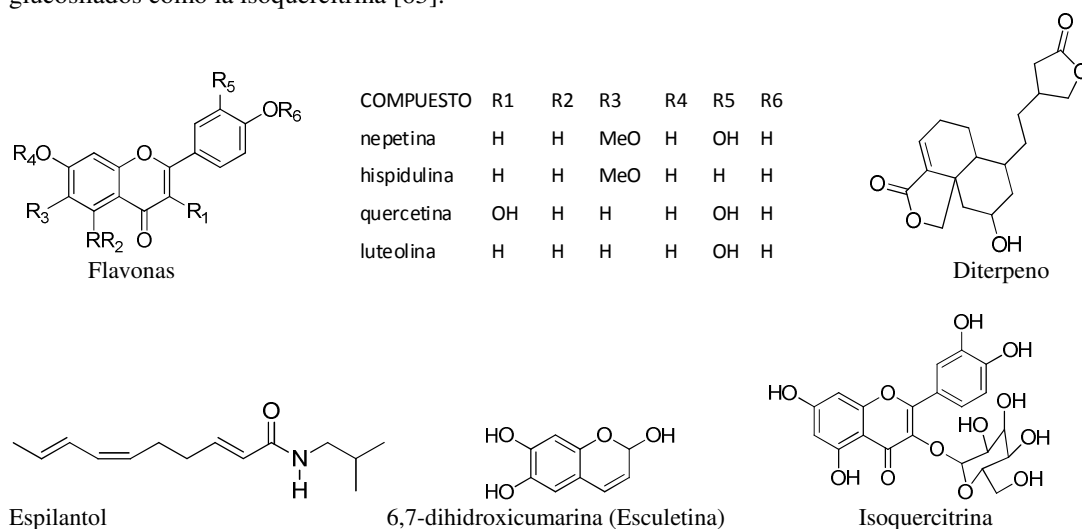
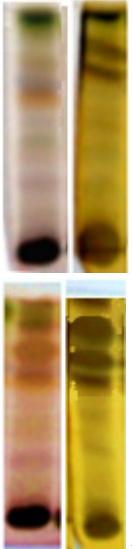


Figura 2. Compuestos aislados de *B. genistelloides* y *A. ciliata*

Tabla 1.

NOMBRE	USO TRADICIONAL	DATOS BIBLIOGRAFICOS	Cromatografías TLC 10 % MeOH-CH ₂ Cl ₂ Reveladores: H ₂ SO ₄ 5 % y FeCl ₃ 1 %
Científico: <i>Rubus boliviensis</i> (Rosaceae) Común: Khari-khari	Empleada para afecciones del hígado, tos, resfrío y afonías. Tiene propiedades antisépticas urinarias, diuréticas y levemente laxativas, es utilizada también para tratar el paludismo. El fruto se usa para prevenir o combatir la anemia y afecciones hepáticas.	Solo se encontraron datos del género <i>Rubus</i> Estudios farmacológicos como: analgésico [20]antibacterial[21, 22], anti-inflamatorio [23], antimicrobial [24], hipoglicémico [25], anti-alérgico[20], anticonvulsivo y relajante muscular [26] Estudios químicos: La presencia de triterpenos [27,28], saponinas triterpénicas [29], compuestos fenólicos [30]; ácidos fenólicos carboxílicos, [31] ácidos grasos saturados e insaturados [32] y finalmente epóxidos como el (Z)-9,10-Epoxinonacosano [33].	 P. A.
(Scrophulariaceae) <i>Castilleja arvensis</i> Schltdl. & Cham Común: vira-vira	Toda la planta es utilizada para tratar afecciones renales.	Solo se encontraron datos del género <i>Castilleja</i> Estudios farmacológicos previos mostraron hepatotoxicidad [34] Estudios químicos: la presencia de alcaloides[35, 36] y glucósidos iridoides[37][38][39]	 P. A.
(Asteraceae) <i>Baccharis genistelloides</i> (Lam) Pers. ssp. <i>crispa</i> (Spreng) Jochen Mull Común: Charara	Empleada para trastornos gastrointestinales, enfermedades reumáticas, fiebre, diabetes, problemas de hígado, cicatrizante de heridas, quemaduras, llagas y ulceraciones. También es utilizada para el control de pulgas en los niños.	Se encontraron datos de la especie <i>Baccharisgenistelloides</i> Estudios farmacológicos: antigenotóxica [40], antioxidante [41, 42], anti-inflamatoria [43, 44], anti-hepatotóxica[45,46], analgésica [47],antimutagenica [48], relajante vascular [49], antibacterial[50], antidiabética [51], anti-proteolítica y anti-hemorrágica, (contra el veneno de serpiente)[52], Estudios químicos: la presencia de flavonoides [53, 46],y diterpenos, [54, 49]	 P.A.
(Asteraceae) <i>Liabum hastifolium</i> Poepp & Endl. Común: toco-toco	Utilizada en el tratamiento de golpes e inflamaciones. La resina de los tallos (gotas) se coloca en las heridas y en las picaduras de avispas.	Estudios farmacológicos de la especie <i>Liabumhastifolium</i> o <i>Munnoziahastifolia</i> : mostraron actividad contra tres sepas de leishmania [55] Estudios químicos de otras especies del genero <i>Liabum</i> o <i>Munnozia</i> presentaron compuestos sesquiterpénicos[56,57]	 P.A.

Tabla 1. (cont.)

(Asteraceae) <i>Acmella ciliata</i> Común: laili-laili	Utilizada en caso de dolor de muelas como anestésico, particularmente las flores.	Se encontraron datos de la especie <i>Acmellaciliata</i> Estudios farmacológicos: actividad antimicrobiana y anestésica [58] Estudios químicos: la presencia de amidas [59] relacionadas al Espilantol [60], compuestos fenólicos [61][62][63] y finalmente su aceite esencial mostró un alto contenido de terpenoides[58]	
---	---	--	---

P.A. Partes Aéreas

En el estudio fitoquímico preliminar (Tabla 2) se pudo determinar que las especies vegetales en estudio tienen principalmente compuestos fenólicos, taninos y triterpenos o esteroides. Adicionalmente la especie *B. genistilloides* presenta flavonoides y *A. ciliata* presenta cumarinas además de algo de alcaloides en las flores.

Tabla 2. Estudio Fitoquímico Preliminar

Especie vegetal		Tipo de Metabolito Secundario/Ensayo Realizado			
Nombre científico	Rendimiento (%)	Fenoles/ FeCl ₃	Flavonoides/ Shinoda	Antocianinas/ pH	Taninos/ Gelatina
<i>Rubusboliviensis</i>	9,27	+++	-	-	+++
<i>Castilleja arvensis</i>	5,31	++	-	-	+
<i>Baccharisgenistilloides</i>	7,45	+++	+++	-	+++
<i>Liabumhastifolium</i>	5,32	+++	-	-	+++
<i>Acmeliaciliata</i> (hojas)	2,50	+	-	-	++
<i>Acmeliaciliata</i> (flores)	6,25	+++	-	-	+++

(+++) Prueba positiva; (++) Prueba intermedia; (+) Prueba no concluyente; (-) Prueba negativa

Tabla 2. Estudio Fitoquímico Preliminar (cont)

Especie vegetal		Tipo de Metabolito Secundario/Ensayo Realizado			
Nombre científico	Cumarinas/ Fluorescencia	Alcaloides/ Mayer	Saponinas/ Espuma	Triterpenosesteroides/ Lieberman-Burchard	Sesquiterpen- lactonas/ Kedde
<i>Rubusboliviensis</i>	-	-	-	+++	-
<i>Castilleja arvensis</i>	-	-	-	+	-
<i>Baccharisgenistilloides</i>	-	-	-	++	-
<i>Liabumhastifolium</i>	-	-	-	++	-
<i>Acmeliaciliata</i> (hojas)	++	-	-	++	-
<i>Acmeliaciliata</i> (flores)	+++	+	-	++	-

(+++) Prueba positiva; (++) Prueba intermedia; (+) Prueba no concluyente; (-) Prueba negativa

Por otra parte, se determinó el grado de absorbancia UV de los extractos etanólicos de las cinco especies vegetales, para esto inicialmente se prepararon soluciones de 200 ppm, 100 ppm y 50 ppm, determinándose así que la concentración óptima para realizar los espectros de barrido en UV era de 100 ppm. De los espectros UV obtenidos,

se analizó la región correspondiente a las radiaciones UVB y UVA (280-400 nm), por el posible potencial efecto fotoprotector mencionado previamente. Como se observa en los espectros de absorción (Tabla 3 y Figura 3) todos los extractos evaluados presentan cierta absorbancia en la región UVB y UVA, pero ésta no es comparable a la de compuestos fotoprotectores conocidos, como la oxibenzona, o especies vegetales estudiadas por su efecto fotoprotector, como *B.papillosa* [64]. Sin embargo, entre los extractos estudiados el que presenta mayor absorbancia, en la región UV de interés, es el de *L. hastifolium* (toco-toco), el cual tiene un área integrada de absorbancia de 71,68 entre 280 y 400 nm a 100 ppm, aproximadamente la mitad que *B. papillosa* pero casi el doble que la *B. genistilloides* (charara) y el *A. ciliata* (laili-laili), por lo que resulta de cierta importancia desde el punto de vista fotoprotector.

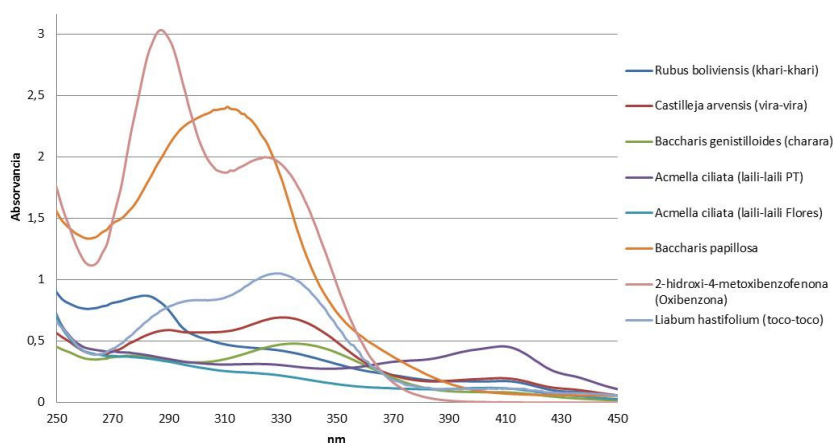


Figura 3. Comparación de los espectros de UV de los extractos etanólicos de las cinco especies vegetales a una concentración de 100 ppm con *B papillosa ssp. papillosa* (100 ppm) y oxibenzona (50 ppm)

Tabla 3. Áreas bajo las curvas de absorción de los extractos a 100 ppm

Especie	Total (280--400)	UVB (280--320)	UVA (320--400)
<i>Rubus boliviensis</i> (khari-khari)	46,69	24,55	22,58
<i>Castilleja arvensis</i> (vira-vira)	54,56	23,74	31,46
<i>Baccharis genistelloides ssp. crispa</i> (charara)	37,16	14,43	23,15
<i>Liabum hastifolium</i> (toco-toco)	71,68	33,62	39,05
<i>Acmella ciliata</i> (laili-laili) (Hojas)	39,40	13,56	26,14
<i>Acmella ciliata</i> (laili-laili) (Flores)	23,51	11,93	11,81
<i>Baccharispapillosa ssp. papillosa</i>	150,12	90,70	61,69
2-hidroxi-4-metoxibenzofenona (Oxibenzona)*	155,17	95,86	61,28

En base a todos los datos obtenidos podemos decir que una de las especies interesantes para estudios posteriores es *L. hastifolium* (toco-toco) porque tiene una amplia distribución en la región, un uso tradicional para el tratamiento de heridas que correlaciona con estudios farmacológicos previos (actividad leishmanicida) y no tiene todavía compuestos aislados identificados, sin embargo el estudio fitoquímico preliminar revela una presencia de compuestos fenólicos que pueden ser los responsables de su interesante absorbancia en la región UVB/UV. La especie *B. genistelloides* también resulta interesante por sus diversos antecedentes tradicionales y científicos, pero ya fue muy estudiada y lo recomendable es solo utilizar los estudios ya realizados para promover su utilización sostenible en productos con potencial económico, como los que ya se encuentran en el mercado de otros países como el de Brasil. Finalmente, también se recomienda el estudio químico y farmacológico de *R.boliviensis* al existir tantos antecedentes importantes de otras especies del género *Rubus* y observarse varios metabolitos secundarios mayoritarios bien definidos por cromatografía en capa fina.

EXPERIMENTAL

Material vegetal

Las muestras fueron colectadas de la comunidad de Carmen Pampa entre los meses de Mayo y Julio del camino Trinidad Pampa-Coroico, seleccionando de ellas las partes aéreas. En el caso de las especies vegetales *C. arvensis* (vira-vira) y *A. ciliata* (laili-laili), se procedió a la colecta de toda la planta para luego proceder a su separación, además de colectar solo las flores de la última.

De todas las especies se separaron tres ejemplares para realizar herbarios, con ayuda de la Lic. Arely Palabral, para su identificación botánica realizada del Herbario Nacional de Bolivia.

Obtención de extractos

Las muestras fueron secadas, molidas y maceradas en alcohol etílico al 96%, por el lapso de 24 horas. Una vez macerada la muestra fue filtrada y concentrada a sequedad en un rota-evaporador, obteniéndose los extractos de los cuales se determinó sus rendimientos respecto a la masa de planta seca.

Estudio fitoquímico

Para el análisis de los extractos etanólicos se usaron placas cromatográficas de 20 x 20 cm de Sílicagel F₂₅₄ de ½ mm de espesor, con soporte de aluminio. Para la visualización y seguimiento de las diferentes cromatografías se uso una lámpara UV 254 nm y 365 nm Spectroline y como reveladores soluciones de H₂SO₄ al 5% v/v y FeCl₃ al 1% v/v.

Para las pruebas fitoquímicas preliminares los extractos fueron sometidas a los siguientes ensayos de acuerdo a la metodología descrita por Ciulei (1989) [65]

- Método para la identificación de Compuestos Fenólicos (Test de cloruro férrico)
- Método de identificación de Flavonoides (Test de Shinoda y Test de ácido sulfúrico)
- Método de identificación de Antocianinas (Test del pH)
- Método de identificación de Taninos (Test de la gelatina)
- Método de identificación de Cumarinas (Test de fluorescencia)
- Método de identificación de Alcaloides (Test del Mayer)
- Método de identificación de Saponinas (Test de espuma)
- Método de identificación de Esteroides y/o Triterpenos (Test de Lieberman-Burchard)
- Método de identificación de Sesquiterpenlactonas y Glicosidoscardicos (Test de Kedde)

Estudio espectroscópico de absorbancia UV

Con las muestras secas se prepararon soluciones de 200 ppm, 100 ppm y 50 ppm, realizando luego los espectros de barrido en un espectrofotómetro marca Thermo Scientific, serie Genesys 10S. Determinando que a 200 ppm mostraban una absorbancia muy elevada (mayor a 2) y a 50 ppm una absorbancia muy baja (inferior a 0,5) por lo que se decidió realizar el estudio a 100 ppm. Así, de los extractos a 100 ppm se sacaron sus espectros de barrido y se compararon con el espectro de un conocido agente fotoprotector oxibenzona y un extracto estudiado por sus propiedades fotoprotectoras, extracto de *B. papillosa*. En el caso de la oxibenzona se tuvo que bajar la concentración a 50 ppm porque a 100 ppm tenía una absorbancia superior a 3. Las áreas debajo de las curvas se encontraron a partir de la integración de las curvas de los espectros de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$Area = \sum[(\lambda_i - \lambda_j) \times A]$$

Donde:

λ : Longitud de onda. Dónde $i > j$

\bar{A} : Absorbancia media de las longitudes de onda λ_i y λ_j

RECONOCIMIENTOS

A fondos IDH de investigación e interacción social de la UMSA por el financiamiento al Proyecto “Transferencia Tecnológica en el Municipio de Coroico-Nor Yungas para seleccionar recursos vegetales innovativos con un potencial valor económico (Fase I)” que hizo posible todos estos estudios. A la Lic Arely Palabral del Herbario Nacional de Bolivia por su colaboración en la identificación botánica de las especies.

REFERENCIAS

- [1] www.biotrade.org/btftp/BTFP-docs/.../TU_Issue4-ESP-web.pdf
- [2] OPS/OMS, *Plantas de Uso Medicinal en Centro América*, Edición Lic. Eva Saso de Méndez, 1993, Editorial OPS/OMS Guatemala, Guatemala: xi
- [3] <http://www.univalle.edu/publicaciones/brujula/brujula17/pagina08.htm>
- [4] CARDENAS, M. *Manual de plantas económicas de Bolivia*, 2da Edición., 1989, Editorial Los Amigos del Libro, La Paz-Cochabamba.
- [5] BASTIEN J. *Las plantas medicinales de los Kallawayas*, 1975, La Paz
- [6] CARDENAS, M. *Contribuciones a la flora boliviana*, 1941, Editorial Imprenta UMSS. Cochabamba
- [7] DUKE, J., A. *Contribuciones al diccionario etnobotánico andino*, 1975, Editorial Sociedad Boliviana de Historia Natural, Cochabamba
- [8] JUSCAFRESA B. *Enciclopedia Ilustrada-Flora Medicinal, Tóxica, aromática condimenticia*, 1ra Edición, . 1975, Editorial Aedos, Madrid.
- [9] OBLITAS E. *Plantas Medicinales de Bolivia*, 1969, Editorial Los Amigos del Libro, La Paz
- [10] CALLE B. T. *Evaluación de la eficacia insecticida de extractos vegetales en condiciones de laboratorio*, 2006, [Tesis de grado], Carrera de Ingeniería Agronómica, Universidad Católica Boliviana, UAC-CP, La Paz-Bolivia
- [11] GUTIERREZ C. C. R. *Efecto insecticida del aceite esencial del Neem (Azadirachta indica) en la broca del café (Hypothenemus hampei) en condiciones de laboratorio*, 2007, [Tesis de grado], Carrera de Ingeniería Agronómica, Universidad Católica Boliviana, UAC-CP, La Paz-Bolivia
- [12] ENDARA A. A. R. *Inventario de las especies forestales del bosque húmedo tropical premontano del cerro Uchumachi sector Carmen Pampa (Coroico-Nor Yungas-La Paz)*, 2001, [Tesis de grado], Carrera de Ingeniería Agronómica, Universidad Católica Boliviana, UAC-CP, La Paz-Bolivia
- [13] MENDOZA F. *Identificación de especies forestales exóticas y nativas de uso múltiple en cuatro comunidades del Municipio de Coroico (Nor Yungas-La Paz)*, 2001, [Tesis de grado], Carrera de Ingeniería Agronómica, Universidad Católica Boliviana, UAC-CP, La Paz-Bolivia
- [14] AJARACHI M. I. *Eficacia de hongos entomopatógenos para el control de la larva del ule de la coca (Eloriamyces) en condiciones de laboratorio*, 2008, [Tesis de grado], Carrera de Ingeniería Agronómica, Universidad Católica Boliviana, UAC-CP, La Paz-Bolivia
- [15] QUISPE C. L. *Efectividad del extracto de la hoja de Baccharis trimera (charara) en relación al Hexacloruro de Gamabencenoshamoolindano en tratamiento de pediculosis capitis en estudiantes del internado y atiqan uta San Juan Fe y Alegría del Municipio de Coripata 2006*, 2007, [Tesis de grado], Carrera de Enfermería, Universidad Católica Boliviana, UAC-CP, La Paz-Bolivia
- [16] CARRIZALOS C. J. *Plantas Medicinales de mayor uso identificadas por familias y curanderos en el tratamiento de diez enfermedades más frecuentes en la Sub Central Villa Nilo, gestión 2004 Departamento de La Paz*, 2007, [Tesis de grado], Carrera de Enfermería, Universidad Católica Boliviana, UAC-CP, La Paz-Bolivia
- [17] RODES, J., PIQUÉ, J. M., TRILLA, A. *Libro de la Salud del Hospital de Barcelona y la Fundación BBVA*, 2007, Editorial Fundación BBVA, Bilbao: 303
- [18] CLIMENT, O. M. J., IBORRA C. S., GARCÍA G. H., MORERA B. I. Experimentación en Química: Química Orgánica, Ingeniería Química, 2005, Editorial, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia: 153
- [19] <http://www.rain-tree.com/carqueja-powder.htm>
- [20] NIERO R., CECHINEL FILHO V., SOUZA M. M., MONTANARI J. L., YUNES R. A., DELLE MONACHE F.J. *Nat. Prod.*, 1999, 62, 1145.
- [21] RICHARD, R.M.E., DURHAM, D.C., LIU, X., *Planta Medica*, 1994, 60, 471.
- [22] ZHU, Z.H.; ZHANG, H.Q.; YUAN, M.J. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 1990, 15, 427
- [23] JOHANSSON S, GÖRANSSON U., LUIJENDIJKT., BACKLUNDA., CLAESONP., BOHLIN, L. *J.Nat.Prod.*, 2002, 65, 32
- [24] FLAMINIA G., CATALANO S., CAPONIA C., PANIZZIB L., MORELLIA L. *Phytochemistry*, 2002, 59, 873
- [25] LEMUS I., GARCIA R., DELVILLAR E., KNOP G., *Phytotherapy Research*, 1999, 13, 91
- [26] NOGUEIRA, E., VASSILIEFF, V.S., *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, 70, 275
- [27] WANGBIN-GUI, ZHU WEI-MIG, LI XIAO-MING, JIA ZHONG-JIAN, HAO XIAO-JIANG. *J.Nat.Prod.*, 2000, 63, 851
- [28] HATTORI M., KUOKUE-PING., SHU YUE-ZHONG., TEZUKA Y., KIKUCHI T., NAMBATA T. *Phytochemistry*, 1988, 27, 3975
- [29] LI W., FU H., BAI H., SASAKI T., KATO H., KOIKE K.J. *Nat.Prod.* 2009, 72, 1755
- [30] PANIZZI, L., CAPONI, C., CATALANO, S., CIONI, P.L., MORELLI, L., *Journal of Ethnopharmacology*, 2002, 79 165
- [31] HÄKKINEN, S., NEINONEN, M., KÄRENLAMPI, S., MYKKÄ NEN, H., RUUSKANEN, J., TÖRRÖNEN, R., *Food Research International*, 1999, 32, 345.
- [32] TZOUWARA-KARAYANNI, S.M., PHILIANOS, S.M., *Quarterly Journal of Crude Drug Research*, 1981, 19, 127
- [33] GAYDOU, E. M.; BOMBARDA, I.; FAURET, R.; WOLLENWEBER, E. *Phytochemistry*, 1995, 40, 601
- [34] SUESS, TERRY ROLAND. The constituents of castillejarhexifolia, mahoniarepens and oncidiumcebolleta, 1981, Colorado State University, 175
- [35] JEFF W. MC COY., STERMITZ, F. R. *Journal of Natural Products*, 1983, 46, 902
- [36] STERWITZ, F. R., SUESS, T. R. *Phytochemistry*, 1978, 17, 2142
- [37] ARSLANIAN R.L., HARRIS G.H., STERMITZ, F.R. *J. Nat. Prod.*, 1985, 48, 957
- [38] JIMENEZ, M. E., PADILLA, M. E., REYES, CH. R., ESPINOSA, L. M., MELENDEZ, E., LIRA-ROCHA, A. *Biochem. System. Ecol*, 1995, 23, 455
- [39] STERMITZ, F. R., POMEROY, M. *Biochem. Syst. Ecol.*, 1992, 20, 473
- [40] RODRIGUES, C. R. F., DIAS, J. H., MELLO, R. N., RICHTER, M. F., PICADA, J. N., FERRAZ, A. B. F. *J. Ethnopharmacol.*, 2009, 125, 97
- [41] de OLIVEIRA, S. Q., DAL-PIZZOL, F., MOREIRA, J. C. F., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G. *Acta Farm. Bonaerense* 2004, 23, 365

- [42] PÁDUA, B. C., SILVA, L. D., ROSSONI JÚNIOR, J. V., HUMBERTO, J. L., CHAVES, M. M., SILVA, M. E., PEDROSA, M. L., COSTA, D. C. *J. Ethnopharmacol.*, 2010, 129, 381
- [43] PAUL, E. L., LUNARDELLI, A., CABERLON, E., DE OLIVEIRA, C. B., SANTOS, R.C.V., BIOLCHI, V., BASTOS, C. M. A., MOREIRA, K.B., NUNES, F.B., GOSMANN, G., DE OLIVEIRA, J.R., *Inflammation*, 2009, 32, 419
- [44] DE OLIVEIRA, C.B.; COMUNELLO, L.N.; LUNARDELLI, A.; AMARAL, R.H.; PIRES, M.G.; DA SILVA, G.L.; MANFREDINI, V.; VARGAS, C.R.; GNOATTO, S.C.; DE OLIVEIRA, J.R.; GOSMANN, G. *Molecules*, 2012, 17, 1113
- [45] NOGUEIRA, N. P. A., REIS, P. A., LARANJA, G. A. T, PINTO, A. C, AIUB, C. A. F. , FELZENSZWALB, I., PAES, M. C., BASTOS, F. F., BASTOS, V. L. F. C, SABINO, K. C. C. COELHO, M. G. P. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, 138, 513
- [46] SOICKE, H., LENG-PESCHLOW, E. *PlantaMedica*, 1987, 53, 37
- [47] GENÉ RM, CARTAÑA C, ADZET T, MARÍN E, PARELLA T, CAÑIGUERAL S. *Planta. Med.*, 1996, 62, 232
- [48] NAKASUGI T, KOMAI K. *J Agric Food Chem*, 1998, 46, 2560
- [49] TORRES, L. M. B., GAMBERINI, M. T., ROQUE, N. F., LIMA-LANDMAN, M. T, SOUCCAR, C, LAPA A. J. *Phytochemistry*, 2000, 55, 617
- [50] VOIGT, F., LAMBRECHT, C., DAMÉ, L. F., SILVEIRA, H., HARTWIG, C. *Rev. Cubana.Plant. Med.*, 2011, 16, 236
- [51] OLIVEIRA, A.C.P, ENDRINGER, D.C., AMORIM, L.A.S., BRANDAO, M.G.L., COELHO, M.M. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, 102, 465
- [52] JANUÁRIO, A. H., SANTOS, S. L., MARCUSSI S, MAZZI, M.V., PIETRO, R. C. L. R., SATO, D. N., ELLENA, J., SAMPAIO, S. V., FRANÇA, S. C., SOARES, A.M. *Chemico-Biological Interactions* , 2004, 150, 243
- [53] VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. O. *Quim Nova.*, 2005, 28, 85
- [54] HERZ, W.; PILOTTI, A.M.; SÖDERHOLM, A.C.; SHUHAMA, I.K.; VICHNEWSKI, W. *J. Org. Chem.* 1977, 50, 3913
- [55] IBANEZ, S. L, RUIZ, G., MICHEL, R. *Rev. Bol. Quim*, 2009, 26,1
- [56] JAKUPOVIC, J., SCHUSTER, A., BOHLMANN, F., DILLON, M. O. *Phytochemistry*, 1988, 27, 1771
- [57] FOURENT, A., MUÑOZ, V., ROBLLOT, F., HOCQUEMILLER, R., CAVE, A., GANTIER, J.C. *Phytother. Res.*, 1993, 7, 111
- [58] RINCON, C. A.; CASTAÑO, J. C., RIOS, E. *Rev. Cubana Plant. Med.*, 2012, 17, 160
- [59] MARTIN R, BECKER H. *Phytochemistry*, 1985, 24, 295
- [60] MARTIN, R., BECKER, H. *Phytochemistry*, 1984, 23, 1781
- [61] KASPER, J., MELZIG, M. F., JENETT-SIEMS, K. *PlantaMedica*, 2010, 76, 633
- [62] JENETT-SIEMS, K., KASPER, J., MELZIG, M. F.Z. *Phytother.*, 2009; 30,17
- [63] KEIPERT R. *Phytochemische und enzymatische Untersuchungen, galenische Präformulierungen* [Tesis para Doctor en Ciencias]. Universidad Libre de Berlín; 2009.
- [64] ESCOBAR, Z., *Asilamiento de Compuestos Fenólicos de Polaridad Media de Baccharispapillosa ssp. Papillosa (Baccharis obtusifolia)*, 2008, [Tesis de Grado], Carrera de Ciencias Químicas, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz-Bolivia, 94-96.
- [65] CIULEI, I. *Methodology for Analysis of Vegetable Drugs*, 1989, Faculty of Pharmacy, Bucharest-Rumania